



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**FACULDADE DE MEDICINA**  
**DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA MEDICINA LEGAL**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA MÉDICA**

**JÚLIA GROMBONE DE VASCONCELLOS LIMA**

**NANOPLÁSTICOS DE POLIESTIRENO COMO MODULADORES DO EIXO  
MICROBIOTA-INTESTINO-CÉREBRO: IMPLICAÇÕES NA DISBIOSE E NO  
ESTRESSE OXIDATIVO EM CAMUNDONGAS EM DIFERENTES FASES DO  
DESENVOLVIMENTO**

**FORTALEZA –CE**

**2026**

**JÚLIA GROMBONE DE VASCONCELLOS LIMA**

**NANOPLÁSTICOS DE POLIESTIRENO COMO MODULADORES DO EIXO  
MICROBIOTA-INTESTINO-CÉREBRO: IMPLICAÇÕES NA DISBIOSE E NO  
ESTRESSE OXIDATIVO EM CAMUNDONGAS EM DIFERENTES FASES DO  
DESENVOLVIMENTO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia médica da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Microbiologia médica.

Orientadora: Dra. Danielle Macêdo Gaspar

Coorientadora: Ana Isabelle de Gois Queiroz

**FORTALEZA – CE**

**2026**

**JÚLIA GROMBONE DE VASCONCELLOS LIMA**

**EFEITOS DA EXPOSIÇÃO REPETIDA A NANOPLÁSTICOS SOBRE  
COMPORTAMENTO, MICROBIOTA INTESTINAL E EIXO  
MICROBIOTA–INTESTINO–CÉREBRO EM CAMUNDONGOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Microbiologia médica da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de mestre em Microbiologia médica.

Orientadora: Dra. Danielle Macêdo Gaspar

Coorientadora: Dra. Ana Isabelle de Gois Queiroz

Aprovada em: \_\_/\_\_/\_\_.

**BANCA EXAMINADORA**

---

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Danielle Macêdo Gaspar

Universidade Federal do Ceará – UFC (Orientadora)

---

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Ana Beatriz Duarte

Universidade Federal do Ceará – UFC

---

Prof.<sup>a</sup>. Dr.<sup>a</sup>. Adriana Rolim Campos

Universidade de Fortaleza -UNIFOR

## AGRADECIMENTOS

A Deus, por me conceder força, saúde e sabedoria ao longo de toda essa jornada. Mesmo nos momentos de incerteza e dificuldade, sua presença foi meu amparo, guiando meus passos e permitindo que eu chegasse até aqui. Sou profundamente grata por cada aprendizado, desafio superado e conquista alcançada.

À minha família, por todo o amor, apoio incondicional e incentivo ao longo de toda a minha trajetória acadêmica e pessoal. Foram meu alicerce nos momentos mais desafiadores, oferecendo segurança, compreensão e força quando as dificuldades pareciam maiores que as certezas. Cada conquista alcançada é reflexo do exemplo, dos valores e do apoio constante que sempre me proporcionaram, sendo a principal motivação para que eu seguisse em frente sem desistir.

Ao meu querido amigo, Rafael Alves Lima de Vasconcellos, pelo companheirismo, paciência, compreensão e apoio constante durante todo o período do mestrado. Sua presença, incentivo e cuidado foram fundamentais, especialmente nos momentos mais desafiadores; sem você, essa caminhada teria sido muito mais difícil.

Aos meus amigos Andrea Izabel de Sousa Alvarado e Samuel Pimentel Nunes da Silva, pelo apoio, incentivo, companheirismo e por estarem presentes ao longo dessa jornada.

À minha orientadora, Dra. Danielle Macêdo Gaspar, pela orientação, confiança, disponibilidade e valiosas contribuições científicas que foram fundamentais para o desenvolvimento deste trabalho. Agradeço, de forma especial, pelo acolhimento em seu grupo de pesquisa desde o primeiro momento, pela condução ética e comprometida, e pelo constante incentivo ao crescimento científico e acadêmico, pelos quais sou profundamente grata.

À minha coorientadora, Dra. Ana Isabelle de Gois Queiroz, pelo suporte contínuo, dedicação e contribuições essenciais que enriqueceram e direcionaram esta pesquisa. Agradeço pela paciência, empenho e atenção em cada etapa do trabalho, bem como pela disposição em compartilhar conhecimentos e experiências que foram decisivos para a consolidação deste estudo.

À Thamyres Rodrigues, à Monique Rocha, à Dra. Ana Beatriz Duarte e ao seu grupo de pesquisa das Ciências Morfofuncionais, por me inserirem em seus trabalhos, pela parceria e apoio, e por abrirem caminhos que foram determinantes para o início e o desenvolvimento desta pesquisa. Por permitirem o compartilhamento de seus experimentos, contribuindo de forma decisiva para a realização deste estudo.

À Dra. Rossana de Aguiar Cordeiro, ao Dr. Eliclécio Rodrigues e a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para que este mestrado fosse possível, seja com apoio técnico, científico ou humano.

À Universidade Federal do Ceará, Programa de Pós-Graduação em Microbiologia Médica (PPGMM), e FUNCAP, pela oportunidade, pela formação acadêmica e pelo ambiente científico que possibilitou meu crescimento profissional.

Aos camundongos, cuja contribuição foi essencial para a realização dos experimentos e para o avanço científico deste trabalho. Esses animais, ao doarem suas vidas à ciência, possibilitaram a geração de conhecimento e o desenvolvimento desta pesquisa.

Por fim, agradeço a todos que fizeram parte dessa jornada e que, de alguma forma, contribuíram para a concretização deste mestrado. Este trabalho é resultado de um esforço coletivo, construído com colaboração, aprendizado e dedicação.

*“O futuro pertence àqueles  
que acreditam na beleza de  
seus sonhos e têm coragem  
de persegui-los.”*

***Rita Levi-Montalcini***

## RESUMO

A disseminação ambiental de micro e nanoplásticos (MNPs) levanta preocupações crescentes sobre os impactos na saúde humana e a integridade do eixo microbiota intestino-cérebro. Este estudo avaliou os efeitos da exposição oral repetida a nanoplásticos de poliestireno (100 nm, 40 mg/kg) durante 21 dias em camundongos *Swiss* jovens tardias (n=16) e pré-púberes (n=15). Duas coortes foram submetidas a uma bateria de testes comportamentais, incluindo o Campo Aberto e o Nado Forçado. Após a eutanásia, procedeu-se à coleta de amostras de fezes para análise de microbiota via qPCR e de tecidos cerebrais — (especificamente o hipocampo (HP), córtex pré-frontal (CPF) e corpo estriado (CE)) — para a quantificação de biomarcadores de estresse oxidativo e nitrosativo. Os resultados demonstraram que, embora não tenham ocorrido alterações na locomoção global ou em comportamentos clássicos de ansiedade e depressão, os animais pré-púberes expostos apresentaram um aumento significativo no comportamento de *rearing* periférico ( $p=0,0252$ ) e no *grooming* ( $p<0,05$ ), indicando uma modulação seletiva do comportamento exploratório e emocional dependente da idade. No que tange à microbiota, não se detectaram mudanças nas abundâncias isoladas de *Firmicutes* ou *Bacteroidetes*, mas houve redução na razão *Firmicutes/Bacteroidetes* em ambos os grupos expostos ( $p=0,0101$ ), o que sugere a presença de uma disbiose sutil. Observou-se uma vulnerabilidade distinta ao estresse nitrosativo conforme a fase da vida: os animais pré-púberes apresentaram um aumento robusto de nitrito ( $p=0,0017$ ), enquanto os jovens tardios exibiram um aumento compensatório de glutathiona reduzida (GSH) ( $p=0,0136$ ) no hipocampo. Em conclusão, a exposição repetida aos nanoplásticos promove efeitos de baixa magnitude, porém seletivos, com maior vulnerabilidade neurocomportamental e nitrosativa na fase pré-púbere, fornecendo evidências que apoiam o envolvimento do eixo microbiota intestino-cérebro na toxicidade desses poluentes emergentes.

**Palavras-chave:** Nanoplásticos de Poliestireno; Eixo Microbiota-Intestino-Cérebro; Disbiose; Estresse Nitrosativo; Camundongos; Desenvolvimento Pré-Púbere.

## ABSTRACT

The environmental dissemination of micro- and nanoplastics (MNPs) has raised growing concerns regarding their impact on human health and the integrity of the microbiota-gut-brain axis. This study evaluated the effects of repeated oral exposure to polystyrene nanoplastics (100 nm, 40 mg/kg) over 21 days in late young (n=16) and pre-pubertal (n=15) female Swiss mice. Two cohorts underwent a battery of behavioral tests, including the Open Field Test and Forced Swim Test. Following euthanasia, fecal samples were collected for microbiota analysis via qPCR, and brain tissues—specifically the hippocampus (HP), prefrontal cortex (PFC), and striatum (STR)—were harvested to quantify biomarkers of oxidative and nitrosative stress. The results demonstrated that while there were no alterations in global locomotion or classical anxiety- and depression-like behaviors, exposed pre-pubertal animals showed a significant increase in peripheral rearing ( $p=0.0252$ ) and grooming ( $p<0.05$ ), indicating an age-dependent selective modulation of exploratory and emotional behavior. Regarding the gut microbiota, no changes were detected in the isolated abundances of *Firmicutes* or *Bacteroidetes*; however, a reduction in the *Firmicutes/Bacteroidetes* ratio was observed in both exposed groups ( $p=0.0101$ ), suggesting the presence of subtle dysbiosis. Distinct vulnerabilities to nitrosative stress were observed according to the life stage: pre-pubertal animals exhibited a robust increase in nitrite levels ( $p=0.0017$ ), whereas late youngs displayed a compensatory increase in reduced glutathione (GSH) ( $p=0.0136$ ) within the hippocampus. In conclusion, repeated exposure to nanoplastics promotes low magnitude yet selective effects, with greater neurobehavioral and nitrosative vulnerability during the pre-pubertal stage. These findings provide evidence supporting the involvement of the microbiota-gut-brain axis in the toxicity of these emerging pollutants.

**Keywords:** Polystyrene Nanoplastics, Microbiota-Gut-Brain Axis, Dysbiosis, Nitrosative Stress, Mice, Pre-pubertal Development.

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

**AGCC(s)** — Ácido(s) graxo(s) de cadeia curta

**BHE** — Barreira hematoencefálica

**BPA** — Bisfenol A

**CA** — Campo aberto

**CE** — Corpo estriado

**CG/EM** — Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas

**CPF** — Córtex pré-frontal

**DTNB** — Ácido 5,5'-ditiobis-(2-nitrobenzoico) (Reagente de Ellman)

**EROs** — Espécies reativas de oxigênio

**FTIR** — Espectroscopia no infravermelho por transformada de Fourier

**GFAP** — Proteína glial fibrilar ácida

**GSH** — Glutathiona reduzida

**HHA** — Eixo hipotálamo-hipófise-adrenal

**HP** — Hipocampo

**HPA** — Eixo hipotálamo-pituitária-adrenal

**Iba1** — Molécula adaptadora de ligação ao cálcio ionizado 1

**IL** — Interleucina

**LAL** — Lisado de amebócitos de *Limulus*

**LPS** — Lipopolissacarídeo

**MNP(s)** — Micro e nanoplástico(s)

**MP(s)** — Microplástico(s)

**NF** — Nado forçado

**NGS** — Sequenciamento de nova geração (*Next-Generation Sequencing*)

**NP(s)** — Nanoplástico(s)

**PA** — Poliamida (Nylon)

**PE** — Polietileno

**PET** — Polietileno tereftalato

**PND** — Dia pós-natal (*Post-natal day*)

**POPs** — Poluentes orgânicos persistentes

**PP** — Polipropileno

**PS** — Poliestireno

**PSA** — Polissacarídeo A

**PVC** — Policloreto de vinila

**py-CG/EM** — Pirólise acoplada à cromatografia gasosa e espectrometria de massas

**SNC** — Sistema nervoso central

**SNE** — Sistema nervoso entérico

**TLR** — Receptor do tipo *Toll* (*Toll-like receptor*)

**TNF -  $\alpha$**  — Fator de necrose tumoral  $\alpha$

**Tregs** — Células T reguladoras

**UNV** — Unidade neurovascular

## **LISTA DE FIGURAS**

<b>Figura 1</b> – Fontes, vias de exposição e determinantes físico-químicos do destino biológico de MNPs e sua relevância para a sinalização intestino-cérebro .....	18
<b>Figura 2</b> – MNPs e o eixo intestino-cérebro: quadro mecanístico entre mistura, interface intestinal e vulnerabilidade neuroimunológica .....	24
<b>Figura 3</b> – Vias diretas e indiretas convergentes de alteração da sinalização neuroimunológica por micro e nanoplásticos (MNPs) .....	35
<b>Figura 4</b> – Delineamento experimental para avaliação do impacto de nanoplásticos em camundongos .....	52
<b>Figura 5</b> – Representação esquemática do Teste de Campo Aberto (CA) .....	54
<b>Figura 6</b> – Representação esquemática do Teste de Nado Forçado (TNF) .....	56
<b>Figura 7</b> – Fluxo operacional de eutanásia e coleta de material biológico .....	57
<b>Figura 8</b> – Protocolo de microdissecção das áreas cerebrais de interesse .....	58
<b>Figura 9</b> – Frequência de <i>rearing</i> periférico no teste de campo aberto em camundongos pré-púberes e jovens tardios expostos a nanoplásticos .....	64
<b>Figura 10</b> – Número total de <i>rearings</i> no teste de campo aberto em camundongos pré-púberes e jovens tardios expostos a nanoplásticos .....	65
<b>Figura 11</b> – Distância total percorrida no teste de campo aberto em camundongos pré-púberes e jovens tardios expostos a nanoplásticos .....	66
<b>Figura 12</b> – Comportamento de <i>grooming</i> no teste de campo aberto em camundongos pré-púberes e jovens tardios expostos a nanoplásticos .....	67
<b>Figura 13</b> – Número de pelotas fecais no teste de campo aberto em camundongos pré-púberes e jovens tardios expostos a nanoplásticos .....	68
<b>Figura 14</b> – Tempo de permanência na zona central no teste de campo aberto em camundongos pré-púberes e jovens tardios expostos a nanoplásticos .....	69
<b>Figura 15</b> – Tempo de permanência na zona periférica no teste de campo aberto em camundongos pré-púberes e jovens tardios expostos a nanoplásticos .....	70

<b>Figura 16</b> – Tempo de imobilidade no nado forçado de camundongos pré-púberes e jovens tardios expostos a nanoplásticos .....	72
<b>Figura 17</b> – Abundância relativa de <i>Bacteroidetes</i> em amostras fecais de camundongos pré-púberes e jovens tardios expostos a nanoplásticos .....	72
<b>Figura 18</b> – Abundância relativa de <i>Firmicutes</i> em amostras fecais de camundongos pré-púberes e jovens tardios expostos a nanoplásticos .....	73
<b>Figura 19</b> – Razão <i>Firmicutes/Bacteroidetes</i> em amostras fecais de camundongos pré-púberes e jovens tardios expostos a nanoplásticos .....	74
<b>Figura 20</b> – Níveis de nitrito no hipocampo (HP) de camundongos pré-púberes e jovens tardios expostos a nanoplásticos .....	75
<b>Figura 21</b> – Níveis de glutathiona reduzida (GSH) no hipocampo (HP) de camundongos pré-púberes e jovens tardios expostos a nanoplásticos .....	76

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	14
• 1.1 Micro e Nanoplásticos: origem, características e toxicocinética .....	16
• 1.2. O eixo intestino-cérebro e sua importância na saúde mental.....	22
• 1.3 Disbiose da microbiota intestinal induzida por nanoplásticos e consequências funcionais.....	25
• 1.4 Vias mecânicas que conectam a exposição a nanoplásticos à neuroinflamação e disfunção cerebral.....	30
• 1.5 Evidências provenientes de modelos animais e estudos em humanos.....	36
• 1.6 Lacunas de conhecimento e desafios metodológicos.....	41
• 1.7 Perspectivas e implicações para a saúde pública.....	45
<b>2. JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA</b> .....	47
<b>3. OBJETIVOS</b> .....	49
• 3.1 Objetivo Geral .....	49
• 3.2 Objetivos Específicos .....	50
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	51
• 4.1 Considerações éticas .....	51
• 4.2 Animais .....	51
• 4.3 Nanoplásticos.....	53
• 4.4 Delineamento experimental.....	53
• 4.5 Testes comportamentais.....	55
• 4.6 Método de Indução de Morte (Eutanásia).....	59
• 4.7 Dissecção das Áreas Cerebrais.....	59
• 4.8 Avaliação qPCR.....	60

• 4.9. Análise do HP.....	61
• 4.10. Análise Estatística.....	62
<b>5. RESULTADOS .....</b>	<b>64</b>
• 5.1. Testes comportamentais.....	64
• 5.2 Análise da microbiota intestinal.....	73
• 5.3 Análises do HP.....	75
<b>6. DISCUSSÃO .....</b>	<b>79</b>
<b>7. CONCLUSÃO .....</b>	<b>84</b>
<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>86</b>

## 1. INTRODUÇÃO

A poluição por microplásticos (MPs; < 5 mm) e nanoplásticos (NPs; < 1 µm) tornou-se uma importante preocupação ambiental e biomédica (Vethaak e Legler, 2021). Geradas principalmente pela fragmentação e degradação de resíduos plásticos, essas partículas são agora amplamente detectadas no ar, na água, no solo e nas cadeias alimentares, resultando em exposição humana crônica e em grande parte inevitável (Roslan *et al.*, 2024). Embora as estimativas de exposição permaneçam heterogêneas e fortemente dependentes do método utilizado, as avaliações disponíveis indicam cargas substanciais de ingestão que variam de acordo com a geografia, a dieta e o estilo de vida. É fundamental reiterar que, embora MPs tenham sido detectados no sangue humano e em diversos tecidos vitais — como placenta e cérebro — a interpretação de sua presença exige cautela analítica. A detecção isolada em amostras teciduais não discrimina a localização compartimental, impossibilitando a distinção entre a permanência no lúmen vascular e a efetiva translocação para o parênquima orgânico (Campen *et al.*, 2024). Sob uma perspectiva de exposição crônica, essa distinção torna-se ainda mais relevante: o acúmulo persistente e a circulação sistêmica contínua dessas partículas podem desencadear um estado de inflamação crônica de baixo grau. Diferente de uma exposição aguda, o efeito sistêmico prolongado potencializa a desregulação da homeostase redox e a liberação de citocinas pró-inflamatórias, o que pode comprometer a integridade das barreiras biológicas — como a barreira hematoencefálica — e facilitar a infiltração parenquimatosa, resultando em danos citotóxicos e funcionais a longo prazo (Prata *et al.*, 2020; Yan *et al.*, 2023).

Nesse contexto, deve-se considerar a fração biologicamente ativa dessas partículas, bem como a extensão em que a contaminação laboratorial e *perimortem* pode influenciar os resultados; no entanto, tais relatos levantam questões substanciais sobre a persistência, a dose interna e a potencial relevância neurobiológica dos MPs (Nihart *et al.*, 2025).

Evidências experimentais indicam que os MP/NP podem desencadear estresse oxidativo, inflamação de baixo grau e desregulação imunológica, processos implicados em doenças cardiometabólicas e vulnerabilidade neuropsiquiátrica (Ali *et al.*, 2024; Winiarska *et al.*, 2024). Dentro desse contexto, o eixo microbiota–intestino–cérebro fornece uma interface biologicamente plausível através da qual o plástico, associado a essas exposições, podem influenciar a função cerebral. Essa rede integrativa relaciona metabólitos microbianos, a função intestinal e da barreira hematoencefálica, a sinalização imunológica, as vias autonômicas e a regulação neuroendócrina à neuroinflamação, à resposta ao estresse e ao comportamento (Cryan *et al.*, 2019; Erny *et al.*, 2015; Funck *et al.*, 2022; Lu *et al.* 2018). Uma hipótese cada vez mais aceita postula que a disbiose intestinal, caracterizada pelo desequilíbrio qualitativo ou quantitativo da microbiota em resposta a estressores ambientais, induzida por MNP e a disfunção da barreira epitelial são eventos precoces e a montante que amplificam a sinalização imunológica para o cérebro a jusante (Bora *et al.*, 2024; Souza-Silva *et al.*, 2022; Thin *et al.*, 2025). Em modelos animais, a exposição ao MNP altera a estrutura da comunidade microbiana e a produção metabólica, perturba as junções epiteliais estreitas e pode facilitar a translocação de produtos microbianos (por exemplo, lipopolissacarídeo [LPS]) para a circulação sistêmica. Essas alterações podem promover a ativação imunológica periférica e a sinalização inflamatória que envolve o sistema nervoso central, moldando os estados das micróglia, as vias relacionadas aos neurotransmissores e a plasticidade sináptica (Bora *et al.*, 2024; Sofield *et al.*, 2024). Tais mecanismos podem ser especialmente significativos durante os períodos pré-natal e pós-natal precoce, quando a microbiota intestinal, os pontos de equilíbrio imunológicos e os circuitos reguladores do estresse passam por uma rápida maturação e exibem maior sensibilidade às perturbações ambientais.

As afirmações de que a microbiota “regula os neurotransmissores” devem ser interpretadas com cautela. A maioria das evidências aponta para a modulação de reservatórios de metabólitos e precursores (por exemplo, AGCC; produtos do triptofano-quinurenina) e da sinalização imunológica/endócrina a jusante (Cryan *et al.*, 2019; Strandwitz *et al.*, 2018; Więdłocha *et al.*, 2021), enquanto as evidências diretas de alterações na transmissão sináptica monoaminérgica ou GABAérgica central sob exposições ambientalmente relevantes permanecem limitadas. Essa distinção é particularmente importante para a inferência translacional, dada a forte confusão causada pela dieta, medicação e estado cardiometabólico em coortes humanas.

A exposição humana ocorre por meio da ingestão de alimentos e água contaminados, da inalação de partículas transportadas pelo ar e, provavelmente em menor grau, do contato dérmico. O tamanho das partículas e a química da superfície são fatores determinantes da biodisponibilidade: partículas menores podem atravessar o epitélio intestinal e entrar na circulação sistêmica, embora a eficiência da translocação em cenários de exposição realistas permaneça incerta e provavelmente dependa da e do contexto do hospedeiro (Blackburn e Green, 2022). Além disso, as MNPs podem adsorver metais, aditivos e poluentes orgânicos persistentes, além de servirem como substrato para a formação de biofilmes complexos, conhecidos como 'plastisfera'. Esse consórcio microbiano aumenta a persistência de patógenos e a biodisponibilidade de substâncias tóxicas, potencializando o impacto dos MNPs sobre a integridade do epitélio intestinal e a homeostase do hospedeiro, aumentando potencialmente a relevância biológica de misturas de coexposição e amplificando efeitos de desregulação endócrina e imunomoduladores durante fases sensíveis do desenvolvimento (Amaral-Zettler *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2024).

Nesse estudo, sintetizamos as evidências pré-clínicas atuais e as evidências emergentes em humanos sobre como a exposição a MNP pode perturbar a comunicação intestino-cérebro por meio da alteração da microbiota, do comprometimento da barreira intestinal e da ativação neuroimunológica, com ênfase na vulnerabilidade na primeira infância. Também destacamos as principais restrições metodológicas — incluindo a caracterização da exposição, o controle da contaminação, a validade ecológica dos paradigmas de dosagem e a escassez de dados longitudinais em humanos — que atualmente limitam a inferência causal. Esclarecer esses mecanismos e superar os gargalos de medição será essencial para refinar a avaliação de riscos e orientar estratégias preventivas e regulatórias destinadas a reduzir os impactos associados ao plástico na saúde cerebral.

### **1.1. Micro e Nanoplásticos: origem, características e toxicocinética**

Os MPs podem ser classificados como primários (fabricados intencionalmente para aplicações industriais e de consumo) ou secundários (formados por meio da fragmentação ambiental e da degradação de plásticos de maiores dimensões) (Winiarska *et al.*, 2024). Em ambas as categorias, os MNPs compreendem diversos polímeros (por exemplo, poliestireno, polietileno, cloreto de polivinila [PVC], tereftalato de polietileno

[PET]) e apresentam notável heterogeneidade na distribuição de tamanho, morfologia (fibras, fragmentos, esferas), química/carga superficial e conteúdo de aditivos. Esses atributos não são intercambiáveis: eles determinam a persistência ambiental, as interações com biomoléculas (incluindo a formação da coroa proteica), as interações/absorção celular e o potencial inflamatório (Hirt e Body-Malapel, 2020; Kopatz *et al.*, 2023; Monopoli *et al.*, 2012). Consequentemente, uma caracterização incompleta no nível das partículas pode limitar significativamente a comparabilidade entre estudos e contribuir para aparentes inconsistências entre os resultados experimentais (Monopoli *et al.*, 2012).

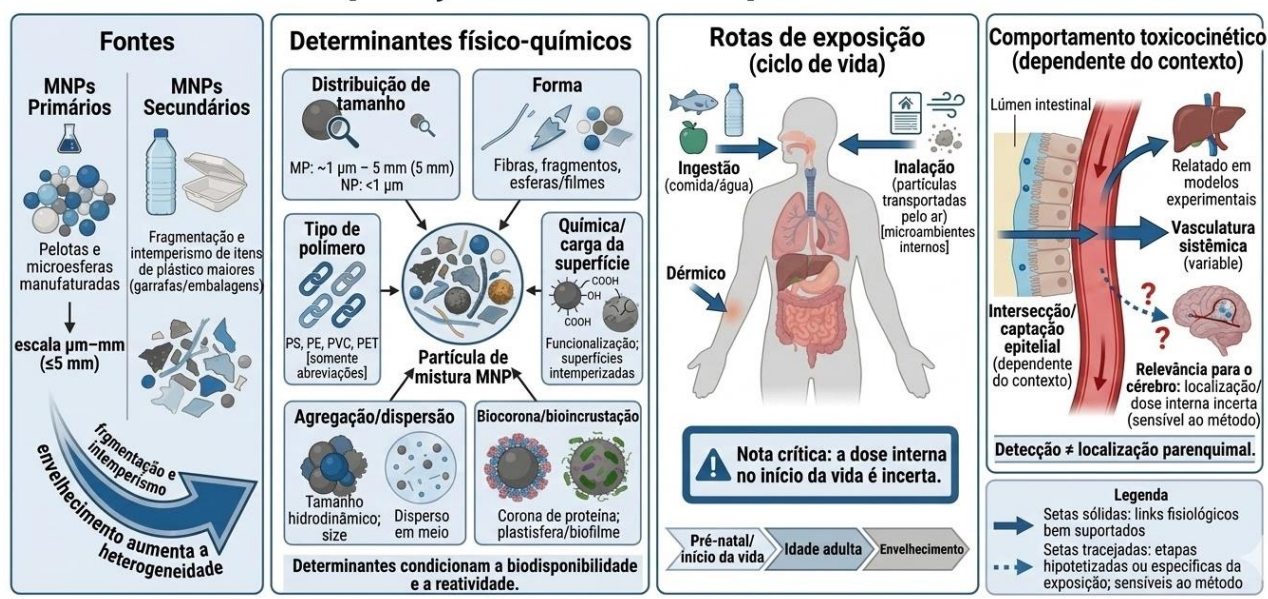
A exposição humana ocorre predominantemente por ingestão (alimentos e água potável) e inalação (partículas transportadas pelo ar), sendo provável que o contato dérmico contribua em menor grau (Roslan *et al.*, 2024). Embora as estimativas de exposição variem substancialmente e dependam de métodos analíticos e do controle da contaminação, a onipresença de MP/NP implica uma exposição contínua, em baixas doses, ao longo de toda a vida. A possibilidade de exposição durante o desenvolvimento inicial foi proposta; no entanto, a magnitude, as vias dominantes e a dose interna biologicamente ativa nos períodos pré-natal e pós-natal inicial permanecem insuficientemente quantificadas em humanos e são sensíveis a restrições metodológicas no biomonitoramento (Koelmans *et al.*, 2019; Li *et al.*, 2020; Ragusa *et al.*, 2022, 2021; Vethaak e Legler, 2021).

