

Plan Overview

A Data Management Plan created using DMPTool

Title: Papel de receptores colinérgicos alfa7nAChR em neurônios POMC hipotalâmicos sobre o controle da homeostase energética em camundongos

Creator: Wenicios Chaves - ORCID: [0000-0002-6582-417X](https://orcid.org/0000-0002-6582-417X)

Affiliation: State University of Campinas (unicamp.br)

Principal Investigator: Wenicios Ferreira Chaves, Marcio Alberto Torsoni

Data Manager: Wenicios Ferreira Chaves, Marcio Alberto Torsoni

Project Administrator: Wenicios Ferreira Chaves, Marcio Alberto Torsoni

Funder: São Paulo Research Foundation (fapesp.br)

Funding opportunity number: 2020/06661-2

Grant: [https://bv.fapesp.br/pt/pesquisa/busca/?q2=\(id_pesquisador_exact%3A709804\)%20AND%20\(bolsa_exact:%22Bolsas%20no%20Brasil%22%20AND%20situacao:%22Em%20andamento%22\)](https://bv.fapesp.br/pt/pesquisa/busca/?q2=(id_pesquisador_exact%3A709804)%20AND%20(bolsa_exact:%22Bolsas%20no%20Brasil%22%20AND%20situacao:%22Em%20andamento%22))

Template: Digital Curation Centre

Project abstract:

O sistema colinérgico apresenta ampla difusão no organismo, sendo expresso em diferentes tipos celulares, e exerce papel relevante na resposta anti-inflamatória colinérgica sistêmica, especialmente, através da subunidade alfa7 do receptor nicotínico colinérgico ($\alpha 7$ nAChR). Contudo, recentes estudos têm demonstrado que a subunidade $\alpha 7$ nAChR expressa em neurônios hipotalâmicos orexígenos e anorexígenos também contribuem para manutenção da homeostase energética. Ademais, essa resposta é mediada pela via de sinalização JAK2/STAT3, pela qual outros sinais periféricos, como a leptina, agem à nível central inibindo o apetite e estimulando por vias aferentes o gasto energético em diversos tecidos. Nesse sentido, o objetivo do presente estudo será investigar o papel da subunidade $\alpha 7$ nAChR em neurônios POMC hipotalâmicos sobre a ingestão alimentar e na manutenção da homeostase energética por diferentes tecidos periféricos em camundongos. Nesse estudo serão utilizados animais *knockout* para $\alpha 7$ nAChR ou STAT3 em neurônios hipotalâmicos POMC obtidos através do sistema de recombinação genética *Cre-Lox*. Esse método de edição genética permite a obtenção de animais *knockout* sitio-específico através da deleção mediada pela enzima *Cre-recombinase* em um gene de interesse flanqueado por sítios *loxP*. Para confirmação da deleção, os animais *knockout* ou não serão perfundidos com solução de paraformaldeído 4%, terão o cérebro extraído e posteriormente criosseccionado em criostato. As áreas de interesse serão delimitadas através de atlas estereotáxico. Na imunofluorescência, os cortes serão incubados com anticorpos primários específicos, sendo α -MSH para marcação de neurônios POMC e CHRNA7 ou STAT3 de acordo com a deleção proposta. Inicialmente os animais geneticamente modificados serão caracterizados, tendo o acompanhamento do peso corporal semanalmente da 4ª a 8ª semana de vida. Ademais, na 4ª e 8ª semana, os animais terão o gasto energético aferido por calorimetria indireta em respirometro *Oxymax-CLAMS* (Columbus Instruments, Columbus, OH, EUA) e serão submetidos aos testes de glicemia em jejum, teste de tolerância intraperitoneal à insulina e glicose. Nas idades descritas anteriormente, os animais serão mantidos em jejum *overnight* (12h) para eutanásia por decapitação, serão extraídos o hipotálamo, fígado, tecido adiposo marrom, tecido adiposo branco epigonadal e retroperitoneal para análises de expressão gênica e proteica por RT-qPCR e *Western Blotting*, respectivamente. Dentre os alvos de interesse serão analisados os neuropeptídeos (POMC, α MSH, AgRP e NPY), STAT3/pSTAT3, Akt/pAkt, PEPCK, G6Pase, UCP-1 e pHSL. Para investigar se a sinalização anorexígena da leptina é afetada pela deleção do $\alpha 7$ nAChR, na 7ª semana de vida, parte dos animais $\alpha 7$ nAChRfloxPOMCcre ou $\alpha 7$ nAChRflox (controle genético) terão a implantação de uma cânula por cirurgia estereotáxica. A confirmação do posicionamento da cânula ocorrerá pela presença da resposta dipsogênica após estímulo com angiotensina. Na 8ª semana ocorrerá a administração de leptina ou agonista $\alpha 7$ nAChR (PNU-282987) via intracerebroventricular, parte dos animais receberão os estímulos de leptina por via intraperitoneal. Após o estímulo, os animais serão eutanasiados de acordo com o tempo de ação do fármaco e, então, os tecidos descritos anteriormente serão coletados para análise dos alvos por RT-qPCR e *Western Blotting*. Por outro lado, parte dos