Do ponto de vista toxicocinético, o tamanho, a forma e as propriedades físico-químicas da superfície (como carga superficial e hidrofobicidade) são fatores determinantes do destino biológico. Estas propriedades regem a formação da coroa de biomoléculas, que altera a identidade biológica da partícula e influencia sua interação com as membranas. Estudos experimentais indicam que partículas menores e com afinidade superficial específica podem atravessar o epitélio intestinal por vias transcelulares e paracelulares sob condições específicas, sendo posteriormente detectadas em compartimentos sistêmicos e, em alguns relatos, em órgãos altamente perfundidos (Souza-Silva *et al.*, 2022; Yang *et al.*, 2023). No entanto, a eficiência da translocação é altamente dependente do contexto, moldada pelo estado de agregação, funcionalização da superfície, matriz de exposição e integridade da barreira do hospedeiro, e a extrapolação para misturas ambientalmente realistas requer cautela. Os plásticos em nanoescala podem apresentar maior potencial de interação celular e biodistribuição, mas sua detecção em matrizes biológicas complexas continua sendo tecnicamente desafiadora

e suscetível a artefatos de contaminação, ressaltando a necessidade de interpretar a “presença” juntamente com salvaguardas metodológicas e incertezas (Kopatz *et al.*, 2023; Schwaferts *et al.*, 2019; Solórzano *et al.*, 2025).

Além das propriedades intrínsecas das partículas, os MNPs podem atuar como vetores ao adsorver metais, aditivos plásticos e poluentes orgânicos persistentes, e ao abrigar comunidades microbianas que formam microecossistemas associados às partículas (“plastisfera”) (Bora *et al.*, 2024). Essa vetorização pode aumentar a relevância biológica das misturas de coexposição ao modular a dose local nas superfícies mucosas, amplificando sinais oxidativos e de desregulação endócrina, e ativando vias imunológicas inatas. Como as características físico-químicas condicionam fortemente a toxicocinética e as respostas biológicas a jusante, os principais determinantes relevantes para os mecanismos do eixo intestino-cérebro estão resumidos na Tabela 1, enquanto a Figura 1 fornece uma visão geral das fontes, vias de exposição e destino dependente do tamanho.

## Micro- e Nanoplásticos: Fontes, Determinantes Físico-Químicos, Rotas de Exposição e Destino Dependente do Contexto



**Figura 1. Fontes, vias de exposição e determinantes físico-químicos que moldam o destino biológico MNPs e sua potencial relevância para a sinalização intestino-cérebro.** Fontes, determinantes físico-químicos, vias de exposição e destino dependente do contexto MNPs. Os MNPs primários incluem partículas fabricadas intencionalmente (por exemplo, pellets e microesferas), enquanto os MNPs secundários resultam da fragmentação e degradação de itens plásticos maiores (por exemplo, garrafas e embalagens), com o envelhecimento aumentando a heterogeneidade das partículas. As misturas de MNP variam em termos de distribuição de tamanho MPs,  $\sim 1\ \mu\text{m}$ -5 mm; NPs,  $< 1\ \mu\text{m}$ , morfologia (fibras,

fragmentos, esferas/filmes), tipo de polímero (por exemplo, PS, PE, PVC, PET), química/carga da superfície (incluindo funcionalização e superfícies intemperizadas), estado de agregação/dispersão em meios relevantes e biocorona/bioincrustação (corona proteica e plastisfera/biofilme), que, em conjunto, condicionam a biodisponibilidade e a reatividade biológica. A exposição humana ocorre predominantemente por ingestão e inalação (incluindo microambientes internos), com o contato dérmico provavelmente contribuindo em menor grau, ao longo da vida. O comportamento toxicocinético depende do contexto: a interação/absorção epitelial e a distribuição sistêmica variam com a físico-química das partículas, o estado de agregação, a matriz de exposição e a integridade da barreira do hospedeiro, e foram relatadas em modelos experimentais. A relevância para o cérebro é descrita como incerta e sensível ao método. A detecção nos tecidos não determina a localização parenquimatosa nem a dose interna biologicamente ativa. As setas contínuas indicam ligações fisiológicas bem fundamentadas, enquanto as setas tracejadas indicam etapas hipotéticas ou específicas da exposição, para as quais a solidez das evidências varia de acordo com os métodos analíticos e o controle de contaminação. Abreviações: MP, microplásticos; NP, nanoplásticos; MNP, micro e nanoplásticos; PE, polietileno; PET, tereftalato de polietileno; PS, poliestireno; PVC, cloreto de polivinila. **Fonte:** Gerada pelo modelo de inteligência artificial Gemini (Google), 2026.

**Tabela 1.** Principais determinantes físico-químicos dos microplásticos e nanoplásticos relevantes para os mecanismos do eixo intestino-cérebro.

<b>Característica físico-química</b>	<b>Exemplos / categorias</b>	<b>Importância biológica (toxicocinética)</b>	<b>Implicações plausíveis para o eixo microbiota-intestino-cérebro</b>	<b>Notas para o desenho do estudo / relatório</b>	<b>Referências</b>
<b>Tamanho da partícula</b>	MPs ( $\mu\text{m}$ – $\text{mm}$ ), NPs ( $<1 \mu\text{m}$ ); frequentemente “ $<10 \mu\text{m}$ ”	Partículas menores possuem maior razão área superficial/massa e maior reatividade; podem aumentar interação epitelial e captação celular; frações nano podem	Pode aumentar perturbação da barreira intestinal e ativação imune; NPs	Relatar distribuição completa de tamanho; especificar métricas por número ou	Blackburn & Green, 2022; Souza-Silva et al., 2022;

		ter maior biodistribuição	podem ativar sinalização imune sistêmica relevante para micróglia	massa; descrever estado de agregação	Yang et al., 2023
<b>Forma / morfologia</b>	Fibras, fragmentos, esferas, filmes	Influencia comportamento aerodinâmico, retenção mucosa, irritação mecânica e fagocitose; fibras podem persistir mais	Pode causar inflamação local prolongada e disbiose; fibras podem ter efeitos distintos de esferas	Evitar uso exclusivo de esferas; relatar morfologia com microscopia e descritores quantitativos	Hirt & Body-Malapel, 2020
<b>Tipo de polímero</b>	PE, PP, PET, PS, PVC, PA (nylon)	Influencia densidade, hidrofobicidade, lixiviação de aditivos e interação com biomoléculas	Pode gerar respostas inflamatórias específicas e alterações na microbiota	Especificar e confirmar polímero (FTIR, Raman, py-GC/MS)	Vethaak & Legler, 2021; Winiarska et al., 2024
<b>Carga superficial / funcionalização</b>	Aminado (+), carboxilado (-), neutro;	Afeta formação de corona, adesão epitelial e reconhecimento imune	Pode alterar ativação imune, citocinas,	Relatar potencial zeta; testar endotoxinas;	Hirt & Body-Malapel, 2020; Kopatz

	superfícies envelhecidas		adesão microbiana e permeabilidade	descrever funcionalização	et al., 2023
<b>Envelhecimento da superfície</b>	Oxidação UV, abrasão mecânica, bioincrustação	Aumenta oxidação, rugosidade e ligação a biomoléculas/contaminantes	Pode gerar respostas inflamatórias mais realistas e efeitos endócrinos aumentados	Preferir partículas envelhecidas; caracterizar oxidação	Amaral-Zettler et al., 2020; Winiarska et al., 2024
<b>Aditivos e lixiviáveis</b>	Ftalatos, BPA, retardantes de chama	Podem causar toxicidade independente da partícula; efeitos endócrinos e metabólicos	Pode modular sinalização neuroendócrina e inflamação	Diferenciar efeito da partícula vs lixiviado; usar controles	Chen et al., 2025; Winiarska et al., 2024
<b>Adsorção de contaminantes</b>	Metais, POPs, pesticidas	MNPs atuam como carreadores, alterando biodisponibilidade	Pode aumentar estresse oxidativo e inflamação	Relatar carga de contaminantes; interpretar como mistura	Amaral-Zettler et al., 2020; Bora et al., 2024
<b>Corona proteica (biocorona)</b>	Proteínas, lipídios adsorvidos	Define identidade biológica e captação celular	Pode modular inflamação e	Relatar meio de exposição; considerar caracteriza	Monopoli et al., 2012; Kopatz

			biodistribuição	ção da corona	et al., 2023
<b>Agregação e dispersão</b>	Aglomeração em água/ração ; uso de surfactantes	Altera tamanho efetivo e dose entregue	Pode alterar magnitude da disbiose e exposição real	Relatar protocolo de dispersão; incluir controles	Koelma ns et al., 2019; Solórzano et al., 2025
<b>Colonização microbiana (plastisfera)</b>	Biofilmes e comunidades microbianas	Pode transportar microrganismos e alterar interação hospedeiro-microbiota	Pode aumentar ativação imune e alterar ecologia intestinal	Pouco modelado; destacar como limitação	Amaral-Zettler et al., 2020; Bora <i>et al.</i> , 2024

Os MNPs são heterogêneos em termos de tamanho, morfologia, tipo de polímero e química de superfície, características que, em conjunto, determinam a biodisponibilidade (por exemplo, agregação, interação/absorção epitelial, distribuição sistêmica) e a reatividade biológica (por exemplo, formação da coroa proteica, adsorção de co-contaminantes, reconhecimento pelo sistema imunológico inato). Consequentemente, os efeitos associados aos MNP são fortemente condicionados pelo contexto de exposição — Incluindo métrica de dose (massa vs. número vs. área de superfície), estado de dispersão/agregação em meios relevantes e composição da mistura (aditivos, contaminantes sorvidos, biocorona/plastisfera), o que pode enviesar tanto a magnitude quanto a interpretabilidade dos resultados relatados. Os determinantes aqui resumidos ressaltam porque a caracterização rigorosa da exposição, relatórios analíticos transparentes e fluxos de trabalho de controle de contaminação são essenciais para a comparabilidade entre estudos e para a inferência mecanicista, particularmente quando as vias propostas operam indiretamente por meio de disbiose, disfunção de barreira e ativação neuroimunológica. Abreviaturas: MPs, microplásticos; NPs, nanoplásticos; MNPs, micro- e nanoplásticos; PE, polietileno; PP, polipropileno; PET, tereftalato de polietileno; PS, poliestireno; PVC, cloreto de polivinila; PA, poliamida (nylon); POPs, poluentes orgânicos persistentes; BPA, bisfenol A; HPA, eixo hipotálamo-hipófise-adrenal; LPS, lipopolissacarídeo; TLR, receptor Toll-like; LAL, lisado de amebócitos de *Limulus*.

Essas características dependentes da exposição e das características individuais fornecem uma base mecânica para focar o eixo microbiota-intestino-cérebro como uma via integrativa que liga a perturbação da mucosa, a sinalização imunológica e a vulnerabilidade neurocomportamental.

## 1.2. O eixo intestino-cérebro e sua importância na saúde mental

O eixo intestino-cérebro é uma rede de comunicação bidirecional que liga o trato gastrointestinal ao sistema nervoso central por meio de vias neurais, imunológicas,

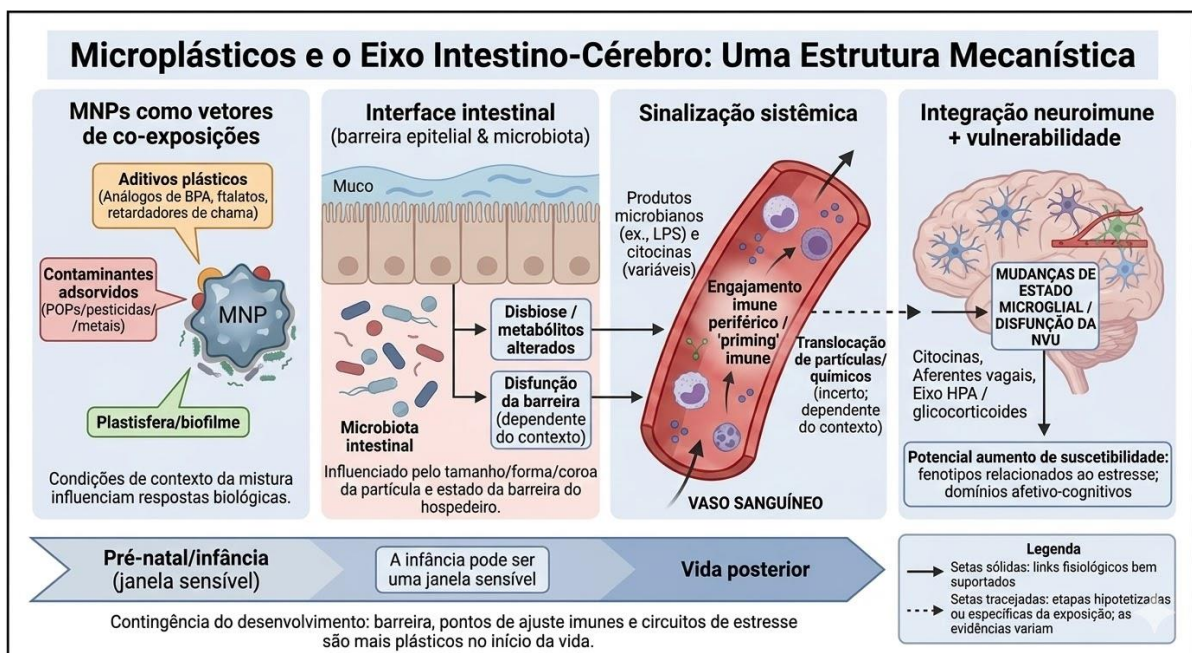
endócrinas e metabólicas. A sinalização neural é mediada principalmente pelas aferências vagais e pelo sistema nervoso entérico, enquanto a comunicação imunológica envolve citocinas, quimiocinas e vias de receptores de reconhecimento de padrões que traduzem a detecção da mucosa em um tônus inflamatório sistêmico. A integração endócrina é coordenada em grande parte pelo eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HPA), que acopla estressores percebidos ou periféricos à sinalização de glicocorticóides nas interfaces de barreira e imunológicas. A sinalização metabólica é transmitida por moléculas derivadas da microbiota, incluindo ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), derivados de ácidos biliares e metabólitos do triptofano, que podem moldar a função epitelial, as respostas imunológicas e os processos neurofisiológicos (Cryan *et al.*, 2019; Góralczyk-Bińkowska *et al.*, 2022; Park *et al.*, 2025).

Nesse contexto, a microbiota intestinal atua como reguladora dos pontos de equilíbrio imunológicos e da homeostase neurofisiológica, influenciando a integridade da barreira mucosa, os limiares inflamatórios e a produção de metabólitos bioativos. É importante ressaltar que muitas ligações entre a microbiota e os neurotransmissores são indiretas: os táxons comensais modulam a disponibilidade de precursores, a sinalização enteroendócrina do hospedeiro e as vias imunológicas que convergem para a neurotransmissão, em vez de “produzirem” neurotransmissores centrais propriamente ditos. Os AGCC derivados da microbiota e metabólitos relacionados podem exercer efeitos imunomoduladores e epigenéticos relevantes para a maturação da micróglia e a função neuronal, fornecendo vias plausíveis pelas quais a ecologia periférica pode ajustar os estados imunológicos relevantes para o cérebro (Gurow *et al.*, 2025; Park *et al.*, 2025). A formação da microbiota e a maturação do eixo intestino-cérebro são mais dinâmicas durante o desenvolvimento pré-natal e pós-natal precoce, criando janelas sensíveis nas quais perturbações ambientais podem exercer efeitos desproporcionais e potencialmente persistentes sobre a função de barreira, a calibração imunológica e os circuitos reguladores do estresse (Alkuwaiti *et al.*, 2025; Frerichs *et al.*, 2024).

Associações entre a disbiose intestinal e condições neuropsiquiátricas ou de desenvolvimento neurológico, incluindo depressão, transtornos de ansiedade e transtorno do espectro autista, têm sido relatadas em diversas coortes (Alkuwaiti *et al.*, 2025; Borrego-Ruiz e Borrego, 2024; Frerichs *et al.*, 2024). No entanto, essas ligações são suscetíveis a causalidade reversa e confusão residual (por exemplo, dieta, medicamentos, sono, estado metabólico, contexto socioeconômico), e “disbiose” é frequentemente

definida de forma inconsistente entre os estudos. Trabalhos experimentais em modelos livres de germes e tratados com antibióticos apoiam a plausibilidade biológica ao demonstrar que perturbações da microbiota podem modificar a responsividade ao estresse, comportamentos de tipo afetivo e aspectos da cognição; no entanto, a transposição para a psicopatologia humana permanece limitada pela validade do construto, diferenças entre espécies e ecologia microbiana basal que varia de acordo com o alojamento e a dieta. Assim, os resultados da transferência de microbiota fecal são mais bem interpretados como evidência de que os ecossistemas microbianos podem contribuir para fenótipos comportamentais sob condições definidas, em vez de estabelecer uma causalidade direta e unitária (Medina-Rodriguez et al., 2023).

Em conjunto, essas observações posicionam o eixo intestino-cérebro como um sistema sensível ao ambiente através do qual exposições exógenas podem influenciar as trajetórias do desenvolvimento neurológico e os riscos à saúde mental (Figura 2). Esse quadro conceitual é particularmente relevante para contaminantes emergentes, como micro e nanoplásticos, que podem perturbar a comunicação intestino-cérebro indiretamente por meio de disbiose, comprometimento da barreira e ativação imunológica, ativando assim vias neuroimunológicas relevantes para a suscetibilidade ao estresse e fenótipos afetivo-cognitivos (Chen et al., 2024; Ragusa et al., 2021).



**Figura 2. MNPs e o eixo intestino-cérebro: um quadro mecanístico que relaciona o contexto da mistura, a perturbação da interface intestinal, a preparação imunológica sistêmica e a vulnerabilidade neuroimunológica ao longo do desenvolvimento.** Os MNPs podem funcionar como vetores para coexposições, incluindo aditivos plásticos (por exemplo, análogos do BPA, ftalatos, retardantes de chamas), contaminantes sorvidos (por exemplo, POPs, pesticidas, metais) e comunidades microbianas associadas a partículas (“plastisfera”/biofilme), condicionando assim as respostas biológicas.

Na interface intestinal, as misturas de MNPs podem promover disbiose/alteração de metabólitos microbianos e disfunção da barreira de maneira dependente do contexto, influenciada pelo tamanho/forma das partículas, formação de biocorona e estado da barreira do hospedeiro. Essas perturbações podem aumentar a disponibilidade sistêmica de produtos microbianos (por exemplo, LPS) e mediadores inflamatórios, contribuindo para o engajamento imunológico periférico/priming imunológico. A comunicação entre o sistema imunológico e o cérebro pode ocorrer por meio de citocinas circulantes, vias aferentes vagais e sinalização de glicocorticóides mediada pelo eixo HPA e sinalização de glicocorticóides, convergindo para alterações no estado microglial e disfunção da NVU, o que pode aumentar a suscetibilidade a fenótipos relacionados ao estresse e afetivo-cognitivos. Uma via secundária, específica à exposição — translocação direta de partículas/substâncias químicas para o cérebro — é descrita como incerta e dependente do contexto. As setas sólidas denotam ligações fisiológicas bem fundamentadas, enquanto as setas tracejadas indicam etapas hipotéticas ou específicas da exposição, para as quais a força das evidências varia. Abreviaturas: BPA, bisfenol A; HPA, eixo hipotálamo-hipófise-adrenal; LPS, lipopolissacarídeo; MNP, micro e nanoplásticos; NVU, unidade neurovascular; POPs, poluentes orgânicos persistentes. **Fonte:** Gerada pelo modelo de inteligência artificial Gemini (Google), 2026.

### **1.3. Disbiose da microbiota intestinal induzida por nanoplásticos e consequências funcionais.**

#### **1.3.1. Disbiose da microbiota intestinal e disfunção da barreira intestinal induzidas por microplásticos.**

Estudos experimentais indicam que a exposição a micro e nanoplásticos pode perturbar a estrutura da comunidade microbiana intestinal e sua atividade funcional, produzindo um estado semelhante à disbiose. Em modelos com roedores, a exposição a MNP tem sido associada à depleção de taxas frequentemente consideradas benéficas (por exemplo, *Lactobacillus*, *Bifidobacterium*) e ao enriquecimento relativo de marcadores pró-inflamatórios, incluindo membros da *Proteobacteria* (Souza-Silva et al., 2022). É importante ressaltar que as mudanças na composição são frequentemente acompanhadas por alterações no metabolismo microbiano, incluindo relatos de redução na produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), metabólitos implicados na integridade epitelial, tolerância imunológica e sinalização neuroimunológica.

Do ponto de vista mecânico, a redução da disponibilidade de AGCC e uma remodelação metabólica mais ampla poderiam plausivelmente aumentar a vulnerabilidade da barreira ao enfraquecer a organização das junções estreitas, alterar a dinâmica do muco e deslocar a homeostase imunológica da mucosa para um fenótipo mais reativo. Consistente com essa interpretação, a disbiose associada à MNP tem sido relacionada a sinais inflamatórios locais e sistêmicos intensificados, incluindo o aumento da expressão de citocinas como a interleucina-6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) (Di Vincenzo et al., 2024; Park et al., 2025). No entanto, muitos estudos continuam limitados pelo controle incompleto da dieta, alojamento, composição basal do microbioma e matrizes de exposição, o que pode influenciar significativamente tanto os

resultados microbianos quanto os desfechos de barreira. Além disso, a “disbiose” é frequentemente operacionalizada como mudanças taxonômicas sem validação funcional paralela (metabolômica, metagenômica ou quantificação direcionada de AGCC), restringindo a inferência mecanicista.

É improvável que a disfunção da barreira intestinal seja estritamente consequência da disbiose; ao contrário, as alterações na microbiota e o estresse epitelial podem reforçar-se mutuamente em um ciclo de retroalimentação positiva. Nesse contexto bidirecional, as evidências convergentes em animais apoiam um modelo no qual a exposição a MNP inclina o ambiente intestinal para um estado propenso à permeabilidade e pró-inflamatório, aumentando assim a probabilidade de uma ativação imunológica de baixo grau sustentada.

Além dos efeitos intrínsecos das partículas na ecologia microbiana, os MNPs podem atuar como vetores de coexposições, incluindo aditivos plásticos e contaminantes ambientais sorvidos (por exemplo, bisfenol A, ftalatos, resíduos de pesticidas), que podem amplificar o estresse oxidativo e perturbar a homeostase das células epiteliais, dificultando a atribuição exclusiva às partículas (Winiarska et al., 2024). Nessas condições, o aumento da exposição sistêmica a produtos microbianos (por exemplo, LPS) torna-se uma consequência plausível, mas não universal, da perturbação da barreira. Como a quantificação de LPS é sensível ao método e vulnerável a fatores de confusão decorrentes de contaminação e interferência no ensaio, os estudos que inferem endotoxemia deveriam, idealmente, fazer uma triangulação entre marcadores complementares (por exemplo, proteína de ligação ao LPS) e incorporar controles rigorosos. No entanto, o envolvimento de vias imunológicas inatas por produtos microbianos derivados do intestino fornece uma via coerente pela qual perturbações intestinais poderiam se propagar para a inflamação sistêmica e, em última instância, influenciar a sinalização neuroimunológica ao longo do eixo intestino-cérebro.

É provável que esses mecanismos também dependam do estágio de desenvolvimento. Os primeiros anos de vida são caracterizados pela rápida maturação da microbiota, da função de barreira epitelial e dos pontos de equilíbrio imunológicos; portanto, perturbações durante os períodos pré-natal e pós-natal inicial podem ser mais susceptíveis de produzir alterações persistentes no tônus imunológico e na comunicação

intestino-cérebro, aumentando potencialmente a vulnerabilidade, mais tarde na vida, a fenótipos relacionados ao estresse e ao desenvolvimento neurológico.

### **1.3.2 A permeabilidade intestinal como elo mecânico entre distúrbios neuropsiquiátricos e neurodegenerativos.**

A ruptura da integridade da barreira intestinal, comumente definida como aumento da permeabilidade intestinal, tem sido associada a fenótipos inflamatórios relevantes para condições psiquiátricas e neurodegenerativas. O aumento da permeabilidade pode facilitar a exposição sistêmica a produtos microbianos (incluindo LPS) e contribuir para a inflamação crônica de baixo grau. Em transtornos de humor, estudos clínicos relatam elevações nos índices circulantes consistentes com translocação bacteriana (por exemplo, LPS e proteína de ligação ao LPS) juntamente com ativação inflamatória, apoiando a plausibilidade da sinalização imunológica derivada do intestino como um fator contribuinte para dimensões de sintomas como anedonia, fadiga e sensibilidade ao estresse (Macura et al., 2024; Maes et al., 2008; van Eeden et al., 2020). No entanto, essas associações permanecem vulneráveis à causalidade reversa e a fatores de confusão residuais (padrões alimentares, medicamentos, adiposidade/comorbidade metabólica, sono e fisiologia do estresse). Além disso, os biomarcadores de “permeabilidade” variam amplamente em termos de especificidade, e as interpretações baseadas em um único marcador podem ser enganosas sem evidências convergentes entre os domínios de barreira, imunológico e microbiano.

Nas doenças neurodegenerativas, a disfunção da barreira intestinal e a inflamação associada à microbiota têm sido associadas à amplificação neuroinflamatória e à progressão da proteinopatia. Estudos pré-clínicos sugerem que sinais imunológicos periféricos originários do intestino podem exacerbar a ativação microglial e modular processos relacionados ao  $\beta$ -amilóide e à proteína tau, enquanto estudos em humanos apoiam associações entre inflamação sistêmica, marcadores relacionados à barreira e comprometimento cognitivo (Dodiya et al., 2019; Kitazawa et al., 2005; Lee et al., 2010). Modelos inflamatórios análogos do tipo “intestino primeiro” ou “amplificados pelo intestino” foram propostos para a doença de Parkinson (Brown et al., 2023). Ainda assim, estabelecer a precedência temporal, as relações dose-resposta e a especificidade mecânica em humanos continua sendo um desafio, especialmente dada a forte influência da idade,

comorbidades, exposição a medicamentos e fatores de estilo de vida nos fenótipos tanto do intestino quanto do cérebro.

Nesse contexto, a disbiose induzida por MNP e o estresse epitelial podem ser conceituados como fatores ambientais a montante que poderiam inclinar o sistema para um aumento da permeabilidade e da endotoxemia, amplificando assim a sinalização inflamatória de origem intestinal ao longo do eixo intestino-cérebro. É importante ressaltar que não foram estabelecidas ligações causais diretas entre a exposição a MNP e diagnósticos neuropsiquiátricos ou neurodegenerativos específicos (Bora et al., 2024; Hirt e Body-Malapel, 2020; Sofield et al., 2024; Souza-Silva et al., 2022; Thin et al., 2025). No entanto, a convergência entre (i) fenótipos de disbiose/permeabilidade induzidos por MNP em animais e (ii) associações entre permeabilidade e inflamação em humanos sustenta a disfunção da barreira intestinal como um intermediário mecânico plausível que conecta as exposições ambientais à vulnerabilidade cerebral. A sinalização a jusante pode ocorrer por meio de vias humorais de citocinas, mecanismos de transporte ativo e vias aferentes vagais, convergindo para a ativação microglial e a remodelação sináptica (Di Vincenzo et al., 2024; Erny et al., 2015; Gurow et al., 2025).

### **1.3.3. Dinâmica Populacional dos Filos *Firmicutes* e *Bacteroidetes*: Da Homeostase à Monitoração por qPCR 16S**

O filo *Firmicutes* é composto majoritariamente por bactérias Gram-positivas e representa uma das linhagens mais abundantes e funcionalmente diversas da microbiota intestinal. Biologicamente, este filo é caracterizado por uma vasta gama de gêneros, como *Lactobacillus*, *Clostridium* e *Enterococcus*, que desempenham um papel central na homeostase metabólica do hospedeiro (Ley et al., 2006). A principal função do grupo reside na fermentação de polissacarídeos complexos e fibras dietéticas, resultando na produção de ácidos graxos de cadeia curta (AGCC), com destaque para o butirato. Este metabólito é a principal fonte de energia para os colonócitos e possui propriedades anti-inflamatórias críticas, além de estimular a expressão de proteínas de junção estreita (*tight junctions*), reforçando a integridade da barreira intestinal (Tremaroli; Bäckhed, 2012).

Do ponto de vista sistêmico, os *Firmicutes* são reconhecidos pela alta eficiência na extração de energia da dieta. Estudos seminais de Turnbaugh et al. (2006) demonstraram que uma abundância excessiva deste filo está associada a um perfil genético rico em enzimas para a hidrólise de carboidratos não digeríveis, o que aumenta

a absorção calórica e pode modular vias de sinalização lipídica e inflamatória. Nesse contexto de exposição a xenobióticos, como os nanoplasticos, alterações na densidade populacional de *Firmicutes* podem comprometer o aporte de butirato, predispondo o epitélio intestinal a estados inflamatórios e à perda de seletividade da barreira.

Em contrapartida à dominância dos *Firmicutes*, os *Bacteroidetes* (recentemente propostos como filo *Bacteroidota*) constituem o principal grupo de bactérias Gram-negativas no trato gastrointestinal, atuando como especialistas na degradação de polímeros orgânicos complexos. Diferente dos *Firmicutes*, os *Bacteroidetes* possuem uma versatilidade metabólica superior, conferida por sistemas genômicos especializados conhecidos como *Polysaccharide Utilization Loci* (PULs). Esses sistemas permitem que o filo degrade não apenas fibras da dieta, mas também glicanas endógenas, como a mucina, o que os torna essenciais para a renovação e manutenção da camada de muco protetora do intestino (Wexler, 2007).

Além da função metabólica na produção de acetato e propionato, os *Bacteroidetes* desempenham um papel vital na modulação da imunidade inata e adaptativa. Espécies como o *Bacteroides fragilis* produzem moléculas imunomoduladoras, como o Polissacarídeo A (PSA), que induz a diferenciação de células T reguladoras (Tregs), promovendo a tolerância e prevenindo respostas inflamatórias exacerbadas na mucosa (Wexler, 2007). Contudo, por serem Gram-negativos, sua parede celular é rica em lipopolissacarídeos (LPS). Em condições de homeostase, o LPS dos *Bacteroidetes* é menos imunogênico que o de outros filios; entretanto, em estados de disbiose ou ruptura da barreira induzida por estressores ambientais, a translocação desses componentes para a circulação sistêmica pode desencadear a endotoxemia metabólica, conectando a perturbação intestinal a fenótipos neuroinflamatórios (Cani *et al.*, 2008).

Dada a complementaridade funcional entre esses dois grupos, a literatura frequentemente recorre à análise da proporção entre eles — a Razão F/B — como um biomarcador central de homeostase ou disbiose sistêmica (Ley *et al.*, 2006; Tremaroli; Bäckhed, 2012). Conforme demonstrado por Turnbaugh *et al.* (2006), a alteração nesta razão sinaliza uma mudança crítica na capacidade de extração de energia e no perfil inflamatório do lúmen intestinal, fenótipo este que tem sido consistentemente relatado em estudos de exposição a MNPs.

Para a detecção precisa dessas flutuações populacionais, a metodologia baseia-se no gene do RNAr 16S, um marcador filogenético universal que contém regiões conservadas e hipervariáveis (V1 a V9). Embora o sequenciamento de nova geração (NGS) seja a ferramenta padrão para exploração da diversidade, o uso de *primers* específicos para os filos em ensaios de PCR quantitativo em tempo real (qPCR) oferece vantagens críticas para a validação de modelos experimentais de toxicidade (Smith; Osborn, 2009). Esta escolha técnica fundamenta-se nos seguintes pilares:

- **Quantificação Absoluta vs. Relativa:** Enquanto o NGS fornece abundâncias relativas, o qPCR permite a quantificação absoluta através de curvas padrão. Em estudos com MNPs, onde pode ocorrer uma redução severa da carga bacteriana total, o sequenciamento pode mascarar perdas absolutas se as proporções entre os grupos remanescentes permanecerem similares. O qPCR revela a magnitude real da depleção bacteriana (Smith; Osborn, 2009).
- **Sensibilidade e Limite de Detecção:** O qPCR apresenta sensibilidade superior para detectar alvos específicos que podem estar abaixo do limite de detecção em sequenciamentos de baixa profundidade, o que é crucial para monitorar a queda de táxons benéficos ou o enriquecimento de patobiontes em estágios iniciais de disbiose (Bustin *et al.*, 2009).
- **Precisão Taxonômica e Reprodutibilidade:** A utilização de *primers* direcionados mitiga vieses como a variabilidade no número de cópias do gene 16S e elimina incertezas de processamento bioinformático inerentes ao NGS, permitindo uma validação robusta em coortes experimentais (Guo *et al.*, 2008).

Em suma, o uso de qPCR direcionado ao 16S constitui uma escolha técnica deliberada que prioriza a especificidade e a precisão quantitativa. Essa abordagem é essencial para estabelecer correlações fidedignas entre a carga bacteriana absoluta e o grau de permeabilidade intestinal induzida por contaminantes ambientais, permitindo uma inferência mecanicista mais segura sobre o impacto das MNPs no eixo intestino-cérebro.

#### **1.4. Vias mecanísticas que conectam a exposição a nanoplasticos à neuroinflamação e disfunção cerebral**

Os efeitos neurobiológicos atribuídos aos MNPs são melhor concebidos como multifacetados e dependentes do contexto, refletindo tanto interações diretas das partículas quanto vias sistêmicas indiretas que envolvem sinalização imunológica, metabólica e neuroendócrina. A contribuição relativa destas vias é condicionada por características físico-químicas — como tamanho, morfologia e a formação da biocorona — além do momento do desenvolvimento do hospedeiro (Prata et al., 2020). Em vez de um mecanismo unitário, a exposição funciona como um modificador ambiental que desvia a integridade biológica para estados permissivos à neuroinflamação, iniciando-se pela transposição da Barreira Hematoencefálica (BHE). Devido à sua lipofilicidade e tamanho reduzido, os nanoplásticos podem atravessar a BHE por vias paracelulares ou transporte mediado por receptores, onde a adsorção de proteínas superficiais mimetiza ligantes endógenos que facilitam a entrada no parênquima cerebral (Yang et al., 2023). Este evento inicial frequentemente resulta na ruptura das junções de oclusão (*tight junctions*), aumentando a permeabilidade vascular e permitindo que as partículas atuem como corpos estranhos persistentes no microambiente neural (Souza-Silva et al., 2022).

Uma vez internalizados, os nanoplásticos desencadeiam o estresse oxidativo e a ativação do inflamassoma NLRP3. A interação direta com as mitocôndrias eleva a produção de Espécies Reativas de Oxigênio (EROs), que servem de gatilho para a resposta imune inata via microglia (Yang et al., 2023). Este estado inflamatório é perpetuado pela liberação de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1 $\beta$  e TNF- $\alpha$ , que culminam em danos teciduais progressivos e na manutenção de um microambiente citotóxico (Prata et al., 2020).

Esta cascata inflamatória reverbera, por fim, na disfunção sináptica e interferência na proteostase, onde o acúmulo de partículas prejudica a autofagia e o sistema ubiquitina-proteassoma. Tal falha na degradação proteica pode favorecer a agregação de proteínas patológicas, como a  $\alpha$ -sinucleína, enquanto a inibição simultânea da enzima acetilcolinesterase (AChE) altera a disponibilidade de neurotransmissores na fenda sináptica (Souza-Silva et al., 2022). Assim, a exposição aos MNPs desloca os pontos de equilíbrio homeostáticos para fenótipos de alteração da plasticidade neural, embora persistam incertezas translacionais quanto à localização tecidual e dose interna realisticamente observáveis no ambiente (Nihart et al., 2025).

#### **1.4.1. Efeitos diretos das MNPs no sistema nervoso central**

Os efeitos diretos no SNC estão mais provavelmente associados a partículas em nanoescala, para as quais estudos experimentais sugerem maior interação celular e, sob condições específicas, um possível envolvimento da NVU e acesso a compartimentos centrais, especialmente quando a função de barreira é comprometida por inflamação sistêmica ou outros fatores de estresse. No entanto, a “exposição direta ao SNC” continua sendo um grande desafio: muitos estudos dependem de tipos de partículas (frequentemente esferas de poliestireno imaculadas), paradigmas de exposição e fluxos de trabalho de detecção que podem não ser generalizáveis para misturas ambientais heterogêneas e envelhecidas. Quando efeitos diretos são relatados, eles são frequentemente interpretados por meio de alterações nos parâmetros redox e bioenergéticos do cérebro, e podem se manifestar preferencialmente em regiões metabolicamente exigentes e relevantes para a plasticidade, como o HP. Em roedores, a exposição a nanoplasticos tem sido associada ao estresse oxidativo, à disfunção mitocondrial e à perturbação da homeostase neuronal, com efeitos a jusante na integridade sináptica e na neurogênese (Yang et al., 2023).

No nível celular, os efeitos relatados incluem comprometimento da respiração mitocondrial, aumento da geração de espécies reativas de oxigênio e alteração no manejo do cálcio, processos que podem perturbar o equilíbrio energético neuronal (Huang *et al.*, 2023) e a transmissão sináptica (Ho *et al.*, 2025). No entanto, a força da inferência para a exposição cerebral direta continua limitada pela heterogeneidade nas preparações de partículas, na dosagem e na detecção analítica (Adhikari *et al.*, 2022).

Distinguir a verdadeira localização parenquimatosa da associação vascular ou da contaminação perimortem/laboratorial, e quantificar a dose interna relevante para o cérebro, continuam sendo principais gargalos translacionais (A. Monikh *et al.*, 2025). Consequentemente, as evidências atuais apoiam a plausibilidade biológica da neurotoxicidade direta em sistemas experimentais, mas não estabelecem sua prevalência ou magnitude em cenários de exposição humana ambientalmente realistas (Nihart *et al.*, 2025). Uma interpretação conservadora é que os efeitos diretos no SNC são condicionais e provavelmente mais relevantes para frações específicas em nanoescala e contextos de exposição do que como um mecanismo dominante em exposições humanas típicas.

#### **1.4.2. Mecanismos neuroimunológicos indiretos mediados pelo eixo intestino-cérebro**

A exposição às MNP pode promover a disbiose da microbiota intestinal, perturbar a produção metabólica microbiana e comprometer a integridade da barreira epitelial, aumentando a exposição sistêmica a produtos microbianos (por exemplo, LPS) e mediadores inflamatórios. Essas alterações podem impulsionar a ativação imunológica periférica e um ambiente de citocinas enriquecido em IL-1 $\beta$ , IL-6 e TNF- $\alpha$ , o que pode influenciar a função cerebral por meio de múltiplas vias, incluindo acesso humoral em regiões de barreira menos rígida, transporte ativo de citocinas e sinalização aferente vagal (Hirt e Body-Malapel, 2020). Essas vias convergem para a microglia, promovendo estados de ativação/“priming” que podem amplificar as respostas neuroinflamatórias a desafios subsequentes (He et al., 2024; Perry e Holmes, 2014).

Duas ressalvas são importantes para o rigor mecanicista. Em primeiro lugar, muitos estudos inferem a “inflamação” a partir de painéis limitados de citocinas e não esclarecem totalmente se as alterações centrais observadas refletem sinalização imunológica periférica, efeitos do eixo do estresse ou toxicidade inespecífica (Cryan *et al.*, 2019; Prata *et al.*, 2020). Em segundo lugar, a direcionalidade da disbiose e da disfunção da barreira é provavelmente recíproca, e a confusão causada por matrizes de dieta, alojamento e exposição é comum em estudos com animais. Mesmo com essas limitações, a convergência entre os modelos apoia um mecanismo indireto no qual a exposição a MNP pode deslocar a interface intestino-imunológica para o priming imunológico, aumentando a probabilidade de engajamento neuroimunológico a jusante.

A ativação/preparação da micróglia sustentada está mecanicamente ligada à remodelação sináptica, à alteração da sinalização relacionada aos neurotransmissores e ao aumento da sensibilidade ao estresse, fenótipos relevantes para a disfunção cognitiva e do humor (Ho *et al.*, 2025). Notavelmente, as alterações neuroimunes podem persistir além do período de exposição, particularmente quando as exposições ocorrem durante o desenvolvimento ou em condições que mantêm inflamação sistêmica de baixo grau, fornecendo uma via plausível pela qual a exposição crônica ou precoce a MNP poderia exercer efeitos de longo prazo sobre a vulnerabilidade cerebral (Chen *et al.*, 2024; Li *et al.*, 2020; Nihart *et al.*, 2025). Estudos longitudinais que quantifiquem diretamente a persistência das alterações no estado imunológico e da micróglia após a cessação da exposição continuam sendo uma lacuna importante.

#### **1.4.3. Perturbação endócrina e desregulação do eixo do estresse**

Além das vias imunomediadas, a exposição às MNP pode modular a função cerebral indiretamente, atuando como transportadora de substâncias químicas e metais desreguladores endócrinos (por exemplo, bisfenol A, ftalatos, chumbo) adsorvidos às superfícies das partículas. O co-transporte pode aumentar a biodisponibilidade local e transformar efetivamente a “exposição às partículas” em exposição à mistura, complicando a atribuição de efeitos aos plásticos em si. Os desreguladores endócrinos associados à exposição ao plástico podem influenciar a sinalização monoaminérgica, a homeostase do cálcio e os programas transcricionais mediados por receptores nucleares, criando ligações plausíveis com fenótipos afetivos e cognitivos (Buoso *et al.*, 2025; Ullah *et al.*, 2023). Uma implicação fundamental é que estudos que não quantificam/controlam de forma aditiva os lixiviáveis e co-contaminantes correm o risco de confundir efeitos induzidos por partículas com efeitos induzidos por substâncias químicas.

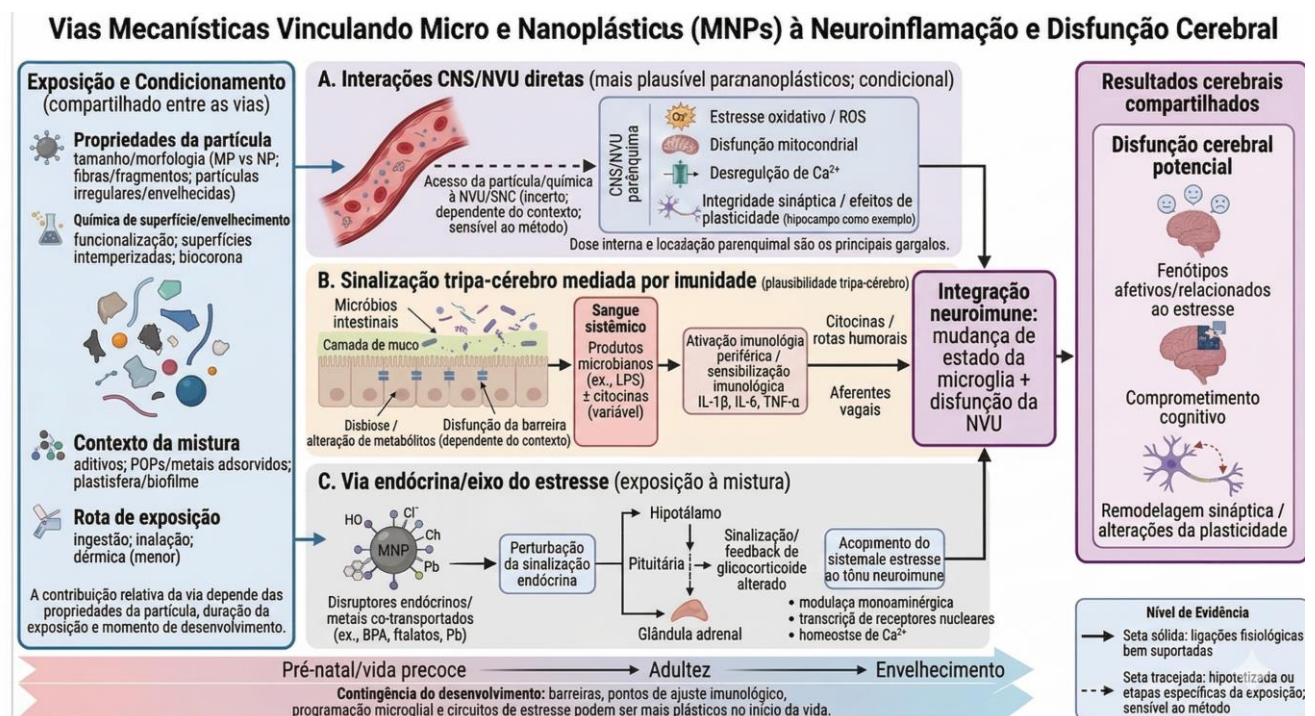
Esses efeitos da mistura são particularmente relevantes para a regulação do eixo HPA. Trabalhos experimentais indicam que substâncias químicas associadas ao plástico podem alterar a sinalização dos glicocorticóides e a retroalimentação do eixo do estresse, promovendo respostas de estresse prolongadas ou desreguladas. Dado que a desregulação do eixo HPA é uma característica marcante dos transtornos relacionados ao estresse, as perturbações endócrinas podem atuar sinergicamente com as vias imunomediadas (por exemplo, potencializando respostas inflamatórias ou alterando a integridade da barreira), amplificando assim a vulnerabilidade comportamental (Winiarska *et al.*, 2024). Desvincular mecanicamente as vias endócrinas das imunológicas exigirá desenhos que incorporem controles com partículas lavadas, braços apenas com lixiviado e medições de desfechos endócrinos alinhadas com o momento das leituras imunológicas.

#### **1.4.4. Momento do desenvolvimento e vulnerabilidade a longo prazo**

É provável que o impacto dessas vias dependa do estágio de desenvolvimento. Os períodos pré-natal e pós-natal inicial abrangem a rápida maturação da microbiota intestinal, das barreiras epitelial e hematoencefálica, a calibração imunológica e os circuitos reguladores do estresse. Perturbações ambientais durante essas janelas de oportunidade podem, portanto, exercer efeitos desproporcionais ao moldar a programação imunológica, a reatividade microglial e o desenvolvimento do sistema neurotransmissor (Braniste *et al.*, 2014; Gomez de Agüero *et al.*, 2016; Thion *et al.*, 2018; Yeramilli *et al.*, 2023). A exposição precoce a MNPs e co-contaminantes associados poderia, em princípio, produzir alterações persistentes na comunicação intestino-cérebro e na

responsividade neuroimunológica, aumentando a suscetibilidade a fenótipos neuropsiquiátricos na vida jovem tardia e potencialmente amplificando a vulnerabilidade em contextos de envelhecimento (Guo *et al.*, 2025). No entanto, a transposição desse quadro de suscetibilidade ao desenvolvimento para os seres humanos exigirá uma melhor quantificação da exposição na gravidez/infância, acompanhamento longitudinal e controle cuidadoso das exposições sociais e ambientais correlacionadas.

Em conjunto, as evidências disponíveis apoiam um modelo de múltiplas vias no qual a exposição às MNP pode influenciar a função cerebral por meio de (i) neurotoxicidade direta relacionada às partículas (mais plausível para frações específicas em nanoescala) (Guo *et al.*, 2025), (ii) sinalização intestino-cérebro mediada pelo sistema imunológico (Chen *et al.*, 2023) e (iii) desregulação endócrina causada por substâncias químicas co-transportadas (Buoso *et al.*, 2025). Embora as relações causais em humanos permaneçam indeterminadas, a convergência mecanística entre estudos experimentais apoia a plausibilidade de que as MNPs contribuam para a vulnerabilidade cerebral a longo prazo, particularmente sob exposição crônica e durante janelas sensíveis do desenvolvimento (Figura 3).



**Figura 3. Vias diretas e indiretas convergentes pelas quais os micro e nanoplásticos (MNPs) podem alterar a sinalização neuroimunológica e a vulnerabilidade cerebral.** Os efeitos associados aos MNPs são determinados pelas propriedades das partículas (distribuição de tamanho, morfologia, tipo de polímero), química da superfície/envelhecimento e formação da biocorona, misturas de coexposição (aditivos e contaminantes sorvidos) e o momento da exposição ao longo da vida. A via direta (mais plausivelmente

ligada às frações em nanoescala) retrata interações na interface neurovascular e possível acesso central em condições como comprometimento da barreira ou inflamação sistêmica; os desfechos relatados incluem estresse oxidativo/geração de ROS, comprometimento mitocondrial, desregulação de  $\text{Ca}^{2+}$  e efeitos sobre a integridade/plasticidade sináptica. No entanto, a inferência contínua limitada por incertezas quanto à dose interna relevante para o cérebro e à distinção entre sinal associado ao sistema vascular e localização parenquimatosa. A via indireta enfatiza a sinalização intestino-cérebro, por meio da qual a exposição a MNP pode induzir disbiose e reduzir metabólitos microbianos protetores, perturbar as junções apertadas epiteliais e a permeabilidade, e aumentar a exposição sistêmica a produtos microbianos (por exemplo, LPS) e citocinas (por exemplo, IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF- $\alpha$ ), levando à ativação imunológica periférica e a alterações no estado da micróglia por vias humorais e vagais. A via do eixo endócrino/estresse destaca a vetorização de MNP de desreguladores endócrinos (por exemplo, análogos do BPA, ftalatos) que podem perturbar o feedback do eixo HPA e a sinalização dos glicocorticóides, potencialmente amplificando a comunicação entre o sistema imunológico e o cérebro. As janelas de desenvolvimento (pré-natal/pós-natal precoce) são destacadas como períodos de maior plasticidade na função de barreira, na calibração imunológica e nos circuitos de estresse, durante os quais as exposições podem ter efeitos mais persistentes sobre a responsividade neuroimunológica e os resultados afetivo-cognitivos. Abreviaturas: BPA, bisfenol A;  $\text{Ca}^{2+}$ , cálcio; HPA, eixo hipotálamo-hipófise-adrenal; IL, interleucina; LPS, lipopolissacarídeo; MNP, micro e nanoplasticos; NVU, unidade neurovascular; ROS, espécies reativas de oxigênio; TNF- $\alpha$ , fator de necrose tumoral. **Fonte:** Gerada pelo modelo de inteligência artificial Gemini (Google), 2026.

## 1.5. Evidências provenientes de modelos animais e estudos em humanos

### 1.5.1 Evidências provenientes de modelos animais

Uma crescente literatura pré-clínica indica que a exposição a MNP pode provocar alterações coordenadas no intestino, no sistema imunológico e no cérebro, consistentes com o modelo do eixo intestino-cérebro. Em modelos com roedores, a exposição oral prolongada a polímeros comumente estudados (notadamente poliestireno e polietileno) tem sido associada a perturbações da microbiota intestinal, incluindo redução da diversidade  $\alpha$ , depleção de taxas frequentemente consideradas benéficas (por exemplo, *Lactobacillus* spp.) e enriquecimento de assinaturas bacterianas pró-inflamatórias (Chen *et al.*, 2024; Souza-Silva *et al.*, 2022). Essas alterações microbianas frequentemente coocorrem com comprometimento da função da barreira epitelial, índices circulantes interpretados como consistentes com endotoxemia e inflamação sistêmica de baixo grau, apoiando um fenótipo acoplado de disbiose–permeabilidade. No entanto, é importante observar que a dieta, o alojamento, a composição basal do microbioma e as matrizes de exposição são frequentemente controladas de forma incompleta, e que a “endotoxemia”, em particular, é sensível ao método e deve ser interpretada com cautela, a menos que seja apoiada por marcadores convergentes.

No nível central, a exposição a MNP tem sido associada a efeitos neuroinflamatórios e comportamentais. Em diversos estudos, roedores expostos apresentam fenótipos semelhantes à ansiedade e à depressão, dificuldades de aprendizagem e memória, e alterações na resposta ao estresse. Esses indícios comportamentais são comumente acompanhados por aumento da expressão de citocinas pró-inflamatórias em regiões como o HP e o CPF, marcadores de ativação microglial e indicadores de estresse oxidativo. Os plásticos em nanoescala podem ser especialmente propensos a interagir com interfaces celulares; relatórios experimentais descrevem a detecção de partículas associadas ao cérebro em paralelo com disfunção mitocondrial, neurogênese hipocampal reduzida e alterações sinápticas (Yang *et al.*, 2023). No entanto, a localização cerebral e a quantificação da dose interna relevante para o cérebro continuam sendo grandes restrições técnicas e são altamente sensíveis à preparação das partículas, ao estado de agregação, à matriz de exposição e à especificidade dos fluxos de trabalho de detecção analítica.

O momento do desenvolvimento parece modular os resultados. As exposições pré-natais e no início do período pós-natal são frequentemente associadas a alterações mais pronunciadas e persistentes na composição da microbiota, na sinalização imunológica e nos fenótipos comportamentais do que a exposição que se inicia na idade jovem tardia, o que é consistente com a calibração, durante o desenvolvimento, da função de barreira, dos pontos de equilíbrio imunológicos e dos circuitos de resposta ao estresse (Guo *et al.*, 2025; Tian *et al.*, 2024). Apesar dessa plausibilidade mecânica, a validade ecológica continua sendo uma limitação central: muitos estudos utilizam partículas imaculadas, diversidade limitada de polímeros e paradigmas de dosagem que podem não refletir misturas ambientalmente relevantes, incluindo partículas envelhecidas/irregulares com biocoronas e coexposições (Masseroni *et al.*, 2022). Assim, as evidências em animais são atualmente mais informativas para a identificação de vias e plausibilidade biológica, em vez de para inferências quantitativas sobre a magnitude do risco em exposições humanas no mundo real.

### **1.5.2. Evidências provenientes de estudos em humanos**

As evidências em humanos sobre os efeitos neurobiológicos das MNPs continuam limitadas, mas estão em expansão. Estudos post mortem e de biomonitoramento relataram a presença de microplásticos em diversos tecidos, incluindo sangue, placenta e cérebro,

corroborando a possibilidade de distribuição sistêmica e de acesso potencial a compartimentos centrais (Nihart *et al.*, 2025). Essas descobertas são interpretativamente relevantes, mas requerem uma qualificação cuidadosa: a detecção nos tecidos não estabelece atividade biológica, localização compartimental (vascular versus parenquimatosa) ou causalidade, e é particularmente sensível ao controle de contaminação, aos critérios de identificação de polímeros e aos padrões de relatórios. Dados observacionais emergentes também sugerem associações entre medidas de partículas circulantes e correlatos inflamatórios ou neuropsiquiátricos. Por exemplo, medidas mais elevadas de partículas circulantes têm sido associadas a índices elevados de estresse inflamatório/oxidativo e a sintomas de ansiedade e depressão auto-relatados em populações jovens tardias (Thin *et al.*, 2025). Embora direcionalmente consistente com os mecanismos observados em modelos animais (disfunção de barreira, ativação imunológica, perturbação do eixo do estresse), a base de evidências atual é predominantemente transversal, as métricas de exposição e os fluxos analíticos variam substancialmente, e medidas repetidas ou acompanhamento prospectivo são incomuns, restrições que limitam significativamente a inferência causal.

É provável que a confusão residual e a causalidade reversa também sejam significativas. Fatores socioeconômicos, dieta, coexposição à poluição atmosférica e estados inflamatórios basais podem influenciar tanto a carga de MNP medida quanto os resultados de saúde mental. Consequentemente, a literatura atual sobre seres humanos apoia, na melhor das hipóteses, uma relação associativa, permanecendo indeterminadas a direção e a especificidade dos efeitos (Landrigan *et al.*, 2023; Nihart *et al.*, 2025).

Em conjunto, os resultados obtidos em animais e em humanos apontam para fenótipos de disbiose e permeabilidade, inflamação sistêmica e interação neuroimunológica como mediadores plausíveis dos efeitos cerebrais associados às MNPs. Embora a causalidade definitiva em humanos permaneça não resolvida, o alinhamento entre vias comprovadas experimentalmente e observações emergentes em humanos apoia a hipótese de trabalho de que as MNPs podem atuar como modificadores ambientais da vulnerabilidade neuropsiquiátrica, particularmente sob exposição crônica e durante janelas sensíveis do desenvolvimento.

**Tabela 2.** Evidências que associam a exposição a microplásticos e nanoplásticos a alterações no eixo intestino-cérebro e a desfechos neurocomportamentais

<b>Modelo / desenvolvimento</b>	<b>Exposição (via; tipo de partícula)</b>	<b>Detalhes da partícula (polímero; tamanho; morfologia; envelhecimento)</b>	<b>Janela e duração da exposição</b>	<b>Principais achados intestinais / barreira / imunes</b>	<b>Principais desfechos cerebrais / comportamentais</b>	<b>Classificação de evidência</b>	<b>Limitações principais / observações</b>	<b>Referências</b>
<b>Camundongo / rato</b>	MPs orais (poliestireno; polietileno)	Polímero: PS/PE; Tamanho: NR; Morfologia: NR; Envelhecimento: NR	NR (provaavelmente subcrônico; confirmar)	Disbiose; ↓ AGCC (SCFAs); ↑ permeabilidade e intestinal; inflamação sistêmica	Comportamento tipo ansioso e depressivo; ↑ citocinas hipocámpais	Mecanicista (animal)	Caracterização da partícula e métrica de dose frequentemente incompletas; validade ecológica depende de tamanho/morfologia/envelhecimento e contexto de mistura	Chen <i>et al.</i> , 2023; Souza-Silva <i>et al.</i> , 2022
<b>Camundongo</b>	NPs orais	Polímero: NR; Tamanho: “nano” (NR); Morfologia: NR; Envelhecimento: NR	NR	Sinal/deteção de partículas no cérebro (dependente do método); estresse oxidativo; disfunção mitocondrial	Déficit cognitivo; ↓ neurogênese hipocámpal	Mecanicista (animal)	Localização cerebral e dose interna dependem do método; diferenciar compartimentos (vascular vs parenquimatoso) e controles	Yang <i>et al.</i> , 2023
<b>Rodent (exposição)</b>	MPs pré-natal /	Polímero: NR; Tamanho: NR;	Período gestacional/in	Disbiose persistente;	Vulnerabilidade de compo	Mecanicista (anim	Necessário detalhar tempo, dose e controle de	Bora <i>et al.</i> ,

do desenvolvimento)	início da vida	Morfologia: NR; Envelhecimento: NR	início da vida; duração NR	“priming” imune; resposta ao estresse alterada	temporal a longo prazo	al; desenvolvimento)	fatores maternos (cuidado/dieta); variabilidade nos desfechos de longo prazo	2024
Humano (pós-morte)	Exposição ambiental (biomonitoramento)	Identificação do polímero: NR; Tamanho/morfologia: NR; Método: NR	n/a	Deteção de micropplásticos no tecido cerebral	n/a	Deteção (humano)	Deteção ≠ localização parenquimatosa ou atividade biológica; controle de contaminação e metodologia são críticos	Nihart <i>et al.</i> , 2025
Humano (transversal)	MPs circulantes	Métrica: NR; Polímero/tamanho: NR	n/a	Maior carga de partículas associada a marcadores inflamatórios/estresse oxidativo	Maior frequência de sintomas ansiosos/depressivos	Associação (humano; transversal)	Possível confusão e causalidade reversa; medida em único tempo; métodos analíticos heterogêneos	Thin <i>et al.</i> , 2025

**Classe de evidência:** Mecanística (animal) = exposição controlada com desfechos em vários níveis; Deteção (humano) = apenas presença/níveis; Associação (humano) = correlacional (frequentemente transversal). **Abreviações:** NR: não relatado; n/a: não aplicável; MP(s), micropplástico(s); NP(s), nanopplástico(s); MNP(s), micro e nanopplástico(s); PS, poliestireno; PE, polietileno; SCFA(s), ácido(s) graxo(s) de cadeia curta.

## 1.6. Lacunas de conhecimento e desafios metodológicos

### 1.6.1. A avaliação da exposição continua sendo o principal obstáculo

Uma limitação fundamental em estudos experimentais e em humanos é a imprecisão da caracterização da exposição. Os termos “micropplásticos” e “nanopplásticos” abrangem partículas heterogêneas que variam quanto à identidade do polímero, distribuição de tamanho, morfologia (fibras, fragmentos, esferas), química/carga da

superfície, grau de degradação e carga de aditivos/co-contaminantes. Esses atributos não são intercambiáveis; eles condicionam a agregação, a formação de proteínas/biocorona, a interação e a absorção epitelial, a biopersistência e o potencial inflamatório. No entanto, muitos estudos ainda operacionalizam a exposição usando massa total ou contagem de partículas sem caracterização suficiente no nível das partículas, limitando a síntese entre estudos e enfraquecendo a inferência dose-resposta (a Tabela 1 fornece uma estrutura para elementos mínimos de caracterização) (Adhikari *et al.*, 2022; Leslie *et al.*, 2022; Schwaferts *et al.*, 2019). Uma lacuna recorrente é a comunicação inconsistente de métricas de dose relevantes para a biologia das partículas (número, área de superfície e distribuição de tamanho), o que dificulta a comparação entre estudos, mesmo quando a “dose” nominal parece semelhante.

Em seres humanos, a estimativa da exposição é frequentemente indireta (indicadores alimentares, geografia ou amostras biológicas coletadas em um único momento) e captura apenas parcialmente as fontes de inalação, os ambientes de trabalho, os microambientes internos e as coexposições correlacionadas (por exemplo, poluição atmosférica por partículas, desreguladores endócrinos). Isso produz uma classificação errônea substancial da exposição que pode atenuar associações verdadeiras e inflar a vulnerabilidade a fatores de confusão residuais (Ageel *et al.*, 2022; Kannan e Vimalkumar, 2021; Leslie *et al.*, 2022a; Zuri *et al.*, 2023). Trabalhos futuros devem adotar estruturas de exposição integradas que incorporem métricas específicas por via (ingestão versus inalação), amostragem repetida e caracterização harmonizada de partículas suficiente para comparabilidade e quantificação da incerteza.

#### **1.6.2. O controle de contaminação e a padronização analítica apresentam inconsistências**

A quantificação de MPs é particularmente suscetível à contaminação durante a amostragem, o processamento e a análise (por exemplo, fibras transportadas pelo ar; plásticos provenientes de tubos de coleta, filtros e vestuário de laboratório). Em toda a literatura, os relatos sobre brancos de campo, brancos de procedimento, experimentos de recuperação, controles positivos e limites de detecção/quantificação permanecem desuniformes, e os controles de contaminação são frequentemente descritos, mas não utilizados para corrigir estimativas ou propagar a incerteza (A. Monikh *et al.*, 2025; Adhikari *et al.*, 2022; Evangelidou *et al.*, 2020; Prata *et al.*, 2020; Schwaferts *et al.*, 2019;

Solórzano *et al.*, 2025). Isso não é uma mera questão técnica: em matrizes de baixa carga, a contaminação pode ser da mesma ordem de magnitude que o sinal putativo, tornando as estimativas não corrigidas difíceis de interpretar.

Os fluxos analíticos também variam substancialmente (digestão da matriz, tamanhos de poros de filtração, separação por densidade, Raman vs FTIR vs pirólise-GC/MS, bibliotecas espectrais, limites de correspondência), e essas diferenças podem gerar resultados sistematicamente divergentes a partir da mesma matriz. Conseqüentemente, a heterogeneidade entre estudos pode refletir tanto a variação do método quanto a biologia (Ciornii *et al.*, 2025; Cowger *et al.*, 2020; Primpke *et al.*, 2020; Putzu *et al.*, 2025). O progresso exigirá: (i) fluxos de trabalho explícitos de controle de contaminação com procedimentos de correção transparentes; (ii) ensaios interlaboratoriais; e (iii) padrões mínimos de relatórios especificando critérios de identificação de partículas, limites espectrais e propagação da incerteza.

### **1.6.3. A detecção de tecido não equivale a uma exposição cerebral biologicamente significativa**

Relatos de detecção de plásticos em tecidos humanos, incluindo o cérebro, são interpretativamente relevantes, mas exigem uma análise cuidadosa. A detecção pode refletir a verdadeira carga *in vivo*, contaminação perimórbida ou de laboratório e artefatos metodológicos; além disso, a “presença” por si só não determina a localização celular, o compartimento (vascular versus parenquimatoso) ou a fração biologicamente ativa (A. Monikh *et al.*, 2025; Cowger *et al.*, 2020; Dzierżyński *et al.*, 2025). Para inferências mecanicistas, os estudos devem ir além da detecção em massa e adotar abordagens espacialmente resolvidas que mapeiem a localização das partículas em unidades neurovasculares, microglia e microdomínios parenquimatosos relevantes, idealmente combinadas com medidas de integridade da barreira e parâmetros neuroinflamatórios.

Uma lacuna relacionada é a capacidade limitada de quantificar a dose interna em locais-alvo relevantes (A. Monikh *et al.*, 2025). Sem modelos de natureza farmacocinética adaptados ao comportamento das partículas, à absorção, distribuição, depuração e retenção, continuam sendo difícil traduzir métricas de exposição ambiental em concentrações relevantes para o cérebro ou alinhar a dosagem experimental com cenários humanos plausíveis.

#### **1.6.4. A validade ecológica dos modelos animais é incerta**

Os modelos em roedores oferecem plausibilidade mecânica, mas muitos protocolos se baseiam em tipos de partículas (por exemplo, esferas de poliestireno em estado puro) e doses que podem não reproduzir as misturas do mundo real, dominadas por fragmentos envelhecidos e irregulares e fibras revestidas com contaminantes adsorvidos e coronas biológicas (Ciornii et al., 2025; Masseroni et al., 2022; Schwaferts et al., 2019). As janelas de exposição também são variáveis, com modelagem limitada da exposição crônica a baixas doses durante a gravidez, o desenvolvimento ou o envelhecimento, períodos plausivelmente relevantes para as trajetórias de desenvolvimento neurológico e a vulnerabilidade ao estresse (Li et al., 2020; Ragusa et al., 2021; Tian et al., 2024). É importante ressaltar que o “realismo ambiental” não se refere apenas à magnitude da dose, mas também à composição da mistura de partículas, ao estado de envelhecimento e à matriz de exposição, cada um dos quais pode alterar a absorção e a imunorreatividade.

Outras limitações translacionais incluem: (i) diferenças entre espécies na fisiologia intestinal, imunidade da mucosa, processamento de xenobióticos e sinalização neuroimunológica; (ii) efeitos de lote em preparações de partículas (contaminação por endotoxinas, estado de agregação, oxidação da superfície); (iii) atenção insuficiente ao sexo e ao estado hormonal, dadas as diferenças entre os sexos na reatividade imunológica e fenótipos de estresse; e (iv) dependência excessiva de ensaios comportamentais com validade de construto limitada quando usados isoladamente, particularmente sem pré-registro, cegamento e correção para testes múltiplos. Para fortalecer a inferência, trabalhos futuros devem priorizar misturas de partículas ambientalmente realistas, paradigmas de exposição crônica e desfechos multiníveis (comportamento + integridade da barreira + perfil imunológico + leituras sinápticas/neuronais) com características de desenho rigorosas (randomização, cegamento e poder a priori).

#### **1.6.5. Atualmente, a causalidade em seres humanos é indeterminada**

A maioria dos estudos em humanos é de natureza transversal ou de caráter longitudinal fraco, o que limita a interpretação causal. As principais ameaças incluem fatores de confusão como condição socioeconômica, qualidade da alimentação, urbanização, poluentes, exposições ocupacionais, tabagismo e comorbidades cardiometabólicas, cada um deles independentemente associado à inflamação sistêmica e

aos resultados de saúde mental. A causalidade reversa também é plausível: estados clínicos e comportamentais (mudanças na dieta, uso de medicamentos, permeabilidade alterada, inflamação basal) podem influenciar a carga de partículas medida ou sua detectabilidade em amostras biológicas (A. Monikh et al., 2025; Evangeliou et al., 2020; Leslie et al., 2022b; Nihart et al., 2025; Prata et al., 2020; Solórzano et al., 2025).

São necessários delineamentos mais robustos, incluindo: (i) coortes prospectivas com medidas repetidas de exposição e fenotipagem de saúde mental resolvida temporalmente; (ii) desfechos/exposições de controle negativo para interrogar estruturas de confusão; (iii) abordagens de triangulação (ex: quase-experimentos, como mudanças em políticas ou infraestrutura que alterem as exposições relacionadas a plásticos); e (iv) estruturas de modelagem causal que tornem as premissas explícitas. Estratégias de enriquecimento clínico (ex: subgrupos inflamatórios ou metabólicos) podem aumentar a sensibilidade mecanística, mas exigem uma interpretação cautelosa devido à generalizabilidade reduzida.

#### **1.6.6. A especificidade mecanística é limitada por desfechos "agrupados".**

Uma limitação recorrente é a sobreinterpretação mecanística de biomarcadores amplos e inespecíficos, por exemplo, a "inflamação" inferida a partir de pequenos painéis de citocinas (Fajgenbaum e June, 2020); ou o estresse oxidativo capturado por ensaios únicos (Murphy *et al.*, 2022). Dado que os plásticos podem atuar através de vias que se interceptam — disbiose, disfunção de barreira, ativação imune inata, desregulação endócrina por aditivos e cotransporte de poluentes orgânicos persistentes — as narrativas de via única são frequentemente prematuras.

As lacunas prioritárias incluem: (i) biologia de barreira, com avaliações padronizadas da permeabilidade intestinal e da função da barreira hematoencefálica juntamente com a carga de partículas; (ii) mapeamento neuro imune, incluindo estados microgliais específicos por região e tipo celular, em vez de mudanças globais em Iba1/GFAP; (iii) desfechos sinápticos/de circuito (remodelagem de proteínas sinápticas, equilíbrio E/I, neurogênese) com controles apropriados; e (iv) integração em nível de sistemas usando multiômica pareada à caracterização de partículas para identificar assinaturas reprodutíveis em vez de marcadores isolados.

#### **1.6.7. Prioridades de relato, harmonização e reprodutibilidade**

Dado o rápido crescimento do campo e a sua fragilidade metodológica, as salvaguardas de reprodutibilidade devem ser tratadas como inegociáveis. No mínimo, os estudos devem relatar de forma transparente a caracterização das partículas (distribuição de tamanho, morfologia, identidade do polímero, química de superfície/envelhecimento), controles de contaminação, desfechos pré-especificados e correções estatísticas. Para estudos em humanos, o relato padronizado dos materiais de amostragem, condições de coleta e protocolos de manuseio é essencial para reduzir a variabilidade espúria entre os estudos.

As prioridades de consenso a curto prazo incluem: (i) métricas de exposição harmonizadas; (ii) materiais de referência e bibliotecas espectrais compartilhados; (iii) validação interlaboratorial; e (iv) separação explícita entre estudos de detecção (estabelecendo presença/níveis) e estudos etiológicos (testando ligações causais), com interpretação conservadora para os primeiros.

### **1.7. Perspectivas e implicações para a saúde pública**

A exposição a MNPs representa um fardo ambiental difuso e amplamente involuntário, com contato crônico em baixas doses ocorrendo ao longo de todo o curso da vida (Kannan e Vimalkumar, 2021; Nihart *et al.*, 2025; Ullah *et al.*, 2023; Zuri *et al.*, 2023). Embora as ligações causais diretas entre a exposição a MNPs e desfechos específicos de saúde mental em humanos permaneçam não comprovadas, evidências experimentais convergentes sustentam uma plausibilidade mecanística suficiente para justificar uma abordagem de saúde pública baseada na precaução, particularmente para vias que operam indiretamente através da biologia de barreira, sinalização imunometabólica e o eixo microbiota-intestino-cérebro (Hirt e Body-Malapel, 2020; Prata *et al.*, 2020; Souza-Silva *et al.*, 2022; Thin *et al.*, 2025).

Diversas implicações decorrem disso para a saúde da população. Primeiro, a exposição no início da vida merece priorização. Os períodos pré-natal, perinatal e pós-natal precoce abrangem a maturação rápida da microbiota intestinal, das barreiras mucosas, da calibração imunológica e dos circuitos reguladores de estresse. Perturbações durante essas janelas — via disbiose, disfunção de barreira, coexposições endócrino-ativas ou ativação imune — podem ter consequências desproporcionais e potencialmente persistentes ao moldar os pontos de ajuste imunológicos e a responsividade neuroimune (Frerichs *et al.*, 2024; Thion *et al.*, 2018; Yeramilli *et al.*, 2023). Nesse sentido, a exposição a MNPs pode ser mais apropriadamente conceituada como um modificador

ambiental dentro de estruturas de vulnerabilidade do desenvolvimento, em vez de um neurotóxico agudo clássico.

Segundo, as iniquidades de exposição são prováveis e relevantes para as políticas públicas. Padrões dietéticos, infraestrutura de tratamento e distribuição de água potável, ambientes ocupacionais e a qualidade do ar interno/urbano variam entre estratos socioeconômicos e regiões geográficas, implicando heterogeneidade tanto na carga de MNPs quanto nas exposições a misturas correlacionadas (A. Monikh *et al.*, 2025; Cowger *et al.*, 2020; Leslie *et al.*, 2022; Prata *et al.*, 2020; Zuri *et al.*, 2023). Isso levanta preocupações de justiça ambiental e defende estratégias de vigilância de exposição que incorporem explicitamente os determinantes sociais e contextos de copoluentes, em vez de tratar os microplásticos como um domínio de exposição isolado.

Terceiro, uma perspectiva do eixo intestino-cérebro amplia o espaço de desfechos relevantes para a avaliação de risco. Estruturas focadas estritamente na neurotoxicidade evidente podem subestimar efeitos mediados por inflamação de baixo grau, desregulação endócrina e sinalização metabólica dependente da microbiota que se acumulam ao longo do tempo e interagem com a fisiologia do estresse. Assim, os esforços de pesquisa e vigilância devem integrar métricas de exposição com biomarcadores mecanicamente ancorados — função de barreira (intestinal e, onde viável, neurovascular), ativação imune e desregulação imuno metabólica — dentro de desenhos longitudinais e de curso de vida capazes de resolver a temporalidade.

No nível regulatório, essas considerações apoiam a prevenção primária: reduzir a produção de plástico e a liberação ambiental, fortalecer padrões para materiais em contato com alimentos e água potável e incentivar alternativas de materiais mais seguros. Ao mesmo tempo, a base de evidências atual não justifica classificar os MNPs como um fator de risco confirmado para a saúde mental. Uma posição defensável é que os MNPs devem ser incorporados em estratégias de saúde ambiental mais amplas, visando cargas inflamatórias e endócrinas cumulativas e exposições a misturas, enquanto as evidências mecanísticas e etiológicas continuam a amadurecer.

Finalmente, o progresso exigirá esforços multicêntricos coordenados abrangendo a ciência da exposição, química analítica, biologia do microbioma, neurociência e epidemiologia. A avaliação de exposição harmonizada e as análises controladas por contaminação, aliadas a coortes prospectivas enriquecidas para vulnerabilidade

desenvolvimental e imuno metabólica, serão essenciais para traduzir a plausibilidade mecanística em conhecimento de saúde pública acionável.

## 2. JUSTIFICATIVA E RELEVÂNCIA

A crescente disseminação de MNPs no ambiente desperta uma preocupação global, consolidando-os como contaminantes emergentes de elevada relevância biomédica devido à sua capacidade de translocação por barreiras biológicas e bioacumulação tecidual. Embora evidências recentes confirmem sua presença em órgãos vitais humanos, como a placenta e o cérebro (Nihart *et al.*, 2025), os mecanismos que conectam a exposição periférica às alterações neurocomportamentais ainda não foram completamente elucidados.

Nesse cenário, o eixo microbiota–intestino–cérebro surge como a interface mecanística mais plausível. A microbiota intestinal é o principal regulador da homeostase metabólica e imunológica; alterações em sua composição (disbiose) estão diretamente ligadas ao aumento da permeabilidade intestinal e à ativação de vias neuroinflamatórias (Cryan *et al.*, 2019). A instabilidade ecológica induzida por MNPs no lúmen intestinal, acompanhada pela alteração de metabólitos essenciais, é um fenômeno documentado em modelos murinos, onde a disbiose serve como gatilho para a inflamação sistêmica e neurotoxicidade (Lu *et al.*, 2018; Yan *et al.*, 2022).

A presente pesquisa justifica-se pela necessidade crítica de integrar, em um mesmo modelo experimental, análises que rastreiem essa cascata de eventos. Ao avaliar simultaneamente a ecologia microbiana, os marcadores inflamatórios e o fenótipo comportamental, este estudo busca preencher uma lacuna na literatura: a compreensão de como mudanças sutis em níveis taxonômicos da microbiota podem servir como gatilhos para a neuroinflamação e transtornos do espectro ansioso-depressivo.

Além do rigor científico, este trabalho apresenta uma urgência para a saúde pública. Os resultados podem subsidiar a avaliação de riscos toxicológicos e o desenvolvimento de políticas ambientais mais restritivas, contribuindo para o avanço do conhecimento na interface entre a neurociência, a microbiologia e a toxicologia ambiental.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo Geral**

Avaliar os efeitos da exposição oral aos nanoplásticos de poliestireno sobre o eixo microbiota-intestino-cérebro em camundongas jovens tardias e pré-púberes.

#### **3.2. Objetivos Específicos**

1. Caracterizar os efeitos neurocomportamentais da exposição a nanoplásticos;
2. Mensurar biomarcadores de estresse nitrosativo e defesa antioxidante no hipocampo;
3. Analisar a composição da microbiota intestinal;
4. Correlacionar os achados comportamentais, bioquímicos e microbiológicos, discutindo a integração desses sistemas via sinalização do eixo microbiota-intestino-cérebro frente ao insulto por nanoplásticos.

### **4. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **4.1. Considerações éticas**

O protocolo experimental foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (CEUA-NPDM, protocolo nº 66080523-0).

#### **4.2. Animais**

A linhagem de camundongos *Swiss Webster* foi selecionada por ser uma linhagem outbred (não consanguínea), o que confere aos animais uma maior variabilidade genética. Essa característica é fundamental para mimetizar a diversidade biológica encontrada em populações heterogêneas, como a humana, aumentando o valor translacional dos dados obtidos sobre a toxicidade dos nanoplasticos. Além disso, as fêmeas Swiss são reconhecidas pelo seu vigor reprodutivo, facilidade de manejo e robustez imunológica, sendo um modelo amplamente consolidado em estudos de toxicologia e neurobiologia (North et al., 2010; Chia et al., 2005).

Optou-se pelo uso de fêmeas devido à sua resposta imunológica mais robusta e à sensibilidade diferenciada da barreira hematoencefálica (BHE) frente a partículas exógenas. Essa diferenciação é mediada, em grande parte, pelas flutuações de estrógenos (como o 17 $\beta$ -estradiol), que exercem um papel bifásico na integridade da BHE: enquanto concentrações fisiológicas promovem a expressão de proteínas de junção oclusiva (como claudina-5 e ocludina), a exposição a agentes tóxicos ou disbioses intestinais pode tornar essa barreira mais suscetível em fêmeas do que em machos. Visto que a microbiota intestinal de fêmeas apresenta uma dinâmica de maturação e resiliência distinta, a exposição aos nanoplasticos neste modelo permite identificar alterações na sinalização intestino-cérebro mediadas por fatores neuroendócrinos. Assim, o estudo contribui para a caracterização da toxicidade crônica em um perfil biológico frequentemente excluído de protocolos experimentais (Clayton; Collins, 2014; Bake et al., 2014).

Foram utilizadas 32 camundongas *Swiss*, com massa corporal entre 13 e 20 g, oriundas do Biotério Setorial Prof. Eduardo Torres, vinculado à UFC. Para o tratamento, os animais foram distribuídos aleatoriamente em quatro grupos com oito animais cada: grupo controle pré-pubere, que recebeu doses de solução salina a 0,9%; grupo pré-pubere, tratado com doses de NP de 40 mg/kg; grupo controle jovem tardio; e grupo jovem tardio, também tratado com doses de NP de 40 mg/kg. Durante 21 dias, os animais receberam por via oral uma suspensão de microplásticos na concentração de 40 mg/kg de peso corporal.

A concentração de 40 mg/kg foi selecionada com base nos protocolos estabelecidos por Deng *et al.* (2017) e Lu *et al.* (2018), que identificaram esta dosagem como o limiar de eficácia para a indução de disbiose intestinal e acúmulo tecidual sistêmico em roedores. De acordo com esses autores, tal dosagem é capaz de desencadear alterações mensuráveis na composição da microbiota e no perfil metabólico hepático, sem

atingir níveis de toxicidade aguda que comprometam a sobrevivência imediata dos animais. Assim, a utilização de 40 mg/kg viabiliza a análise detalhada das disfunções na sinalização do eixo intestino-cérebro sob um regime de estresse químico persistente, mimetizando os danos observados em exposições subagudas a contaminantes poliméricos.

Os animais foram alojados em microisoladores (*Micro-Isolator® Systems, Lab Products*) com dimensões de 46 cm x 20 cm x 19 cm, totalizando 920 cm<sup>2</sup> de área útil. Cada microisolador abrigou no máximo cinco animais, utilizando-se maravalha irradiada como substrato. As condições ambientais foram rigorosamente controladas, mantendo-se a temperatura entre 22 °C e 25 °C e ciclo claro/escuro de 12 horas. Os animais receberam ração industrializada e água estéreis com livre acesso. Para promover o bem-estar, os microisoladores foram enriquecidos com materiais como rolos e cones de papelão, oferecendo estímulos ambientais que favoreceram comportamentos naturais e reduziram o estresse (Arraes et al., 2024). Os camundongos permaneceram nessas condições controladas durante todo o período do protocolo experimental.

### **4.3. Nanoplásticos**

O material utilizado correspondeu a um padrão analítico de nanoesferas de poliestireno monodispersas (Supelco, Sigma-Aldrich), com diâmetro nominal de 0,1 µm (100 nm), identificado pelo número de produto 90517 e lote BCCL7448. O armazenamento foi realizado sob temperatura controlada de 2 a 8 °C, conforme especificado pelo fabricante, com liberação de qualidade datada de 23 de abril de 2024.

A caracterização do material foi conduzida pela técnica de centrifugação em disco CPS (*CPS Disc Centrifuge DC 24000*), com calibração rastreável ao NIST (*National Institute of Standards and Technology*), utilizando-se os padrões SRM 1691 (269 ± 7 nm) e SRM 1690 (895 ± 8 nm). O diâmetro médio calibrado das partículas foi de 0,103 µm, com desvio padrão de 0,003 µm e coeficiente de variação (CV) de 4,8%. A concentração aproximada foi de  $3,43 \times 10^{13}$  partículas/mL, com densidade de 1,05 g/cm<sup>3</sup>, sendo o conteúdo sólido correspondente a 2% (p/p) e a composição das partículas constituída exclusivamente por poliestireno.

### **4.4. Delineamento experimental**

O estudo foi conduzido em duas coortes experimentais independentes de camundongos, submetidas ao mesmo protocolo de exposição oral repetida a nanoplasticos de poliestireno durante 21 dias. Em ambas as coortes, os animais foram distribuídos em grupo controle e grupo exposto aos nanoplasticos.

Para investigar se a idade atua como um fator determinante na toxicidade dos nanoplasticos, os animais foram divididos em dois grupos experimentais: pré-puberes (PND 19 dias) e jovens tardios (28 dias). A diferenciação entre animais pré-puberes (PND 19) e jovens tardios (PND 28) fundamenta-se nas distintas janelas de susceptibilidade toxicológica descritas por Sengupta (2013), onde a transição do desmame para a maturidade sexual envolve rearranjos neurovegetativos que podem modular a biodisponibilidade e os efeitos deletérios de xenobióticos, como os nanoplasticos (Grandjean & Landrigan, 2014).

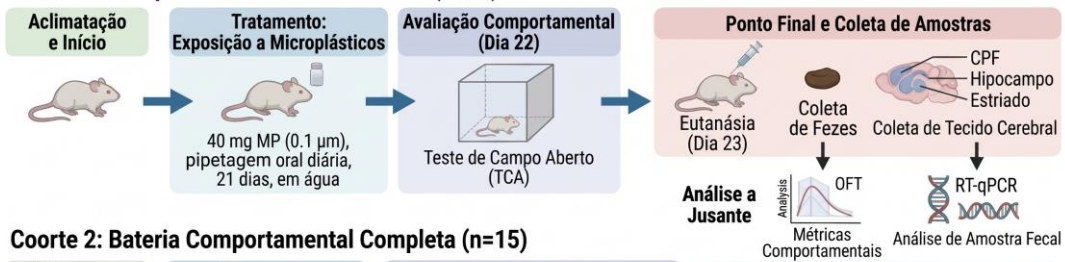
Na coorte 1, foram utilizadas 16 camundongas jovens tardias, alocadas em grupo controle (n = 8) e grupo exposto aos nanoplasticos (n = 8). Os animais do grupo exposto receberam diariamente, por via oral, nanopartículas de poliestireno (100 nm) diluídas em água, enquanto os animais do grupo controle receberam apenas o veículo, durante 21 dias consecutivos, finalizando com idade 49 dias. Ao final do protocolo, os animais foram submetidos ao teste de campo aberto para avaliação da atividade locomotora e do comportamento exploratório e, em seguida, foram eutanasiados para a coleta de amostras fecais e de tecidos cerebrais, incluindo o CPF, o HP e o corpo estriado.

Na coorte 2, utilizaram-se 15 camundongas pré-puberes, distribuídas em grupo controle (n = 8) e grupo exposto aos nanoplasticos (n = 7), as quais foram submetidas ao mesmo protocolo de exposição adotado na coorte 1. Após os 21 dias de administração, finalizando com idade 40 dias, os animais foram avaliados por meio de uma bateria de testes comportamentais composta por campo aberto, labirinto em Y e teste do nado forçado, visando investigar a atividade locomotora, o comportamento exploratório, a memória espacial e as respostas relacionadas ao estresse. Posteriormente, os animais também foram eutanasiados para a coleta de amostras fecais e de tecidos cerebrais.

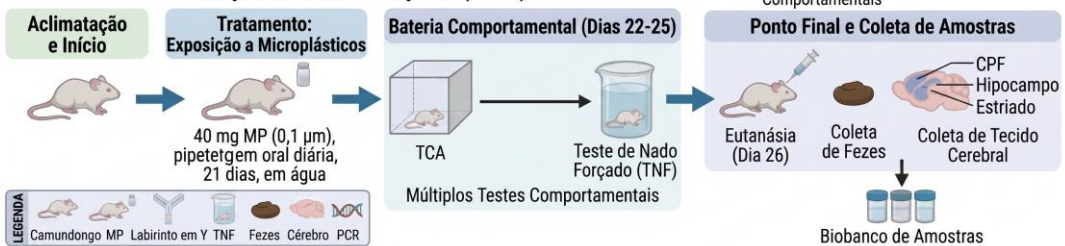
As amostras fecais coletadas em ambas as coortes foram destinadas à análise da microbiota intestinal por qPCR. O uso de duas coortes independentes permitiu a avaliação reprodutível dos efeitos da exposição aos nanoplasticos em conjuntos experimentais distintos, mantendo-se o protocolo de tratamento e as mesmas condições gerais de manejo.

## Delimitação Experimental: Impacto de Microplásticos em Camundongos

### Coorte 1: Comportamento e Análise Fecal (n=16)



### Coorte 2: Bateria Comportamental Completa (n=15)



**Figura 4 – Delimitação Experimental para Avaliação do Impacto de Nanoplásticos em Camundongos.** Representação esquemática do fluxo do estudo utilizando camundongos. Os animais foram divididos em duas coortes independentes. A Coorte 1 (n = 16) foi destinada à avaliação comportamental no Teste de Campo Aberto (TCA) no Dia 22, seguida de eutanásia no Dia 23 para coleta de fezes e de regiões cerebrais específicas: CPF, HP e CE. As análises a jusante incluíram métricas comportamentais automatizadas e RT-qPCR da microbiota fecal. A Coorte 2 (n = 15) foi submetida a uma bateria comportamental expandida (Dias 22-25) incluindo CA e Teste de NF, seguida de eutanásia no Dia 26 para as mesmas coletas de tecidos, destinados a um biobanco de amostras. Em ambas as coortes, o período de tratamento consistiu na exposição oral diária a 40 mg de Nanoplásticos de poliestireno (0,1 µm), via pipetagem em água, durante 21 dias. Uma legenda na porção inferior detalha os ícones utilizados para representar as etapas e ferramentas do estudo. **Fonte:** Gerada pelo modelo de inteligência artificial Gemini (Google), 2026.

### 4.5. Testes comportamentais

Todos os testes comportamentais foram realizados em condições de luz vermelha de baixa intensidade, com temperatura e umidade controladas, sendo os aparelhos limpos com etanol 70% entre as sessões de cada animal. As atividades foram captadas em vídeo através de uma câmera USB e analisadas em tempo real, ou posteriormente, com o software *ANY-maze* (versão 7.60). Todas as avaliações ocorreram após a conclusão do período de 21 dias de administração de NPs, conforme o delineamento experimental estabelecido.

Os testes foram conduzidos em duas rodadas experimentais independentes (coortes), realizadas em momentos distintos. Na primeira rodada (Coorte 1), os animais foram submetidos exclusivamente ao teste de campo aberto, com o objetivo de avaliar a

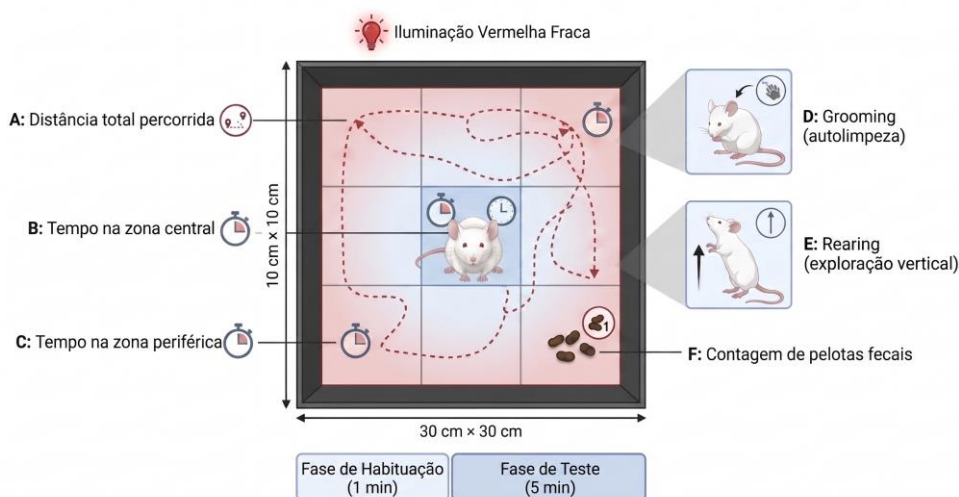
atividade locomotora e o comportamento exploratório. Na segunda rodada (Coorte 2), os animais foram submetidos a uma bateria comportamental composta pelo teste de campo aberto, seguido do teste do nado forçado, respeitando-se a ordem das avaliações e os intervalos necessários para minimizar possíveis efeitos de estresse entre os testes.

#### 4.5.1. Avaliação da atividade locomotora e comportamento ansioso - Teste do Campo Aberto

O teste do Campo Aberto (CA) baseou-se na exposição do animal a um ambiente fechado e desconhecido, visando estimular comportamentos naturais, como exploração, busca por rotas de fuga e respostas à aversão a áreas abertas (Archer, 1973). O experimento foi realizado em uma arena de acrílico preto (30 x 30 cm, com paredes de 15 cm) dividida em nove quadrantes iguais.

Previamente ao teste, os animais foram adaptados ao ambiente por 30 minutos em uma sala sob luz vermelha. Após serem colocados no centro da arena, os animais exploraram livremente o aparato por 1 minuto (fase de habituação), seguido de 5 minutos de teste propriamente dito (Archer, 1973).

Os parâmetros avaliados incluíram a distância total percorrida, o tempo de permanência nas zonas central e periférica, o número de autolimpeza (*grooming*) e a exploração vertical (*rearing*), além da contagem do número de pelotas fecais. Este último parâmetro refletiu a ativação do eixo hipotálamo-hipófise-adrenal (HHA), sendo utilizado como um índice complementar em avaliações de ansiedade, marcador de estresse emocional e ativação autonômica em modelos animais (Kalueff; Tuohimaa, 2004; Rodgers; Dalvi, 1997).

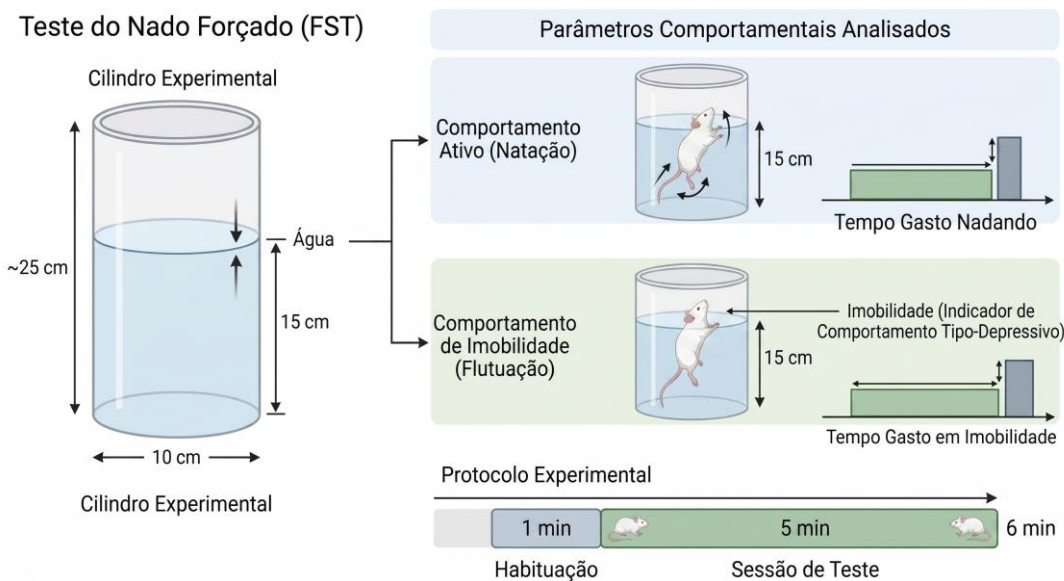


**Figura 5 – Representação Esquemática do Teste de Campo Aberto (CA).** Ilustração dos parâmetros comportamentais avaliados na arena de Campo Aberto com dimensões de 30 cm x 30cm. O teste foi conduzido sob iluminação vermelha fraca e consistiu em uma fase de habituação (1 min) seguida pela fase de teste (5 min). Os parâmetros quantificados incluíram: **(A)** Distância total percorrida (indicador de atividade locomotora geral); **(B)** Tempo despendido na zona central (indicador de ansiedade/exploração); **(C)** Tempo despendido na zona periférica (indicador de tigmotaxia); **(D)** Frequência de *grooming* (autolimpeza); **(E)** Frequência de *rearing* (exploração vertical); e **(F)** Contagem de pelotas fecais (indicador de reatividade emocional). **Fonte:** Gerada pelo modelo de inteligência artificial Gemini (Google), 2026.

#### **4.5.2. Avaliação do comportamento depressivo - Teste do Nado Forçado**

O teste do Nado Forçado (NF) foi utilizado para avaliar comportamentos associados ao estresse e à condição depressivo-símile, fundamentando-se no princípio de que o tempo de imobilidade pode indicar um estado de "desesperança comportamental" (Porsolt et al., 1977). Na configuração experimental, o animal foi colocado em um cilindro de acrílico com 25 cm de altura e 10 cm de diâmetro, preenchido com água em temperatura ambiente até uma altura de aproximadamente 15 cm; essa profundidade impediu que o roedor tocasse o fundo do recipiente ou escapasse, forçando-o a nadar para se manter à tona.

O procedimento teve duração total de 6 minutos, compostos por 1 minuto de habituação seguido de 5 minutos de teste propriamente dito. Durante a avaliação, monitorou-se o tempo em que o animal permaneceu em estado de imobilidade, caracterizado pelo comportamento passivo de flutuar sem realizar esforços significativos, mantendo apenas a cabeça acima da superfície da água. Após o teste, o animal foi retirado, cuidadosamente seco com uma toalha e colocado em uma gaiola para recuperação térmica. A água do cilindro foi trocada entre cada sessão para evitar a interferência de odores ou dejetos de outros animais.



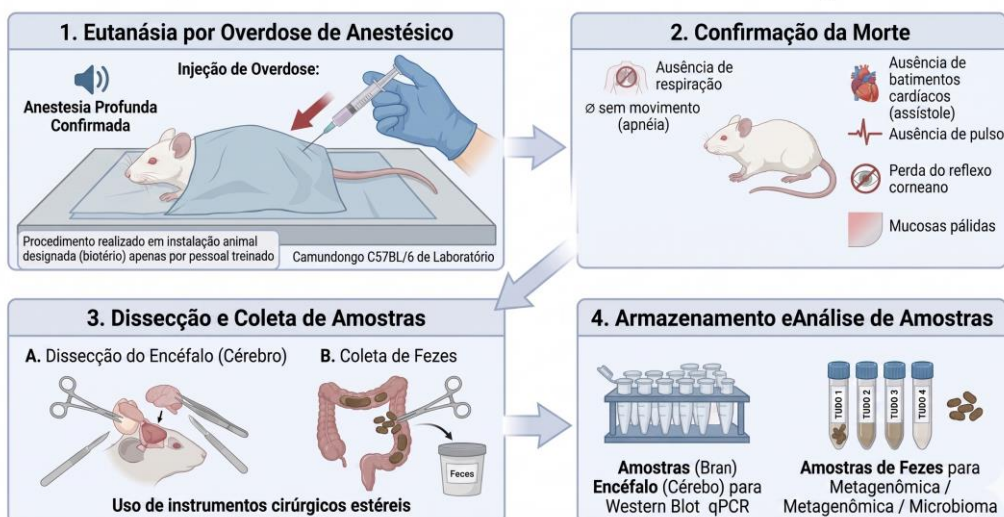
**Figura 6 - Representação Esquemática do Teste de Nado Forçado (NF).** Ilustração do aparato e protocolo utilizados para avaliar o comportamento do tipo depressivo. O teste foi realizado em um cilindro de vidro (25 cm de altura x 10 cm de diâmetro) contendo 15 cm de água. O esquema detalha: **(1)** O cilindro experimental com as dimensões e nível de água padronizados; **(2)** Os parâmetros comportamentais analisados: comportamento ativo (natação) e comportamento de imobilidade (flutuação), este último utilizado como indicador de desespero comportamental; **(3)** O protocolo experimental com duração total de 6 minutos, consistindo em 1 minuto de habituação e 5 minutos de sessão de teste para quantificação do tempo gasto em cada comportamento. **Fonte:** Gerada pelo modelo de inteligência artificial Gemini (Google), 2026.

#### 4.6. Método de Indução de Morte (Eutanásia)

O procedimento foi realizado por meio de overdose dos anestésicos cetamina (90 mg/kg) e xilazina (10 mg/kg), administrados por via intraperitoneal, de acordo com as diretrizes éticas e regulamentações vigentes. Em seguida, o encéfalo e o intestino delgado — com a devida coleta das fezes — foram cuidadosamente dissecados no biotério para as análises experimentais subsequentes.

Todos os procedimentos foram conduzidos por profissionais devidamente treinados e certificados, o que garantiu a execução precisa e ética de cada etapa. A morte dos animais foi confirmada pela observação de apneia (ausência de movimentos respiratórios), assistolia (ausência de batimentos cardíacos), ausência de pulsação, palidez das mucosas e perda do reflexo corneal, além de outros reflexos apropriados para a espécie (Close *et al.*, 1996; 1997).

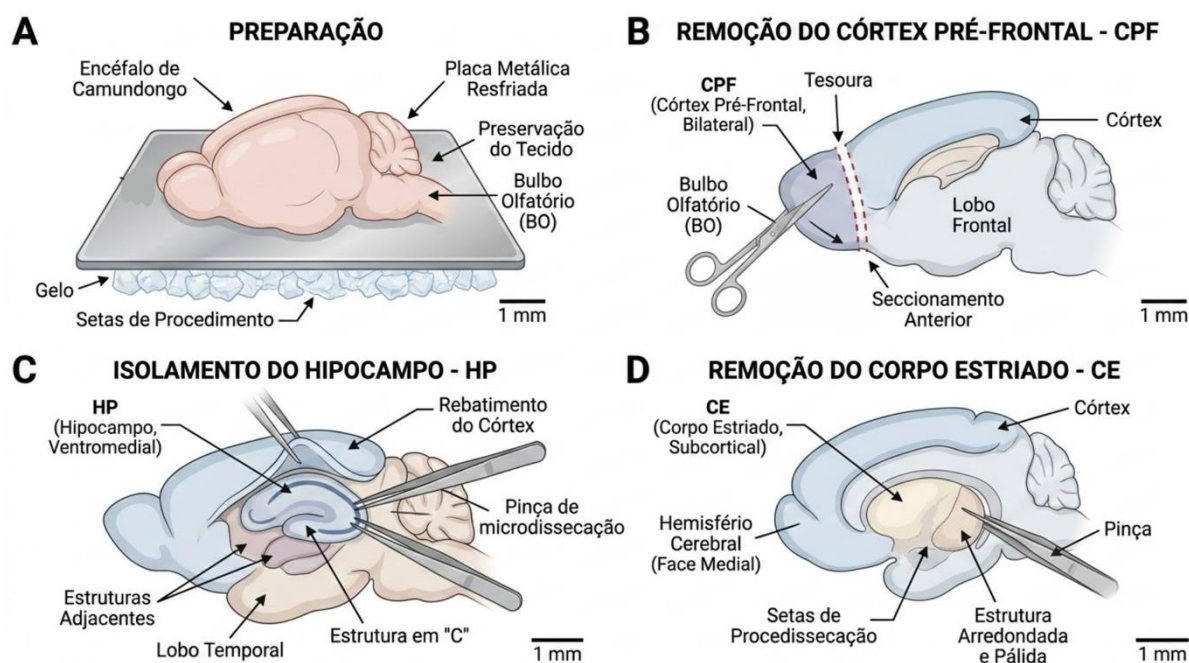
### Procedimento Experimental Padronizado: Eutanásia e Coleta de Fezes em Camundongos de Laboratório



**Figura 7 – Fluxo Operacional de Eutanásia e Coleta de Material Biológico.** Representação detalhada das etapas de finalização experimental. O esquema descreve: **(1)** O método de eutanásia por meio de overdose anestésica em camundongos, assegurando o bem-estar animal; **(2)** Os critérios clínicos utilizados para a confirmação da morte (apneia, assistolia e perda do reflexo corneano); **(3)** O procedimento de microdissecção do encéfalo e isolamento do trato gastrointestinal para coleta de fezes utilizando instrumentos cirúrgicos estéreis; e **(4)** O protocolo de armazenamento e processamento das amostras destinadas a análises de biologia molecular e estudos de microbioma. **Fonte:** Gerada pelo modelo de inteligência artificial Gemini (Google), 2026.

#### 4.7. Dissecção das Áreas Cerebrais

Os encéfalos foram rapidamente removidos e posicionados sobre uma placa resfriada com gelo para preservação. Para a retirada do CPF— área selecionada por sua função na modulação emocional e funções executivas — a porção anterior dos lobos frontais foi removida bilateralmente (Machado, 1985). O córtex foi rebatido lateralmente para expor o HP, coletado por ser o centro crítico para a memória espacial e vulnerável a desequilíbrios na microbiota. O HP foi identificado como uma estrutura em forma de "C" e isolado conforme Meyerhoff *et al.* (2021). Por fim, removeu-se o corpo estriado (CE), região subcortical envolvida no controle motor e processamento de recompensa, visível na face medial do hemisfério cerebral (Aboghazleh *et al.*, 2024).



**Figura 8 – Protocolo de Microdissecação das Áreas Cerebrais de Interesse.** Representação esquemática do procedimento de isolamento tecidual bilateral. (A) Preparação: O encéfalo foi posicionado sobre uma placa metálica resfriada em gelo para preservação da integridade tecidual. (B) Remoção do Córtex Pré-Frontal (CPF): Realizou-se um seccionamento anterior para separar o CPF bilateral do restante do lobo frontal. (C) Isolamento do Hipocampo (HP): Após o rebatimento do córtex, o HP foi identificado por sua estrutura característica em forma de "C" e isolado das estruturas adjacentes com pinças de microdissecação. (D) Remoção do Corpo Estriado (CE): Identificação e coleta da estrutura subcortical arredondada na face medial do hemisfério cerebral. Barras de escala: 1 mm. **Fonte:** Gerada pelo modelo de inteligência artificial Gemini (Google), 2026.

## 4.8. Avaliação qPCR

### 4.8.1. Coleta da Amostra Fecal

Após a eutanásia, o intestino dos animais foi removido e o conteúdo fecal foi coletado diretamente de seu interior. Posteriormente, as fezes foram diluídas (aproximadamente 2 ml de fezes) em solução salina (0,85% NaCl) e centrifugadas a 12.000 rpm por 10 minutos. Em seguida, as amostras foram aliqüotadas em tubos *Eppendorf*, devidamente rotulados e acondicionados em temperatura de -80 °C.

### 4.8.2. Extração do DNA

O procedimento consistiu na suspensão de uma alíquota da amostra de fezes em solução específica. A extração do DNA bacteriano foi realizada utilizando-se o *kit QIAamp DNA Stool Mini* (QIAGEN®), seguindo as recomendações do fabricante

(Brandt *et al.*, 2012). A extração foi finalizada com etapas de purificação do DNA liberado na solução.

#### 4.8.3. Análise por PCR Tempo Real

As etapas para a técnica da Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (qPCR) seguiram as recomendações do fabricante para o uso do kit *KiCqStart® SYBR® Green qPCR ReadyMix™* (Sigma), utilizado para a amplificação e quantificação de ácidos nucleicos. A mistura continha tampão de reação 2X com concentrações otimizadas de *KiCqStart Taq DNA Polimerase*, MgCl<sub>2</sub>, dNTPs (dATP, dCTP, dGTP, dTTP) e o corante *SYBR Green*.

As condições para a reação foram: 10 minutos a 95 °C para a desnaturação inicial, seguidos de 40 ciclos de 10 segundos a 95 °C para anelamento, 10 segundos a 62 °C para a extensão da nova fita de DNA e 10 segundos a 72 °C para a etapa final de extensão (Lee *et al.*, 2006). Para a realização da PCR, foram utilizadas as sequências de *primers* específicos para o RNA ribossomal 16S de cada organismo-alvo, conforme apresentado na Tabela 01. Após a amplificação, o produto foi armazenado a -20 °C.

Tabela: Primers utilizados para análise de microbiota

<b>Organismo alvo</b>	<b>Primes</b>	<b>Sequência 5'-3'</b>
<i>All bacteria</i>	gen_341F	5'- CCT ACG GGD GGC AGC AG -3'
	gen_907R	5'- CCG TCA ATT CMT TTG AGT TT -3'
<i>Firmicutes</i>	Firm_350F	5'- GGC AGC AGT RGG GAA TCT TC-3'
	Firm_833R	5'- ACA CYT AGY ACT CAT CGT TT -3'
<i>Bacteroidetes</i>	CFB_555F	5'- CCGGAWTYATTGGGT TTAAAGG- 3'
	CFB_958R	5'- GGT AAG GTT CCT CGC GTA -3'

#### 4.9. Análise do HP

##### 4.9.1. Determinação de Glutathiona Reduzida (GSH)

Os níveis de GSH foram quantificados com o objetivo de avaliar as defesas endógenas contra o estresse oxidativo. O método baseou-se na reação do reagente de Ellman (DTNB) com grupos tiol livres. A área do HP foi diluída em tampão de EDTA 0,02 M (10% w/v) e adicionada a uma solução de ácido tricloroacético a 50%. Após centrifugação (3000 rpm por 15 min), o sobrenadante do homogeneizado foi recolhido para a determinação dos níveis de GSH, conforme o protocolo de Sedlak e Lindsay (1968). Resumidamente, as amostras foram misturadas com tampão Tris-HCl 0,4 M (pH

8,9) e DTNB 0,01 M. Os níveis de GSH foram determinados por espectrofotometria a 412 nm, calculados com base em uma curva padrão de glutatona e expressos como ng de GSH/g de tecido úmido.

#### **4.9.2. Determinação dos níveis de nitrito**

Esta determinação baseou-se no método descrito por Green *et al.* (1982). O ensaio foi baseado na reação de Griess para determinar a produção de nitrito, uma forma indireta de se avaliar os níveis de NO. Resumidamente, foram preparados os homogenatos do HP centrifugados (800xg, 10 min) e coletado 100µl dos sobrenadantes e em seguida incubados com 100µl do reagente de Griess, que consistia em partes iguais (1: 1: 1: 1) de 1% de sulfanilamida dissolvida em 1% de H<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>, 0,1% de dicloridrato de N- (1-naftil)-tíenodiamina e água destilada à temperatura ambiente por 10 min. A absorbância foi medida a 560nm num leitor de microplacas. Nitrito conteúdo foi determinado a partir de uma curva padrão de nitrito gerada usando NaNO<sub>2</sub> (variando de 0,75 a 100mM) como padrão e foi expresso como mM/mg de tecido.

#### **4.10. Análise Estatística**

Os dados foram analisados no *software GraphPad Prism*. Para as variáveis avaliadas em função de dois fatores independentes, utilizou-se a análise de variância de duas vias (two-way ANOVA), seguida do teste de comparações múltiplas de Tukey como pós-teste, quando apropriado. Na análise, o fator ciclo de vida foi considerado nas colunas, com dois níveis (pré-pubere e jovem tardio), enquanto o fator tratamento foi considerado nas linhas, também com dois níveis (controle e nanoplásticos). Foram avaliados os efeitos principais de cada fator, bem como a interação entre eles. Em todas as análises, adotou-se o nível de significância de 5% ( $p < 0,05$ ).

Para o teste de campo aberto, os parâmetros comportamentais analisados incluíram a distância percorrida, o número de *rearings* totais, o número de *rearings* periféricos, o número de pellets fecais, o tempo de permanência na zona central, o tempo de permanência na zona periférica e o comportamento de *grooming*. Cada variável foi analisada individualmente por meio do teste t de Welch, a fim de identificar possíveis diferenças entre os grupos experimentais após os 21 dias de exposição aos NPs.

Na análise da microbiota intestinal, a quantificação dos principais grupos bacterianos foi realizada por qPCR. Foram avaliadas as abundâncias relativas de

*Firmicutes* e *Bacteroidetes*, além da quantificação do 16S rRNA universal como estimativa da carga bacteriana total. Adicionalmente, calculou-se a razão *Firmicutes/Bacteroidetes* como indicador da composição relativa da microbiota. As comparações entre os grupos foram realizadas utilizando-se o teste t de Welch, aplicando-se uma abordagem baseada em médias geométricas para os dados de abundância relativa.

## 5. RESULTADOS

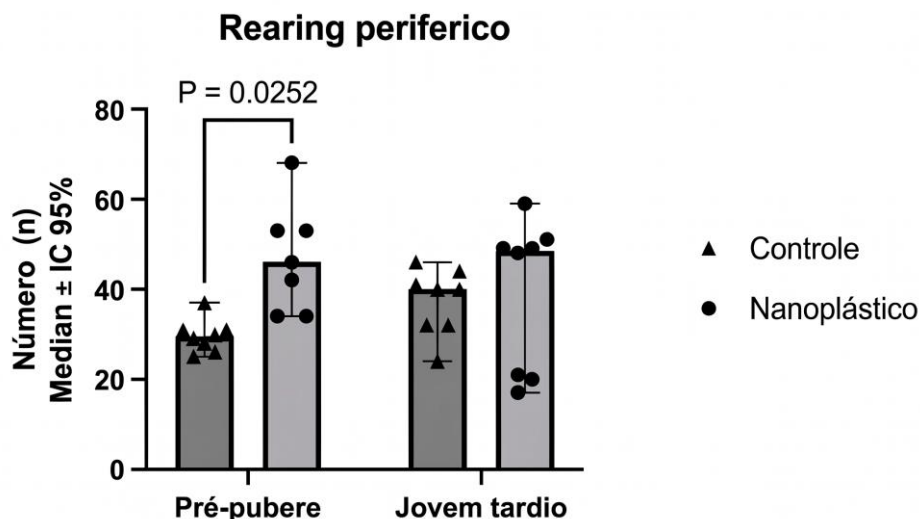
### 5.1. Testes comportamentais

#### 5.1.1. Campo aberto

A análise comportamental no teste de campo aberto demonstrou que os efeitos da exposição não foram uniformes entre as faixas etárias avaliadas. De modo geral, a maior parte dos parâmetros analisados não apresentou diferenças entre os grupos, sugerindo ausência de efeito locomotor ou emocional amplo nas condições experimentais empregadas.

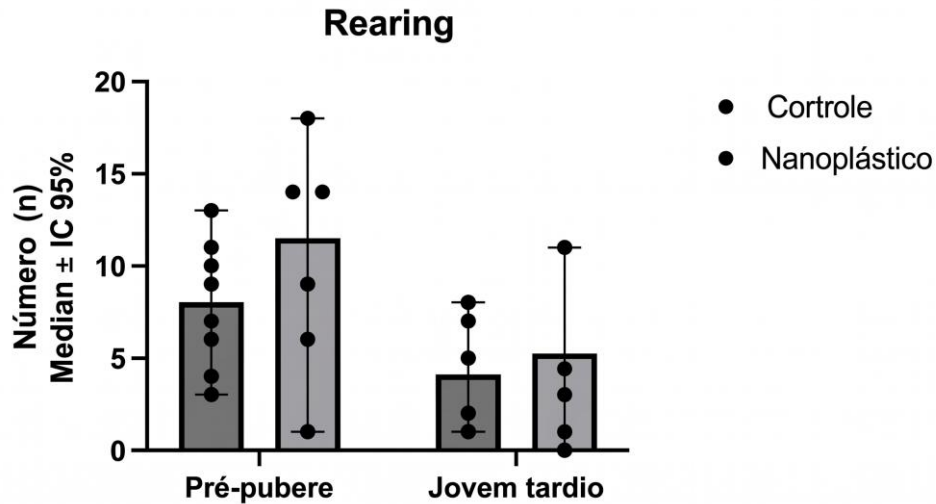
Quando considerados os animais pré-puberes, observou-se alteração significativa apenas no parâmetro rearing periférico (Figura 9), indicando modulação específica do comportamento exploratório vertical na periferia da arena. A ANOVA de duas vias não revelou interação significativa entre idade e tratamento para o número de rearings periféricos ( $F(1,27) = 3,81, p = 0,0614$ ), embora tenha sido observada uma tendência à interação. Também não houve efeito principal de idade ( $F(1,27) = 0,0003, p = 0,9859$ ). Em contraste, foi identificado efeito principal significativo do tratamento ( $F(1,27) = 5,86, p = 0,0225$ ), com maiores valores no grupo nanocápsula em comparação ao grupo controle. As médias ajustadas estimadas foram de 33,50 para o grupo controle e 43,20 para o grupo nanocápsula, com diferença entre médias de 9,696 (IC95%: 1,475 a 17,92).

A análise post hoc de Tukey mostrou que animais pré-puberes tratados com nanocápsula apresentaram aumento significativo do rearing periférico em comparação aos pré-puberes controles (diferença entre médias ajustadas = 17,52; IC95%: 1,746 a 33,29;  $p$  ajustado = 0,0252). Nenhuma das demais comparações entre grupos foi significativa ( $p$  ajustado > 0,05).

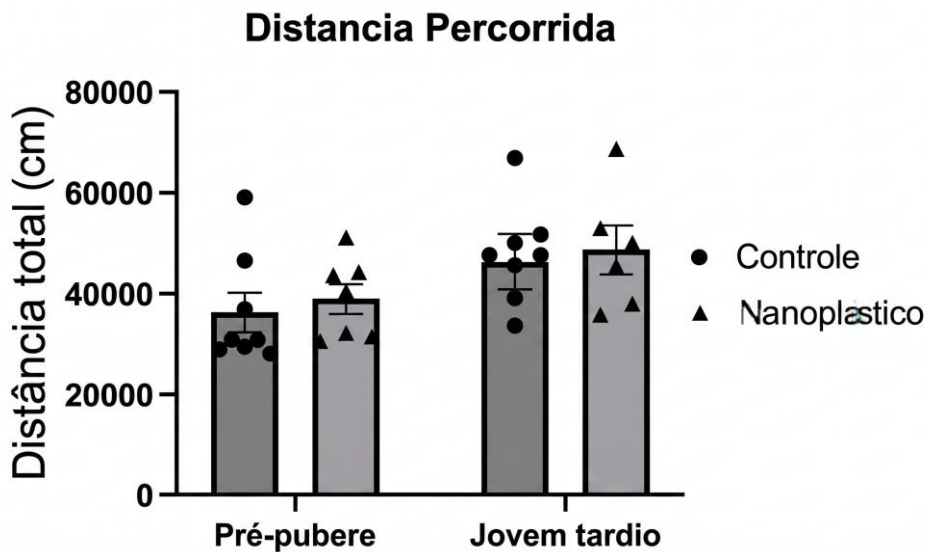


**Figura 9 – Frequência de rearing periférico no teste de campo aberto em camundongos pré-puberes e jovens tardios expostos a nanoplásticos.** Grupo controle: veículo; grupo nanoplástico: nanocápsulas. Os dados são expressos como mediana  $\pm$  IC95%. As comparações entre os grupos foram realizadas pelo teste t de Welch. Observou-se aumento significativo do rearing periférico no grupo exposto a nanoplásticos em relação ao grupo controle ( $p < 0,05$ ).

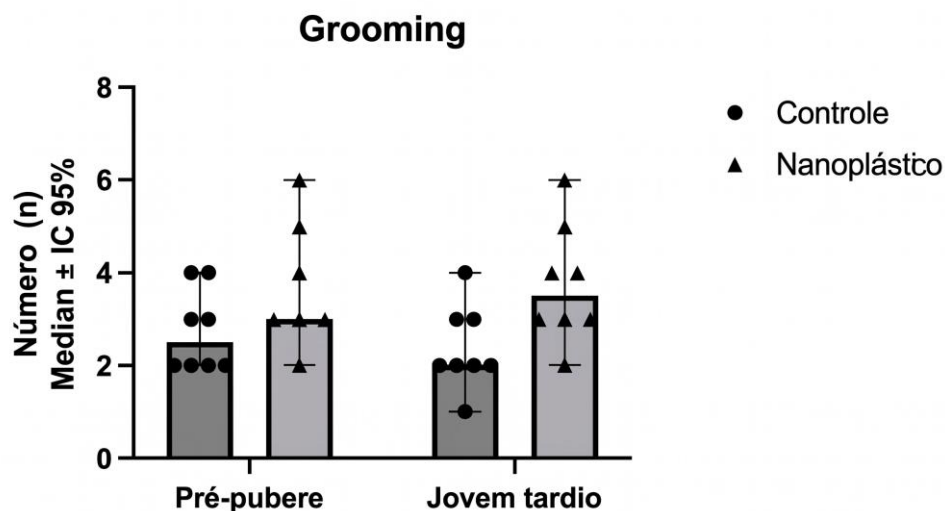
Esse achado sugere que, nessa faixa etária, a exposição foi capaz de interferir de forma seletiva na maneira como os animais exploram o ambiente novo. Em contrapartida, os demais parâmetros avaliados nesse grupo, incluindo rearing total (Figura 10), distância total percorrida (Figura 11), grooming (Figura 12), número de pellets fecais (Figura 13), tempo de permanência na zona central (Figura 14) e tempo de permanência na zona periférica (Figura 15), não apresentaram diferenças significativas entre os grupos experimentais.



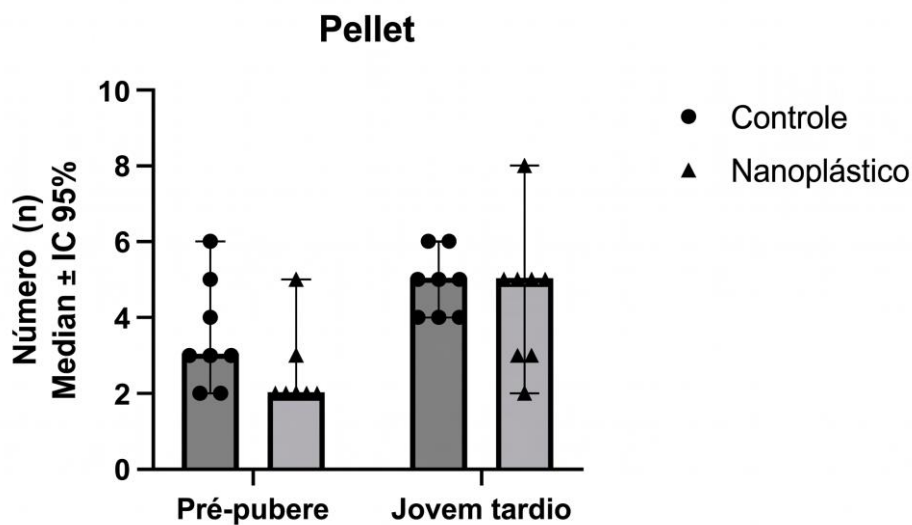
**Figura 11 – Número total de rearings no teste de campo aberto em camundongos pré-puberes e jovens tardios expostos a nanoplásticos.** Grupo controle: veículo; grupo nanoplástico. Os dados são expressos como mediana  $\pm$  IC95%. As comparações entre os grupos foram realizadas pelo teste t de Welch. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ ).



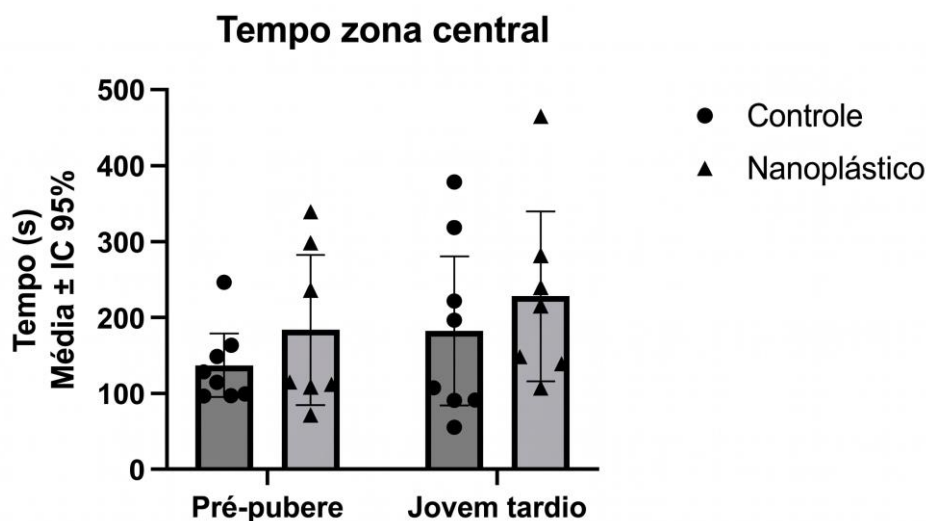
**Figura 12 – Distância total percorrida no teste de campo aberto em camundongos pré-puberes e jovens tardios expostos a nanoplásticos.** Grupo controle: veículo; grupo nanoplástico. Os dados são expressos como média  $\pm$  IC95%. As comparações entre os grupos foram realizadas pelo teste t de Welch. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ ).



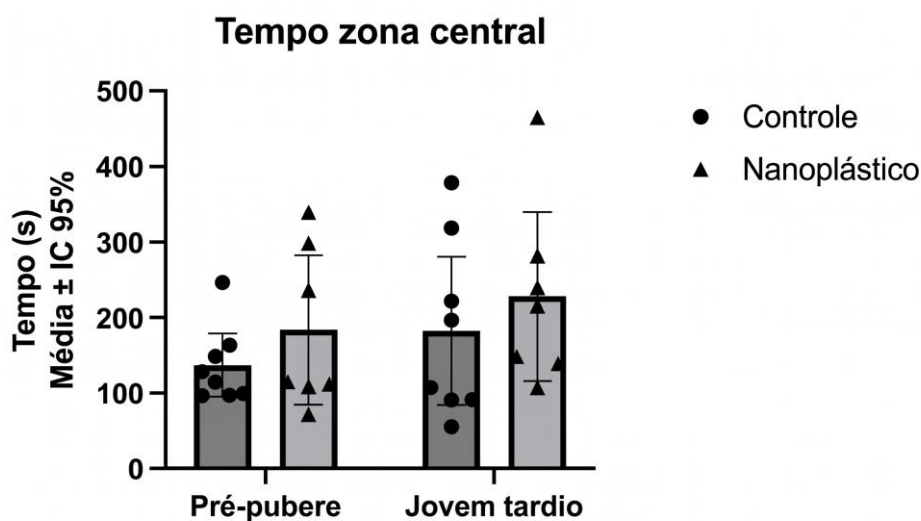
**Figura 13 – Comportamento de grooming no teste de campo aberto em camundongos pré-puberes e jovens tardios expostos a nanoplásticos.** Grupo controle: veículo; grupo nanoplástico. Os dados são expressos como mediana  $\pm$  IC95%. As comparações entre os grupos foram realizadas pelo teste t de Welch. Observou-se aumento significativo no comportamento de grooming no grupo exposto a nanoplásticos em comparação ao grupo controle ( $p < 0,05$ ).



**Figura 14 – Número de pellets fecais no teste de campo aberto em camundongos pré-puberes e jovens tardios expostos a nanoplásticos.** Grupo controle: veículo; grupo nanoplástico. Os dados são expressos como mediana  $\pm$  IC95%. As comparações entre os grupos foram realizadas pelo teste t de Welch. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ ).



**Figura 15 – Tempo de permanência na zona central no teste de campo aberto em camundongos pré-puberes e jovens tardios expostos a nanoplásticos.** Grupo controle: veículo; grupo nanoplástico. Os dados são expressos como média  $\pm$  IC95%. As comparações entre os grupos foram realizadas pelo teste t de Welch. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ ).



**Figura 16 – Tempo de permanência na zona periférica no teste de campo aberto em camundongos pré-puberes e jovens tardios expostos a nanoplásticos.** Grupo controle: veículo; grupo nanoplástico. Os dados são expressos como média  $\pm$  IC95%. As comparações entre os grupos foram realizadas pelo teste t de Welch. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ ).

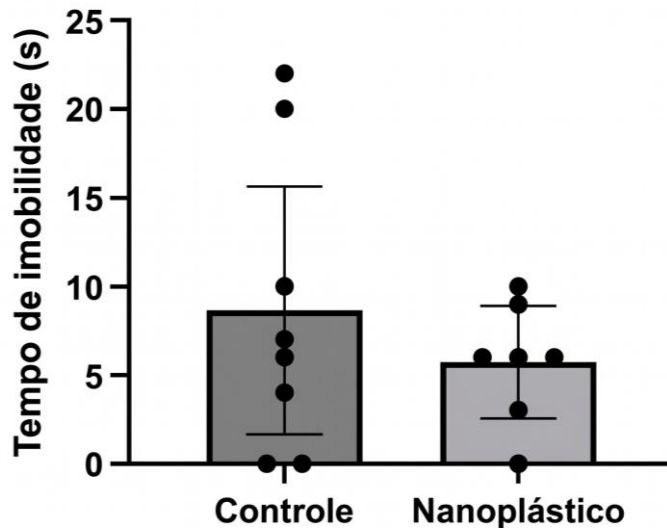
Nos animais de maior idade, por sua vez, não foram observadas alterações detectáveis em nenhum dos desfechos comportamentais analisados.

A ausência de diferenças na distância total percorrida em todas as faixas etárias avaliadas é particularmente relevante, pois indica preservação da atividade locomotora global. Esse resultado reduz a possibilidade de que a alteração observada no rearing periférico dos pré-puberes represente simples consequência de hipoatividade ou hiperatividade inespecífica. Da mesma forma, a manutenção do tempo de permanência nas zonas central e periférica sugere que a exposição não foi suficiente para induzir um padrão clássico de comportamento tipo ansioso no campo aberto. Em conjunto, também não foram identificadas alterações consistentes em grooming ou defecação, indicando ausência de modulação evidente dos componentes autonômicos e emocionais complementares avaliados nesse teste.

Dessa forma, os resultados indicam que a exposição promoveu efeito comportamental discreto, seletivo e dependente da idade, restrito aos animais pré-puberes. O conjunto dos dados não sustenta a presença de comprometimento locomotor generalizado nem de alteração emocional robusta, mas aponta para uma modulação sutil do comportamento exploratório durante uma fase do desenvolvimento potencialmente mais vulnerável à ação do agente testado.

### **5.1.2. Nado Forçado**

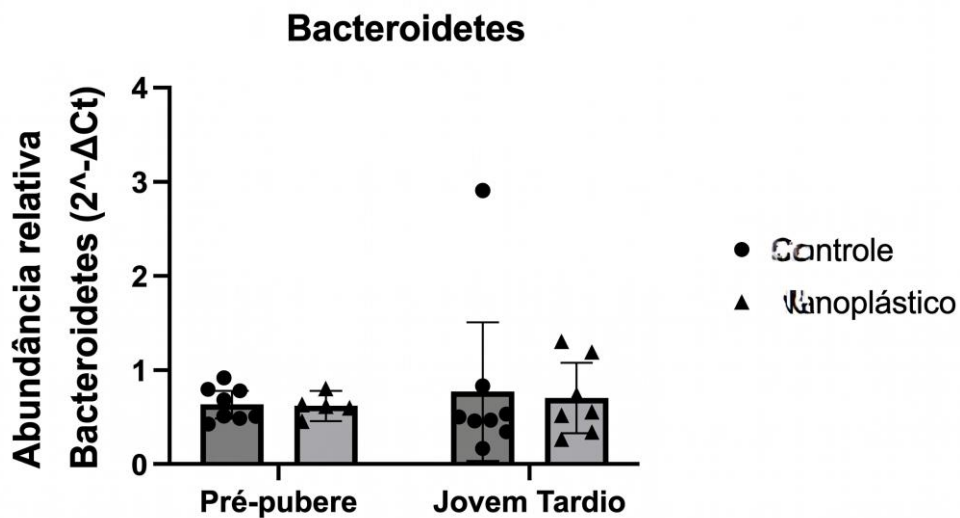
Os resultados obtidos no teste de nado forçado para o grupo pré-púbere revelaram que a exposição aos nanoplásticos não alterou significativamente o tempo de imobilidade dos animais em comparação ao grupo controle ( $p > 0,05$ ; teste t de Student). Como observado na Figura 16, ambos os grupos apresentaram latências e tempos de imobilidade semelhantes, indicando a ausência de comportamento sugestivo de desespero comportamental nesta etapa do desenvolvimento sob o protocolo experimental utilizado.



**Figura 17 - Tempo de imobilidade no nado forçado de camundongos pré-púberes e jovens tardios expostos a nanoplásticos.** O tempo de Imobilidade foi quantificado em camundongos expostos a nanoplásticos e de seus respectivos controles, em duas janelas do desenvolvimento: fase pré-púbere e fase jovem tardia. Os dados são apresentados por grupo experimental. Os dados foram analisados por Teste T de Student.

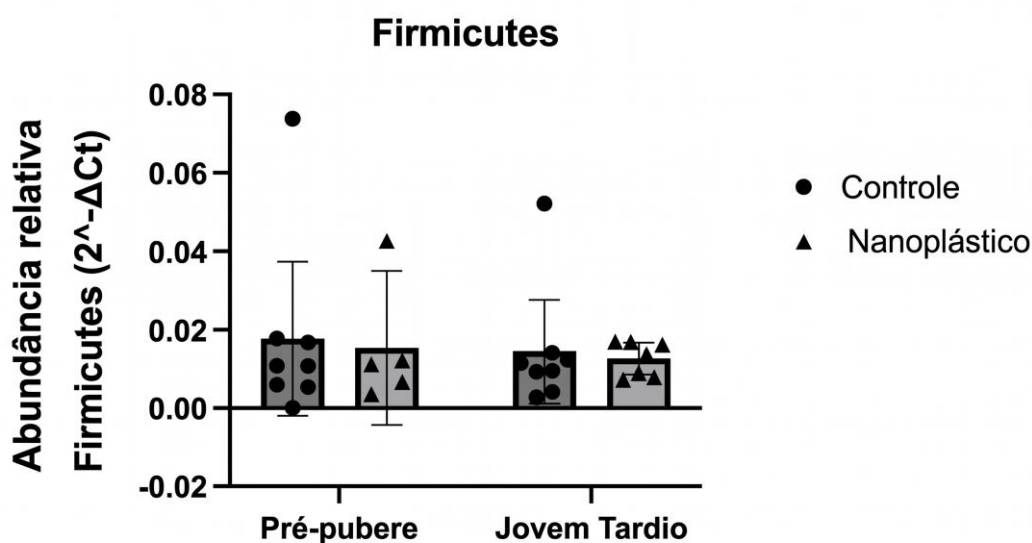
## 5.2 Análise da microbiota intestinal

A análise da abundância relativa de *Bacteroidetes* mostrou valores globalmente semelhantes entre os grupos controle e nanocápsula, tanto na fase pré-pubere quanto na fase jovem tardia. Observou-se maior dispersão dos dados no grupo controle jovem tardio, em razão da presença de um valor elevado, mas sem um padrão visual consistente de aumento ou redução associado ao tratamento.



**Figura 18 - Abundância relativa de *Bacteroidetes* em amostras fecais de camundongos pré-puberes e jovens tardios expostos a nanoplásticos.** Grupo controle: veículo; grupo nanoplástico. Os dados são apresentados como abundância relativa ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ). As comparações entre os grupos foram realizadas pelo teste t de Welch. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ ).

De modo semelhante, a abundância relativa de *Firmicutes* também apresentou perfil comparável entre os grupos experimentais nas duas faixas etárias analisadas. Embora tenha sido observada variabilidade intragrupo, sobretudo no grupo controle pré-pubere, não se evidenciou, do ponto de vista descritivo, um efeito robusto do tratamento sobre esse filo quando analisado isoladamente.

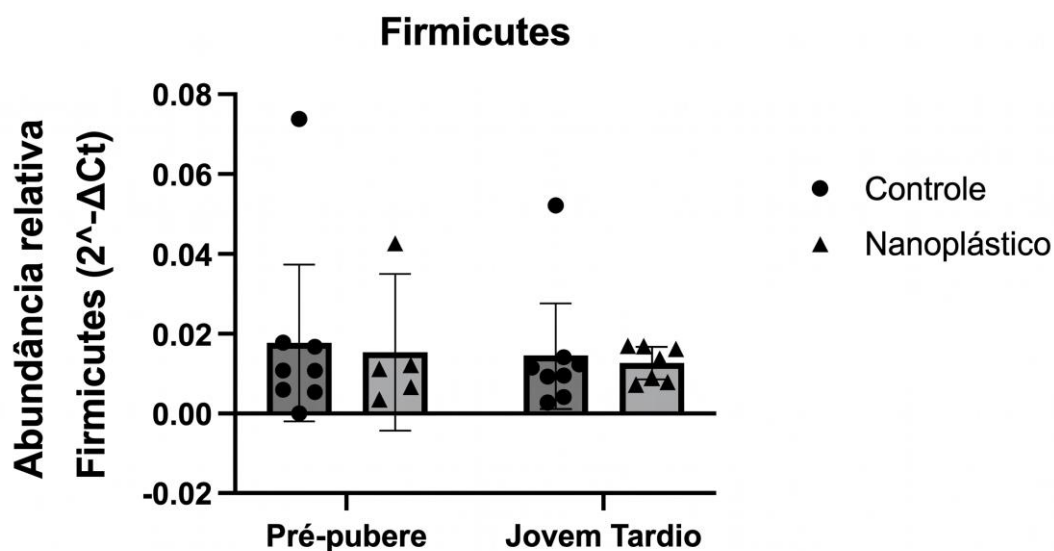


**Figura 19 - Abundância relativa de *Firmicutes* em amostras fecais de camundongos pré-puberes e jovens tardios expostos a nanoplásticos.** Grupo controle: veículo; grupo nanoplástico. Os dados são apresentados como abundância relativa ( $2^{-\Delta\Delta Ct}$ ). As comparações entre os grupos foram realizadas pelo teste t de Welch. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos ( $p > 0,05$ ).

Em conjunto, os dados sugerem que o tratamento com nanocápsula não promoveu alterações aparentes na abundância relativa isolada de *Firmicutes* ou *Bacteroidetes*, tanto em animais pré-puberes quanto jovens tardios, indicando que eventuais efeitos do tratamento podem estar mais relacionados ao equilíbrio relativo entre os filamentos do que à modulação isolada de cada grupo bacteriano.

A análise por ANOVA de duas vias não revelou interação significativa entre idade e tratamento para a razão avaliada (Figura 20) ( $F(1,17) = 0,08$ ,  $p = 0,7806$ ), indicando que o efeito do tratamento não dependeu da faixa etária. Também não foi observado efeito principal de idade ( $F(1,17) = 0,41$ ,  $p = 0,5292$ ). Por outro lado, houve efeito principal

significativo do tratamento ( $F(1,17) = 8,38, p = 0,0101$ ), com menores valores no grupo nanocápsula em comparação ao grupo controle. As médias ajustadas estimadas foram de 56,19 para o grupo controle e 33,07 para o grupo nanocápsula, com diferença entre médias de 23,12 (IC95%: 6,27 a 39,97).



**Figura 20 - Razão *Firmicutes/Bacteroidetes* em amostras fecais de camundongos pré-púberes e jovens tardios expostos a nanoplásticos.** Grupo controle: veículo; grupo nanoplástico. Os dados são apresentados como razão relativa ( $\log_2$  *Firmicutes/Bacteroidetes*). As comparações entre os grupos foram realizadas pelo teste t de Welch. Observou-se redução significativa da razão *Firmicutes/Bacteroidetes* no grupo exposto a nanoplásticos em comparação ao grupo controle ( $p < 0,05$ ).

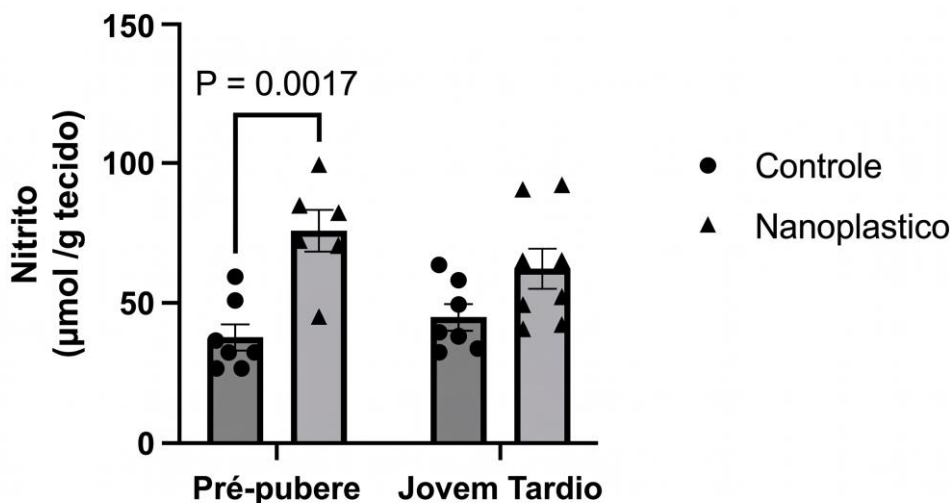
### 5.3. Análises do HP

#### 5.3.1. Níveis de nitrito

A avaliação dos níveis de nitrito no HP revelou uma interação significativa entre a idade dos animais e a exposição aos nanoplásticos. Nos camundongos da fase pré-púberes, a administração de nanoplásticos promoveu um aumento robusto e estatisticamente significativo nos níveis de nitrito em comparação ao seu respectivo grupo controle ( $p = 0,0017$ ; ANOVA de duas vias seguida pelo pós-teste de Tukey).

Em contraste, nos animais da fase jovem tardia, embora tenha sido observada uma tendência de elevação nos níveis de nitrito após a exposição, essa diferença não atingiu significância estatística em relação ao grupo controle. Estes dados indicam que a janela de desenvolvimento pré-púberes apresenta uma maior vulnerabilidade à formação de

espécies reativas de nitrogênio no HP após a exposição oral aos nanoplásticos, sugerindo o desencadeamento de processos nitrosativos precoces nesta região cerebral (Figura 21)

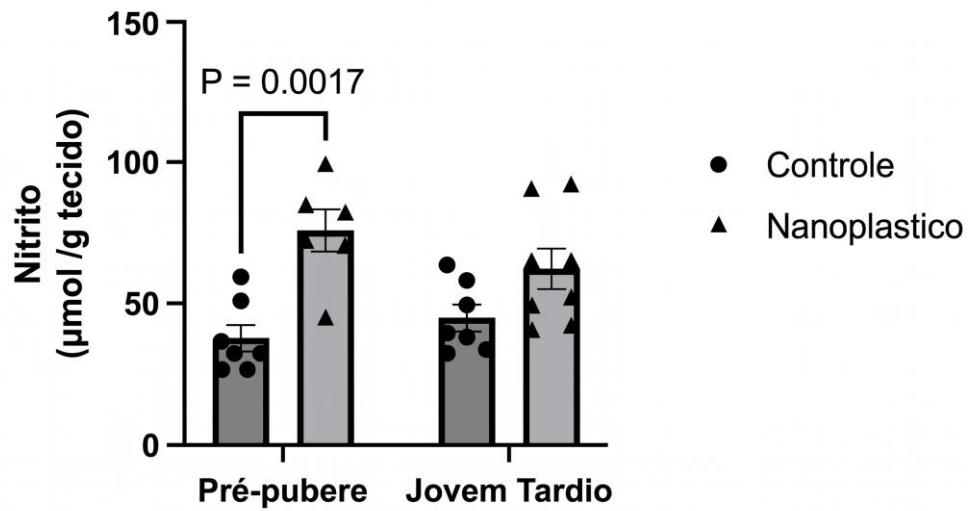


**Figura 21 - Níveis de nitrito no HP de camundongos pré-púberes e jovens tardios expostos a nanoplásticos.** Os níveis de nitrito foram quantificados no HP de camundongos expostos a nanoplásticos e de seus respectivos controles, em duas janelas do desenvolvimento: fase pré-púbere e fase jovem tardia. Os dados são apresentados por grupo experimental, permitindo a comparação entre idade e tratamento. Os dados foram analisados por ANOVA de duas vias considerando Idade e tratamento com nanoplástico como fatores. Diferenças estatisticamente significativas foram consideradas quando  $p < 0,05$  de acordo com o teste de Tukey.

### 5.3.2. Níveis de Glutathiona Reduzida (GSH)

A análise das defesas antioxidantes endógenas revelou que a exposição oral aos nanoplásticos modulou os níveis de GSH no HP de forma distinta entre as faixas etárias. Nos camundongos jovens tardios, observou-se um aumento estatisticamente significativo nos níveis de GSH em comparação ao grupo controle ( $p = 0,0136$ ; ANOVA de duas vias seguida pelo teste de Tukey).

Já nos animais da fase pré-púbere, embora tenha sido observada uma tendência de elevação, não houve diferença estatística relevante entre o grupo exposto e o controle. Esses resultados sugerem que, no tecido hipocampal de animais jovens tardios, pode estar ocorrendo uma resposta adaptativa ou compensatória do sistema antioxidante frente ao insulto causado pelos nanoplásticos, visando a manutenção da homeostase redox local (Figura 22).



**Figura 22 - Níveis de GSH no HP de camundongos pré-púberes e jovens tardios expostos a nanoplásticos.** Os níveis de GSH foram quantificados no HP de camundongos expostos a nanoplásticos e de seus respectivos controles, em duas janelas do desenvolvimento: fase pré-púber e fase jovem tardia. Os dados são apresentados por grupo experimental, permitindo a comparação entre idade e tratamento. Os dados foram analisados por ANOVA de duas vias considerando Idade e tratamento com nanoplástico como fatores. Diferenças estatisticamente significativas foram consideradas quando  $p < 0,05$  de acordo com o teste de Tukey.

## 6. DISCUSSÃO

### 6.1. Diferenças etárias e comportamentais à exposição aos NP-PS

Os resultados desta pesquisa revelam que a exposição repetida por via oral a nanoplásticos de poliestireno (NP-PS) não induz quadros de toxicidade aguda ou alterações comportamentais em camundongos *Swiss*. Entretanto, o estudo demonstra a ocorrência de modificações sutis e regionais no sistema nervoso central (SNC) que são estritamente dependentes da janela de desenvolvimento do hospedeiro. Este achado corrobora a hipótese de que o impacto dessas partículas é condicionado pela maturidade das barreiras biológicas e pela plasticidade neuronal característica de cada fase da vida (Yang *et al.*, 2023).

A fase pré-púbere revelou-se a mais sensível a esse insulto químico ambiental. Do ponto de vista comportamental, o aumento observado no *rearing* periférico e no *grooming* sugere uma alteração seletiva na reatividade emocional e no padrão de exploração, sem que ocorra o comprometimento da locomoção total dos animais (Yang *et al.*, 2023). O aumento do *grooming* pode ser interpretado como uma resposta de deslocamento (*displacement activity*) frente a um estresse moderado, sugerindo uma desregulação na resposta adaptativa ao novo ambiente (Kalueff *et al.*, 2016). Sendo o *grooming* uma sentinela comportamental sensível, alterações na sua duração ou sintaxe indicam que o animal processa estímulos estressores de forma atípica, o que corrobora o estado de vulnerabilidade neuroquímica observado no hipocampo dos indivíduos jovens. Essa manifestação sugere que o animal, ao ser confrontado com um conflito motivacional ou um ambiente aversivo, recorre a padrões de cuidado corporal para mitigar a ativação do eixo de estresse (Souza-Silva *et al.*, 2022).

Esse perfil de vulnerabilidade na juventude converge com o aumento robusto nos níveis de nitrito no hipocampo. Níveis elevados de nitrito funcionam como marcadores de estresse nitrosativo e indicam a ativação da via do óxido nítrico, o que pode contribuir para o desencadeamento de processos neuroinflamatórios precoces (Pacher *et al.*, 2007). Esse aumento sugere uma regulação positiva da enzima óxido nítrico sintase induzida (iNOS), comumente ativada em resposta a estímulos pró-inflamatórios como o LPS translocado do intestino (Logsdon *et al.*, 2018). No microambiente hipocampal, o excesso de óxido nítrico (NO) pode reagir rapidamente com o ânion superóxido ( $O_2^{\cdot-}$ ), gerando o

peroxinitrito ( $\text{ONOO}^-$ ) (Brown; Vilalta, 2015). O peroxinitrito é uma espécie altamente citotóxica que promove a nitração de resíduos de tirosina em proteínas estruturais e enzimáticas, um processo conhecido como nitrosilação, que pode comprometer a função de proteínas essenciais para a sinaptogênese e a sobrevivência neuronal em animais jovens (Bora *et al.*, 2024; Yang *et al.*, 2023).

Este cenário é particularmente crítico para um cérebro ainda em maturação, onde o desequilíbrio redox pode interferir na arquitetura neuronal de longo prazo e na consolidação de circuitos de memória e aprendizado (Barethiya *et al.*, 2021). Durante as janelas críticas do neurodesenvolvimento, a sensibilidade ao estresse oxidativo é amplificada pela alta taxa metabólica e pela maturação incompleta dos sistemas de defesa antioxidante (Tau; Peterson, 2010). Consequentemente, perturbações precoces no equilíbrio redox podem resultar em déficits persistentes na plasticidade sináptica e no comportamento exploratório (Prüst *et al.*, 2020)."

## **6.2. Resiliência Redox e a Glutathione**

Em contraste com os animais jovens, os camundongos jovens tardios não apresentaram alterações comportamentais detectáveis após o protocolo de exposição. Esta ausência de fenótipo comportamental pode ser explicada por uma resposta adaptativa ou compensatória do sistema antioxidante, que se demonstrou mais robusto nesta faixa etária (Kopatz *et al.*, 2023). A observação de um aumento estatisticamente significativo de glutathione reduzida (GSH) no hipocampo do grupo jovem tardio é um indicativo robusto da mobilização de defesas endógenas (Doring *et al.*, 2022).

A GSH atua como a principal linha de defesa antioxidante não enzimática no sistema nervoso central, sendo essencial para a manutenção do potencial redox celular e para a proteção contra o dano oxidativo induzido por xenobióticos (Aoyama; Nakaki, 2013). Esse aumento compensatório sugere uma capacidade adaptativa superior do cérebro maduro em neutralizar espécies reativas, prevenindo a progressão para um estado de estresse oxidativo crônico que foi observado nos animais mais jovens (Kopatz *et al.*, 2023). Este mecanismo sugere que o cérebro maduro possui uma maior capacidade de recrutamento de vias de sobrevivência celular, agindo como um "tampão" químico que neutraliza as espécies reativas de oxigênio (EROs) antes que estas promovam danos sinápticos significativos (Yang *et al.*, 2023).

Bioquimicamente, a manutenção desses níveis elevados de GSH depende da eficiência do ciclo da glutatona e da atividade de enzimas como a Glutaciona Peroxidase (GPx) e a Glutaciona Redutase (GR) (Coutier; Partridge, 2019). Enquanto a GPx utiliza a GSH para neutralizar peróxidos de hidrogênio e lipoperóxidos, convertendo-a em glutaciona oxidada (GSSG), a GR é responsável por reciclar a GSSG de volta à sua forma reduzida (GSH), em uma reação dependente de NADPH (Forman et al., 2009). O equilíbrio entre essas atividades enzimáticas é crucial para garantir que o hipocampo disponha de uma reserva antioxidante pronta para mitigar o estresse oxidativo provocado por poluentes ambientais (Halliwell; Gutteridge, 2015)

Em jovens tardios, o estresse oxidativo leve induzido pelos nanoplásticos pode ativar o fator de transcrição Nrf2, que migra para o núcleo e promove a expressão de genes citoprotetores, incluindo a *glutamato-cisteína ligase*, enzima limitante na síntese de GSH (Tonelli et al., 2018). Esse fenômeno pode ser compreendido sob a ótica da hormese, onde a exposição a uma dose baixa ou moderada de um agente estressor (MNPs) desencadeia uma resposta adaptativa benéfica, aumentando a resiliência tecidual (Calabrese; Agathokleous, 2021). No contexto da neurotoxicidade por plásticos, essa ativação do Nrf2 funciona como um mecanismo sentinela que previne a progressão do dano oxidativo em tecidos maduros, algo menos eficiente em organismos jovens (Yang et al., 2023).

Sendo a GSH o principal antioxidante não enzimático do sistema nervoso central, sua elevação indica que o organismo jovem tardio é capaz de mitigar o estresse oxidativo induzido pelas partículas, preservando a homeostase redox local (Lu, 2013). Esse aumento compensatório atua como um mecanismo neuroprotetor essencial, prevenindo a peroxidação lipídica e a oxidação de proteínas que, de outra forma, comprometeriam a integridade das redes neuronais (Nunes et al., 2015). Enquanto os animais pré-púberes exibem vulnerabilidade, a resposta robusta do sistema da glutaciona nos jovens tardios sugere uma resiliência biológica que estabiliza o microambiente hipocampal frente ao desafio tóxico dos nanoplásticos (Kopatz et al., 2023).

Esta resiliência parece estar vinculada não apenas à competência enzimática superior e ao *pool* de cofatores disponíveis, como o NADPH (Shelton et al., 2022), mas também a uma maior integridade estrutural da BHE em comparação à fase pré-púbere (Saunders et al., 2012). Enquanto a BHE madura apresenta junções de oclusão (*tight*

*junctions*) mais consolidadas e sistemas de efluxo altamente eficientes, a BHE em desenvolvimento possui uma permeabilidade seletiva distinta, o que pode facilitar a translocação de nanoplásticos e o influxo de mediadores inflamatórios sistêmicos para o parênquima cerebral (Prüst et al., 2020). Enquanto no cérebro jovem a BHE em desenvolvimento pode permitir uma translocação mais facilitada de citocinas pró-inflamatórias, a BHE madura atua de forma mais seletiva (Saunders et al., 2012).

Durante o período pós-natal e pré-púbere, a expressão de proteínas de junção e a atividade de transportadores de efluxo ainda estão em processo de maturação, o que resulta em uma vulnerabilidade aumentada a insultos inflamatórios sistêmicos (Obermeier et al., 2013). Em contrapartida, a barreira madura apresenta uma arquitetura neurovascular consolidada que restringe rigorosamente a entrada de mediadores periféricos, protegendo o parênquima cerebral de flutuações inflamatórias agudas (Daneman; Prat, 2015). Dessa forma, o incremento nos níveis de GSH protege a integridade sináptica e a função neuronal contra a infiltração de mediadores inflamatórios sistêmicos, os quais podem ser disparados pela persistência dos nanoplásticos no organismo e pela disbiose intestinal (Kopatz *et al.*, 2023).

### **6.3. Modulação da Microbiota Intestinal**

Na base destas alterações cerebrais, a modulação da microbiota intestinal atua como um evento "a montante" (*upstream*) fundamental. A redução observada na razão *Firmicutes/Bacteroidetes* (F/B), independentemente da idade, confirma que os nanoplásticos alteram o equilíbrio da comunidade microbiana (Souza-Silva *et al.*, 2022). Como o filo *Firmicutes* engloba os principais produtores de butirato, sua redução relativa implica em um potencial comprometimento do aporte deste ácido graxo de cadeia curta (Yang *et al.*, 2023). Este déficit de AGCCs não apenas compromete a nutrição dos colonócitos, mas também reduz a sinalização anti-inflamatória sistêmica, facilitando a comunicação pro-inflamatória com o sistema nervoso central (Bora *et al.*, 2024).

O butirato desempenha um papel multifatorial na homeostase intestinal. Primariamente, ele atua no fortalecimento da barreira epitelial ao modular a expressão de proteínas estruturais das *tight junctions*, como a Zonulina-1 (ZO-1) e a Oclusina (Ma et al., 2012; Peng et al., 2009). Para além do suporte energético aos colonócitos, este metabólito exerce uma regulação epigenética crítica ao funcionar como inibidor das

histonas desacetilases (HDACs) (Sanguinetti et al., 2024). Essa inibição induz a hiperacetilação de histonas, resultando na modulação de genes que favorecem um ambiente anti-inflamatório no lúmen intestinal (Chang et al., 2014). Tal mecanismo é fundamental para a diferenciação celular e para a supressão de citocinas pró-inflamatórias, consolidando a tolerância imunológica na mucosa (Vinolo et al., 2011). Por outro lado, a redução na produção de butirato fragiliza a integridade do epitélio, culminando em um estado de hiperpermeabilidade intestinal (*leaky gut*). Essa ruptura da barreira facilita a translocação de endotoxinas, como o LPS, para a circulação sistêmica, desencadeando processos inflamatórios de ordem metabólica (Souza-Silva et al., 2022).

Ao atingir a circulação sistêmica, o LPS atua como um potente Padrão Molecular Associado a Patógenos (PAMP). O reconhecimento do LPS ocorre primordialmente pela sua ligação ao receptor do tipo Toll 4 (TLR4) em células do sistema imune inato, o que deflagra uma cascata de sinalização pró-inflamatória característica da endotoxemia metabólica (Cani et al., 2007; Zhao et al., 2017). Esse estado é marcado pela liberação sistêmica de citocinas, como a IL-1 $\beta$  e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), estabelecendo uma inflamação de baixo grau crônica (Moreira et al., 2012; Souza-Silva et al., 2022). Tais mediadores inflamatórios, em conjunto com o LPS circulante, possuem a capacidade de interagir com a barreira hematoencefálica (BHE), alcançando o parênquima cerebral por meio de mecanismos de transporte ativo ou através da ruptura da integridade das junções de oclusão da própria BHE (Yang et al., 2023).

Embora as alterações taxonômicas identificadas no presente estudo apresentem magnitude moderada, elas oferecem o substrato mecanicista essencial para compreender a sinalização inflamatória e nitrosativa observada nos marcadores hipocâmpais. Alterações sutis na composição da microbiota podem resultar em flutuações na produção de metabólitos neuroativos e no comprometimento da integridade da barreira intestinal, culminando em processos de neuroinflamação (Erny et al., 2015; Kim et al., 2021). O estresse nitrosativo no hipocampo, caracterizado pela produção excessiva de espécies reativas de nitrogênio (ERN), tem sido associado à ativação microglial via sinalização periférica, sugerindo que desequilíbrios microbianos — mesmo quando discretos — são capazes de repercutir na homeostase redox cerebral (Daulatzai, 2014; Fröhlich et al., 2016). No SNC, a detecção desses sinais eferentes promove a ativação da micróglia, que transita para um fenótipo pró-inflamatório (M1), iniciando a síntese de óxido nítrico e de espécies reativas de oxigênio (ERO) (Bora et al., 2024). Essa transição fenotípica

microglial representa o elo final que traduz a disbiose periférica em estresse oxidativo central, comprometendo a homeostase de regiões vulneráveis, como o hipocampo (Yang et al., 2023).

Portanto, o impacto das MNPs no eixo intestino-cérebro configura-se como uma toxicidade silenciosa, onde a perturbação inicial na microbiota desencadeia uma cascata neuroquímica sistêmica. Esta cascata é amplificada pela imaturidade biológica dos animais jovens — cujas barreiras são mais permeáveis e o sistema antioxidante menos eficiente — enquanto é mitigada pela robustez antioxidante e integridade de barreira dos jovens tardios, definindo desfechos distintos ao longo do desenvolvimento (Bora *et al.*, 2024; Yang *et al.*, 2023).

#### **6.4. Análise Crítica**

A observação de que os NP-PS atuam como modificadores sutis da homeostase, em vez de agentes neurotóxicos agudos, levanta questões fundamentais sobre o risco translacional para a saúde humana. Diferente de poluentes clássicos que induzem morte celular imediata, os nanoplásticos operam em um regime de toxicidade crônica e subclínica, afetando processos metabólicos de maneira insidiosa (Prata et al., 2020). Estudos epidemiológicos sugerem que a exposição humana a contaminantes ambientais é frequentemente mediada por fatores de confusão, como dieta e estados inflamatórios basais, que influenciam a carga de partículas absorvida (Landrigan et al., 2023). No contexto clínico, isso implica que indivíduos com patologias pré-existentes, como doenças inflamatórias intestinais, podem apresentar uma barreira intestinal comprometida, potencializando a translocação de micro e nanoplásticos (MNPs) e o subsequente insulto neuroinflamatório (Hirt e Body-Malapel, 2020).

A principal contribuição deste estudo reside na identificação de janelas de susceptibilidade biológica. O fato de a fase pré-púbere demonstrar maior vulnerabilidade ao estresse nitrosativo hipocampal e a alterações etológicas ressalta a necessidade de políticas de saúde pública voltadas à proteção de populações em desenvolvimento (Landrigan et al., 2023). Durante a infância e a adolescência, o SNC atravessa processos críticos de poda sináptica e mielinização; interferências sutis no equilíbrio redox e na sinalização via óxido nítrico podem predispor a desfechos neurocomportamentais tardios, como distúrbios de ansiedade ou déficits cognitivos (Bora et al., 2024; Yuan et al., 2022).

Nesse cenário, a exposição aos nanoplásticos atua como um "modificador silencioso" do neurodesenvolvimento, cujas consequências podem manifestar-se apenas em fases posteriores da vida (Yang et al., 2023; Nihart et al., 2025).

Ademais, é imperativo reconhecer as limitações translacionais entre o modelo murino e a exposição real. Enquanto protocolos experimentais utilizam partículas virgens e doses controladas, a exposição humana ocorre majoritariamente por plásticos "envelhecidos" (meteorizados), que frequentemente carregam poluentes orgânicos persistentes e metais pesados adsorvidos — fenômeno conhecido como efeito "Cavalo de Troia" (Vethaak e Legler, 2021). A persistência das alterações observadas e a possibilidade de efeitos cumulativos em períodos de exposição prolongados constituem lacunas que futuras investigações devem preencher (Nihart et al., 2025). Por fim, este trabalho reforça que a avaliação de risco não deve restringir-se a danos estruturais macroscópicos, mas focar em desvios funcionais nos eixos de comunicação sistêmica, como o eixo microbiota-intestino-cérebro. A regulação ambiental deve, portanto, pautar-se no princípio da precaução, dado que o custo biológico da poluição plástica parece ser pago de forma desproporcional pelas fases precoces da vida.

## **7. CONCLUSÃO**

A presente investigação permitiu concluir que a exposição oral repetida a nanoplasticos de poliestireno (NP-PS), em doses que mimetizam cenários de contaminação ambiental, induz efeitos biológicos discretos, porém altamente seletivos, em camundongos da linhagem *Swiss*. Os dados obtidos sustentam a tese de que os NPs de poliestireno não atuam como agentes neurotóxicos agudos fulminantes, capazes de induzir morte neuronal massiva ou comprometimento motor grosseiro; em vez disso, comportam-se como modificadores sutis e persistentes da homeostase redox e da sinalização celular.

A principal contribuição original deste estudo reside na caracterização de janelas de vulnerabilidade biológica estritamente dependentes da idade do hospedeiro. Demonstrou-se que a fase pré-púbere constitui um período de susceptibilidade crítica, no qual o sistema nervoso central, ainda em processo de maturação e poda sináptica, apresenta-se mais vulnerável aos efeitos sistêmicos dos NPs. Nestes animais, a translocação de sinais inflamatórios resultou em alterações seletivas na reatividade emocional — evidenciada pelo aumento do *grooming* e *rearing* — e em um aumento robusto do estresse nitrosativo no hipocampo. Tais achados sugerem que o insulto químico ambiental pode desviar a trajetória normal do neurodesenvolvimento, mesmo na ausência de sintomas clínicos severos.

Em contrapartida, o estudo revelou um fenótipo de resiliência notável no grupo jovem tardio. A elevação dos níveis de glutathiona reduzida (GSH) hipocampal nestes animais indica uma capacidade superior de recrutamento de defesas antioxidantes e uma maior eficácia dos mecanismos de sobrevivência celular, possivelmente mediada por uma barreira hematoencefálica mais íntegra e um sistema enzimático plenamente maturado. Esse contraste etário reforça que o risco toxicológico dos nanoplasticos é relativo e deve ser avaliado sob a ótica da biologia do desenvolvimento.

Do ponto de vista mecanicista, a identificação de uma disbiose sutil, porém consistente, na microbiota intestinal — caracterizada pela redução na razão *Firmicutes/Bacteroidetes* — consolida o eixo microbiota-intestino-cérebro como a via primária de transdução do dano. A redução de táxons produtores de butirato fornece o nexo causal entre a ingestão das partículas e a resposta inflamatória central, sugerindo que a ruptura da homeostase intestinal é o evento precursor (*upstream*) que culmina no estresse oxidativo e nitrosativo a jusante (*downstream*) no SNC.

Em suma, esta dissertação avança significativamente na compreensão da toxicologia dos contaminantes emergentes ao evidenciar que o risco dos nanoplásticos reside em sua "toxicidade silenciosa". O impacto dessas partículas manifesta-se no comprometimento de vias de sinalização essenciais durante fases críticas da vida, o que pode predispor os organismos a patologias neurodegenerativas ou psiquiátricas no futuro. Conclui-se, portanto, que a proteção de populações em desenvolvimento deve ser priorizada em políticas de saúde pública e regulação ambiental. Estudos subsequentes, focados na exposição crônica e no uso de polímeros envelhecidos, são imperativos para desvendar a permanência dessas alterações moleculares e consolidar o risco translacional definitivo desses poluentes para a neurobiologia humana.

## **REFERÊNCIAS**

- ABOGHAZLEH, R. et al.** Microdissection of Mouse Brain Regions for Biochemical and Molecular Analysis. **Methods in Molecular Biology**, [s. l.], v. 2731, p. 45-58, 2024.
- ADHIKARI, S. et al.** Methods and challenges in the detection of microplastics and nanoplastics: a mini-review. **Polymer International**, [s. l.], v. 71, p. 543-551, 2022.
- AOYAMA, K.; NAKAKI, T.** Impaired glutathione synthesis in neurodegeneration. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 14, n. 10, p. 21021-21044, 2013.
- AGEEL, H. K.; HARRAD, S.; ABDALLAH, M. A.-E.** Occurrence, human exposure, and risk of microplastics in the indoor environment. **Environmental Science: Processes & Impacts**, [s. l.], v. 24, p. 17-31, 2022.
- ALI, N. et al.** The potential impacts of micro-and-nano plastics on various organ systems in humans. **eBioMedicine**, [s. l.], v. 99, p. 104901, 2024.
- ALKUWAITI, S. H. et al.** Harnessing the microbiota-gut-brain axis to prevent and treat pediatric neurodevelopmental disorders: translational insights and strategies. **Journal of Translational Medicine**, [s. l.], v. 23, p. 1286, 2025.
- AMARAL-ZETTLER, L. A.; ZETTLER, E. R.; MINCER, T. J.** Ecology of the plastisphere. **Nature Reviews Microbiology**, [s. l.], v. 18, p. 139-151, 2020.
- ARCHER, J.** Tests for emotionality in rats and mice: a review. **Animal Behaviour**, v. 21, n. 2, p. 205-235, 1973.
- ARRAES, S. M. et al.** Environmental enrichment and animal welfare in neuroscience research. **Journal of Laboratory Animal Science**, 2024.
- BACH KNUDSEN, K. E. et al.** Impact of Diet-Modulated Butyrate Production on Intestinal Barrier Function and Inflammation. **Nutrients**, v. 10, n. 10, p. 1499, 2018.
- BAKE, S. et al.** Blood-brain barrier permeability and estrus cycle in female rats. **Brain Research**, [s. l.], v. 1569, p. 1-12, 2014.
- BARETHIYA, P. et al.** Oxidative Stress and Neurodevelopmental Disorders: A Review. **Current Molecular Pharmacology**, v. 14, n. 4, p. 556-572, 2021.
- BLACKBURN, K.; GREEN, D.** The potential effects of microplastics on human health: What is known and what is unknown. **Ambio**, [s. l.], v. 51, p. 518-530, 2022.
- BORA, S. S. et al.** Microplastics and human health: unveiling the gut microbiome disruption and chronic disease risks. **Frontiers in Cellular and Infection Microbiology**, [s. l.], v. 14, p. 1492759, 2024.

**BORREGO-RUIZ, A.; BORREGO, J. J.** An updated overview on the relationship between human gut microbiome dysbiosis and psychiatric and psychological disorders. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 128, p. 110861, 2024.

**BRANISTE, V. et al.** The gut microbiota influences blood-brain barrier permeability in mice. **Science Translational Medicine**, [s. l.], v. 6, n. 263, p. 263ra158, 2014.

**BRASIL.** Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008. Estabelece procedimentos para o uso científico de animais. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 9 out. 2008.

**BROWN, G. C.; CAMACHO, M.; WILLIAMS-GRAY, C. H.** The Endotoxin Hypothesis of Parkinson's Disease. **Movement Disorders**, [s. l.], v. 38, p. 1143-1155, 2023.

**BROWN, G. C.; VILALTA, A.** How microglia kill neurons. **The Movement Disorders Society**, v. 30, n. 8, p. 1025–1034, 2015.

**BUOSO, E. et al.** Endocrine Disrupting Toxicity of Bisphenol A and Its Analogs: Implications in the Neuro-Immune Milieu. **Journal of Xenobiotics**, [s. l.], v. 15, p. 13, 2025.

**BURGER-VAN PAASSEN, N. et al.** The regulation of intestinal mucin MUC2 expression by short-chain fatty acids: implications for epithelial protection. **Biochemical Journal**, v. 420, n. 2, p. 211-219, 2009.

**BUSTIN, S. A. et al.** The MIQE guidelines: minimum information for publication of quantitative real-time PCR experiments. **Clinical Chemistry**, [s. l.], v. 55, n. 4, p. 611-622, 2009.

**CALABRESE, E. J.; AGATHOKLEOUS, E.** Microplastics and nanoplastics: A significant threat to human health or a dose-response hormetic challenge? **Science of The Total Environment**, v. 793, p. 148566, 2021.

**CAMPEN, M. J. et al.** Bioaccumulation of Microplastics in Human Placental and Testicular Tissue: A Case–Control Study. **Toxicological Sciences**, 2024.

**CANI, P. D. et al.** Changes in gut microbiota control metabolic endotoxemia-induced inflammation in high-fat diet-induced obesity and diabetes. **Diabetes**, [s. l.], v. 57, n. 6, p. 1470-1481, 2008.

**CANI, P. D. et al.** Metabolic Endotoxemia Initiates Obesity and Insulin Resistance. **Diabetes**, v. 56, n. 7, p. 1761-1772, 2007.

**CHANG, P. V. et al.** The microbial metabolite butyrate regulates intestinal macrophage function via histone deacetylase inhibition. **Proceedings of the National Academy of Sciences (PNAS)**, v. 111, n. 6, p. 2247-2252, 2014.

**CHEN, J. et al.** Maternal exposure to nanopolystyrene induces neurotoxicity in offspring through P53-mediated ferritinophagy and ferroptosis in the rat hippocampus. **Journal of Nanobiotechnology**, [s. l.], v. 22, p. 651, 2024.

**CHEN, X. et al.** Polystyrene micro- and nanoparticles exposure induced anxiety-like behaviors, gut microbiota dysbiosis and metabolism disorder in late young mice. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, [s. l.], v. 259, p. 115000, 2023.

**CHEN, Y. et al.** Polystyrene nanoplastics exposure induces cognitive impairment in mice via induction of oxidative stress and ERK/MAPK-mediated neuronal cuproptosis. **Particle and Fibre Toxicology**, [s. l.], v. 22, p. 13, 2025.

**CHIA, R. et al.** The origins and uses of mouse outbred stocks. **Nature Genetics**, [s. l.], v. 37, n. 11, p. 1181-1186, 2005.

**COUTIER, A.; PARTRIDGE, L.** The role of the glutathione system in aging and neurodegeneration. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 12, p. 137, 2019.

**CIORNII, D. et al.** Interlaboratory Comparison Reveals State of the Art in Microplastic Detection and Quantification Methods. **Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 97, p. 8719-8728, 2025.

**CLAYTON, J. A.; COLLINS, F. S.** Policy: NIH to balance sex in cell and animal studies. **Nature**, [s. l.], v. 509, n. 7500, p. 282-283, 2014.

**CLOSE, B. et al.** Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 1. **Laboratory Animals**, v. 30, n. 4, p. 293-316, 1996.

**CLOSE, B. et al.** Recommendations for euthanasia of experimental animals: Part 2. **Laboratory Animals**, v. 31, n. 1, p. 1-32, 1997.

**COWGER, W. et al.** Critical Review of Processing and Classification Techniques for Images and Spectra in Microplastic Research. **Applied Spectroscopy**, [s. l.], v. 74, p. 989-1010, 2020.

**CRYAN, J. F. et al.** The Microbiota-Gut-Brain Axis. **Physiological Reviews**, [s. l.], v. 99, p. 1877-2013, 2019.

**DANEMAN, R.; PRAT, A.** The blood-brain barrier. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, v. 7, n. 1, p. a020412, 2015.

**DAULATZAI, M. A.** Chronic inflammation and oxidative stress in a systemic-CNS nexus: Role of GI tract pathology and gut dysbiosis. **CNS & Neurological Disorders-Drug Targets**, v. 13, n. 4, p. 703-721, 2014.

**DENG, Y. et al.** Tissue accumulation of microplastics in mice and biomarker responses suggest widespread health risks. **Scientific Reports**, [s. l.], v. 7, n. 1, p. 1-10, 2017.

- DI VINCENZO, F. et al.** Gut microbiota, intestinal permeability, and systemic inflammation: a narrative review. **Internal and Emergency Medicine**, [s. l.], v. 19, p. 275-293, 2024.
- DODIYA, H. B. et al.** Sex-specific effects of microbiome perturbations on cerebral A $\beta$  amyloidosis and microglia phenotypes. **Journal of Experimental Medicine**, [s. l.], v. 216, p. 1542-1560, 2019.
- DORING, M. et al.** The role of the glutathione system in hippocampal plasticity and resilience to stress. **Frontiers in Molecular Neuroscience**, v. 15, p. 892-905, 2022.
- DZIERŻYŃSKI, E. et al.** post-mortem evidence of microplastic bioaccumulation in human organs: insights from advanced imaging and spectroscopic analysis. **Archives of Toxicology**, [s. l.], v. 99, p. 4051-4066, 2025.
- ERNY, D. et al.** Host microbiota constantly control maturation and function of microglia in the CNS. **Nature Neuroscience**, [s. l.], v. 18, p. 965-977, 2015.
- EVANGELIOU, N. et al.** Atmospheric transport is a major pathway of microplastics to remote regions. **Nature Communications**, [s. l.], v. 11, p. 3381, 2020.
- FAJGENBAUM, D. C.; JUNE, C. H.** Cytokine Storm. **New England Journal of Medicine**, [s. l.], v. 383, p. 2255-2273, 2020.
- FORMAN, H. J. et al.** Glutathione: Overview of its protective roles, measurement, and biosynthesis. **Molecular Aspects of Medicine**, v. 30, n. 1-2, p. 1-12, 2009.
- FRERICHS, N. M.; DE MEIJ, T. G. J.; NIEMARKT, H. J.** Microbiome and its impact on fetal and neonatal brain development: current opinion in pediatrics. **Current Opinion in Clinical Nutrition & Metabolic Care**, [s. l.], v. 27, p. 297-303, 2024.
- FRÖHLICH, E. E. et al.** Cognitive impairment and reduced hippocampal cerebral blood flow in a mouse model of chronic low-grade inflammation. **Brain, Behavior, and Immunity**, v. 58, p. 213-221, 2016.
- FUNCK, D. et al.** Discovery of a Ni<sup>2+</sup>-dependent guanidine hydrolase in bacteria. **Nature**, [s. l.], v. 603, p. 515-521, 2022.
- GOMEZ DE AGÜERO, M. et al.** The maternal microbiota drives early postnatal innate immune development. **Science**, [s. l.], v. 351, p. 1296-1302, 2016.
- GÓRALCZYK-BIŃKOWSKA, A.; SZMAJDA-KRYGIER, D.; KOZŁOWSKA, E.** The Microbiota-Gut-Brain Axis in Psychiatric Disorders. **International Journal of Molecular Sciences**, [s. l.], v. 23, p. 11245, 2022.

**GRANDJEAN, P; LANDRIGAN, P. J.** Neurobehavioural effects of developmental toxicity. **The Lancet Neurology**, [s. l.], v. 13, n. 3, p. 330-338, mar. 2014. DOI: [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(13\)70278-3](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(13)70278-3).

**GREEN, L. C. et al.** Analysis of nitrate, nitrite, and [15N] nitrate in biological fluids. **Analytical Biochemistry**, [s. l.], p. 126:131e8, 1982.

**GUO, X. et al.** Real-time PCR quantification of IS-elements and phyla in the gastrointestinal tract of pigs. **Journal of Microbiological Methods**, [s. l.], v. 75, n. 2, p. 279-286, 2008.

**GUO, Y. et al.** Perinatal exposure to polystyrene nanoplastics alters socioemotional behaviors via the microbiota-gut-brain axis in late young offspring mice. **Brain, Behavior, and Immunity**, [s. l.], v. 128, p. 121-133, 2025.

**GUROW, K. et al.** Gut Microbial Control of Neurotransmitters and Their Relation to Neurological Disorders: A Comprehensive Review. **Hormone and Metabolic Research**, [s. l.], v. 57, p. 315-325, 2025.

**HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C.** **Free Radicals in Biology and Medicine**. 5th ed. Oxford: Oxford University Press, 2015.

**HE, H. et al.** Microglial priming by IFN- $\gamma$  involves STAT1-mediated activation of the NLRP3 inflammasome. **CNS Neuroscience & Therapeutics**, [s. l.], v. 30, p. e70061, 2024.

**HIRT, N.; BODY-MALAPEL, M.** Immunotoxicity and intestinal effects of nano- and microplastics: a review of the literature. **Particle and Fibre Toxicology**, [s. l.], v. 17, p. 57, 2020.

**HO, K. H. et al.** Exposure to Nanoplastics Disrupts Neurotransmitter Release in Rat Hippocampal Neurons. **Environmental Health**, [s. l.], 2025.

**HUANG, Y. et al.** Polystyrene nanoplastic exposure induces excessive mitophagy by activating AMPK/ULK1 pathway in differentiated SH-SY5Y cells and dopaminergic neurons in vivo. **Particle and Fibre Toxicology**, [s. l.], v. 20, p. 44, 2023.

**KALUEFF, A. V. et al.** Overcoming the translational crisis of depression research: relevance of rodent ethology. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 71, p. 612-630, 2016.

**KALUEFF, A. V.; TUOHIMAA, P.** Grooming as a marker of self-stress in mice. **Behavioural Brain Research**, v. 154, n. 1, p. 129-136, 2004.

**KANNAN, K.; VIMALKUMAR, K.** A Review of Human Exposure to Microplastics and Insights Into Microplastics as Obesogens. **Frontiers in Endocrinology**, [s. l.], v. 12, 2021.

**KIM, M. S. et al.** Gut microbial-derived metabolites and their role in brain health and disease. **The Journal of Nutrition**, v. 151, n. 11, p. 3251-3264, 2021.

**KITAZAWA, M. et al.** Lipopolysaccharide-Induced Inflammation Exacerbates Tau Pathology by a Cyclin-Dependent Kinase 5-Mediated Pathway in a Transgenic Model of Alzheimer's Disease. **Journal of Neuroscience**, [s. l.], v. 25, p. 8843-8853, 2005.

**KOELMANS, A. A. et al.** Microplastics in freshwaters and drinking water: Critical review and assessment of data quality. **Water Research**, [s. l.], v. 155, p. 410-422, 2019.

**KOPATZ, V. et al.** Micro- and Nanoplastics Breach the Blood-Brain Barrier (BBB): Biomolecular Corona's Role Revealed. **Nanomaterials**, [s. l.], v. 13, p. 1404, 2023.

**LANDRIGAN, P. J. et al.** The Lancet Commission on Plastics and Human Health. **Lancet Planetary Health**, v. 7, n. 5, p. e387-e437, maio 2023. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S2542-5196\(23\)00001-5](https://doi.org/10.1016/S2542-5196(23)00001-5). Acesso em: 21 abr. 2026.

**LEE, D. C. et al.** LPS-induced inflammation exacerbates phospho-tau pathology in rTg4510 mice. **Journal of Neuroinflammation**, [s. l.], v. 7, p. 56, 2010.

**LESLIE, H. A. et al.** Discovery and quantification of plastic particle pollution in human blood. **Environment International**, [s. l.], v. 163, p. 107199, 2022.

**LEY, R. E. et al.** Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. **Nature**, [s. l.], v. 444, n. 7122, p. 1022-1023, 2006.

**LI, D. et al.** Microplastic release from the degradation of polypropylene feeding bottles during infant formula preparation. **Nature Food**, [s. l.], v. 1, p. 746-754, 2020.

**LOGSDON, A. F. et al.** Gut reactions: How the blood-brain barrier connects the microbiome and the brain. **Experimental Biology and Medicine**, v. 243, n. 2, p. 159–165, 2018.

**LU, L. et al.** Polystyrene microplastics induce gut microbiota dysbiosis and hepatic lipid metabolism disorder in mice. **Science of The Total Environment**, [s. l.], v. 631-632, p. 449-458, 2018.

**LU, S. C.** Glutathione synthesis. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects**, v. 1830, n. 5, p. 3143-3153, 2013.

**MACHADO, A. B. M.** Neuroanatomia funcional. 2. ed. São Paulo: Atheneu, 1985.

**MACURA, B.; KIECKA, A.; SZCZEPANIK, M.** Intestinal permeability disturbances: causes, diseases and therapy. **Clinical and Experimental Medicine**, [s. l.], v. 24, p. 232, 2024.

**MAES, M.; KUBERA, M.; LEUNIS, J.-C.** The gut-brain barrier in major depression: intestinal mucosal dysfunction with an increased translocation of LPS from gram negative enterobacteria (leaky gut) plays a role in the inflammatory pathophysiology of depression. **Neuro Endocrinology Letters**, [s. l.], v. 29, p. 117-124, 2008.

**MASSERONI, A. et al.** Nanoplastics: Status and Knowledge Gaps in the Finalization of Environmental Risk Assessments. **Toxics**, [s. l.], v. 10, p. 270, 2022.

**MA, X. et al.** Butyrate promotes the epithelial barrier by inducing expression of tight junction proteins via a PAMP-independent mechanism. **American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology**, [s. l.], v. 303, n. 6, p. G672-G681, set. 2012.

**MEDINA-RODRIGUEZ, E. M. et al.** Th17 cells sense microbiome to promote depressive-like behaviors. **Microbiome**, [s. l.], v. 11, p. 92, 2023.

**MEYERHOFF, A. D. et al.** A Rapid and Efficient Method for the Dissection of Discrete Brain Regions in Mice. **Journal of Visualized Experiments (JoVE)**, [s. l.], n. 169, e62310, 2021.

**MONIKH, F. A. et al.** Challenges in studying microplastics in human brain. **Nature Medicine**, [s. l.], v. 31, p. 4034-4035, 2025.

**MONOPOLI, M. P. et al.** Biomolecular coronas provide the biological identity of nanosized materials. **Nature Nanotechnology**, [s. l.], v. 7, p. 779-786, 2012.

**MOREIRA, A. P. B. et al.** Influence of a high-fat diet on gut microbiota, intestinal permeability and low-grade inflammation. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 47, n. 11, p. 1656-1663, 2012.

**MURPHY, M. P. et al.** Guidelines for measuring reactive oxygen species and oxidative damage in cells and in vivo. **Nature Metabolism**, [s. l.], v. 4, p. 651-662, 2022.

**NATIONAL INSTITUTES OF HEALTH (NIH).** Guide for the Care and Use of Laboratory Animals. 8th ed. Washington, DC: National Academies Press, 2011.

**NIHART, A. J. et al.** Bioaccumulation of microplastics in decedent human brains. **Nature Medicine**, [s. l.], v. 31, p. 1114-1119, 2025.

**NORTH, M. L. et al.** The Swiss Webster mouse model: review of its use in research and toxicology. **Journal of Toxicological Sciences**, [s. l.], v. 35, n. 1, p. 1-12, 2010.

**NUNES, M. A. et al.** The role of reduced glutathione in neuroprotection and health. **Neurochemical Research**, v. 40, n. 12, p. 2561-2575, 2015.

**OBERMEIER, B.; DANEMAN, R.; RANSOHOFF, R. M.** Development, maintenance and disruption of the blood-brain barrier. **Nature Medicine**, v. 19, n. 12, p. 1584–1596, 2013.

**PACHER, P.; BECKMAN, J. S.; LIAUDET, L.** Nitric oxide and peroxynitrite in health and disease. **Physiological Reviews**, v. 87, n. 1, p. 315–424, 2007.

**PARK, J. C. et al.** Beyond the gut: decoding the gut-immune-brain axis in health and disease. **Cellular & Molecular Immunology**, [s. l.], v. 22, p. 1287-1312, 2025.

**PENG, L. et al.** Butyrate Enhances the Intestinal Barrier by Facilitating Tight Junction Assembly via Activation of AMP-activated Protein Kinase. **The Journal of Nutrition**, [s. l.], v. 139, n. 9, p. 1619-1625, set. 2009.

**PERCIE DU SERT, N. et al.** Reporting animal research: Explanation and elaboration for the ARRIVE guidelines 2.0. **PLOS Biology**, v. 18, n. 7, p. e3000411, 2020.

**PERRY, V. H.; HOLMES, C.** Microglial priming in neurodegenerative disease. **Nature Reviews Neurology**, [s. l.], v. 10, p. 217-224, 2014.

**PORSOLT, R. D.; LE PICHON, M.; JALFRE, M.** Depression: a new animal model sensitive to antidepressant treatments. **Nature**, v. 266, n. 5604, p. 730-732, 1977.

**PRATA, J. C. et al.** Environmental exposure to microplastics: An overview on possible human health effects. **Science of The Total Environment**, [s. l.], v. 702, p. 134455, 2020.

**PRÜST, M.; MEIJER, J.; WESTERINK, R. H. S.** The plastic brain: Neurotoxicity of micro- and nanoplastics. **Particle and Fibre Toxicology**, v. 17, n. 24, 2020.

**PRIMPKE, S. et al.** Comparison of pyrolysis gas chromatography/mass spectrometry and hyperspectral FTIR imaging spectroscopy for the analysis of microplastics. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [s. l.], v. 412, p. 8283-8298, 2020.

**PUTZU, M. et al.** Optimization of tablet processing as a reference material for microplastic detection methods. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, [s. l.], 2025.

**RAGUSA, A. et al.** Plasticenta: First evidence of microplastics in human placenta. **Environment International**, [s. l.], v. 146, p. 106274, 2021.

**RAGUSA, A. et al.** Raman Microspectroscopy Detection and Characterisation of Microplastics in Human Breastmilk. **Polymers**, [s. l.], v. 14, p. 2700, 2022.

**RODGERS, R. J.; DALVI, A.** Anxiety, defence and the elevated plus-maze. **Neuroscience & Biobehavioral Reviews**, v. 21, n. 6, p. 801-810, 1997.

- ROSLAN, N. S. et al.** Detection of microplastics in human tissues and organs: A scoping review. **Journal of Global Health**, [s. l.], v. 14, p. 04179, 2024.
- SANGUINETTI, B. et al.** Butyrate, an Important Key for Maintaining the Homeostasis of the Intestinal Barrier. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, n. 15, p. 8116, 2024.
- SAUNDERS, N. R. et al.** The rights and wrongs of blood-brain barrier permeability in the developing and adult brain. **Frontiers in Neuroscience**, v. 6, p. 188, 2012.
- SCHWAFERTS, C. et al.** Methods for the analysis of submicrometer- and nanoplastic particles in the environment. **TrAC Trends in Analytical Chemistry**, [s. l.], v. 112, p. 52-65, 2019.
- SEDLAK, J.; LINDSAY, R. H.** Estimation of total, protein-bound, and nonprotein sulfhydryl groups in tissue with Ellman's reagent. **Analytical Biochemistry**, [s. l.], v. 25, p. 192-205, 1968.
- SENGUPTA, P.** The Laboratory Rat: Relating Its Age With Human's. **International Journal of Preventive Medicine**, [s. l.], v. 4, n. 6, p. 624–630, jun. 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3733029/>. Acesso em: 8 maio 2026.
- SHELTON, P. V. et al.** Metabolism of reduced nicotinamide adenine dinucleotide phosphate (NADPH) in the brain: Implications for antioxidant defense. **Journal of Neurochemistry**, v. 161, n. 3, p. 214-230, 2022.
- SMITH, C. J.; OSBORN, A. M.** Advantages and limitations of quantitative PCR (Q-PCR)-based approaches in microbial ecology. **FEMS Microbiology Ecology**, [s. l.], v. 67, n. 1, p. 6-20, 2009.
- SOFIELD, C. E.; ANDERTON, R. S.; GORECKI, A. M.** Mind over Microplastics: Exploring Microplastic-Induced Gut Disruption and Gut-Brain-Axis Consequences. **Current Issues in Molecular Biology**, [s. l.], v. 46, p. 4186-4202, 2024.
- SOLÓRZANO, L. A. et al.** A Review of the Sampling, Analysis, and Identification Techniques of Microplastics in the Air: Insights into PM2.5 and PM10. **Polymers**, [s. l.], v. 17, p. 3045, 2025.
- SOUZA-SILVA, T. G. D. et al.** Impact of microplastics on the intestinal microbiota: A systematic review of preclinical evidence. **Life Sciences**, [s. l.], v. 294, p. 120366, 2022.
- STRANDWITZ, P. et al.** GABA-modulating bacteria of the human gut microbiota. **Nature Microbiology**, v. 4, n. 3, p. 396-403, 2019.
- TAU, G. Z.; PETERSON, B. S.** Normal development of brain circuits. **Neuropsychopharmacology**, v. 35, n. 1, p. 147–168, 2010.

**THIN, Z. S. et al.** Impact of microplastics on the human gut microbiome: a systematic review of microbial composition, diversity, and metabolic disruptions. **BMC Gastroenterology**, [s. l.], v. 25, p. 583, 2025.

**THION, M. S. et al.** Microbiome Influences Prenatal and Late young Microglia in a Sex-Specific Manner. **Cell**, [s. l.], v. 172, p. 500-516.e16, 2018.

**TIAN, L. et al.** Effects of nanoplastic exposure during pregnancy and lactation on neurodevelopment of rat offspring. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 474, p. 134800, 2024.

**TONELLI, C. et al.** The role of the Nrf2 pathway in cancer and inflammation. **Antioxidants & Redox Signaling**, v. 29, n. 17, p. 1727-1745, 2018.

**TREMAROLI, V.; BÄCKHED, F.** Functional interactions between the gut microbiota and host metabolism. **Nature**, [s. l.], v. 489, n. 7415, p. 242-249, 2012.

**TURNBAUGH, P. J. et al.** An obesity-associated gut microbiome with increased capacity for energy harvest. **Nature**, [s. l.], v. 444, n. 7122, p. 1027-1031, 2006.

**ULLAH, S. et al.** A review of the endocrine disrupting effects of micro and nano plastic and their associated chemicals in mammals. **Frontiers in Endocrinology**, [s. l.], v. 13, p. 1084236, 2023.

**VAN EEDEN, W. A. et al.** Basal and LPS-stimulated inflammatory markers and the course of individual symptoms of depression. **Translational Psychiatry**, [s. l.], v. 10, p. 235, 2020.

**VETHAAK, A. D.; LEGLER, J.** Microplastics and human health. **Science**, [s. l.], v. 371, p. 672-674, 2021.

**VINOLO, M. A. R. et al.** Regulation of Inflammation by Short Chain Fatty Acids. **Nutrients**, v. 3, n. 10, p. 858-876, 2011.

**WEXLER, H. M.** Bacteroides: the good, the bad, and the nitty-gritty. **Clinical Microbiology Reviews**, [s. l.], v. 20, n. 4, p. 593-621, 2007.

**WIĘDŁOCHA, M. et al.** Gut microbiota, kynurenine pathway and mental disorders Review. **Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry**, [s. l.], v. 106, p. 110145, 2021.

**WINIARSKA, E.; JUTEL, M.; ZEMELKA-WIACEK, M.** The potential impact of nano- and microplastics on human health: Understanding human health risks. **Environmental Research**, [s. l.], v. 251, p. 118535, 2024.

**YAN, Z. et al.** Microplastic consumption as a possible risk factor for inflammation and oxidative stress in the brain. **Toxicology and Applied Pharmacology**, v. 460, p. 116362, 2023.

**YAN, Z. et al.** Polystyrene nanoplastics aggravate the neurotoxicity of environmental contaminants via the microbiota-gut-brain axis. **Journal of Hazardous Materials**, [s. l.], v. 424, p. 127563, fev. 2022.

**YANG, Q. et al.** Oral feeding of nanoplastics affects brain function of mice by inducing macrophage IL-1 signal in the intestine. **Cell Reports**, [s. l.], v. 42, p. 112346, 2023.

**YERAMILLI, V. et al.** A Review of the Impact of Maternal Prenatal Stress on Offspring Microbiota and Metabolites. **Metabolites**, [s. l.], v. 13, p. 535, 2023.

**ZHAO, L. et al.** Gut bacteria selectively promoted by dietary fibers alleviate type 2 diabetes. **Science**, v. 359, n. 6380, p. 1151-1156, 2018.

**ZURI, G.; KARANASIOU, A.; LACORTE, S.** Human biomonitoring of microplastics and health implications: A review. **Environmental Research**, [s. l.], v. 237, p. 116966, 2023.



**ATA DA SESSÃO DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO DE MESTRADO**

UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM MICROBIOLOGIA MÉDICA

Como parte das exigências para concessão do grau de mestra, às 09:00 horas do dia 29 de Abril de 2026, realizou-se a sessão pública da defesa de dissertação de mestrado da aluna JÚLIA GROMBONE DE VASCONCELLOS LIMA. O trabalho tinha como título: "EFEITOS DA EXPOSIÇÃO REPETIDA A NANOPLÁSTICOS SOBRE COMPORTAMENTO, MICROBIOTA INTESTINAL E EIXO MICROBIOTA–INTESTINO–CÉREBRO EM CAMUNDONGOS".

Compunham a banca examinadora os professores(as) doutores(as) DANIELLE MACEDO GASPAR, orientadora, ANA BEATRIZ GRACA DUARTE e ADRIANA ROLIM CAMPOS. A candidata expôs oralmente a dissertação, em seguida os membros da banca procederam à arguição, e a sessão foi finalizada com a APROVAÇÃO, por parte da banca examinadora, do trabalho sem ressalvas.

Foi lavrada a presente ata que é abaixo assinada pelos membros da referida banca:

---

DANIELLE MACEDO GASPAR  
UFC - Orientadora

---

ANA BEATRIZ GRACA DUARTE  
UFC - Examinadora Externa ao Programa

---

ADRIANA ROLIM CAMPOS  
UNIFOR - Examinadora Externa à Instituição

Fortaleza, 29 de Abril de 2026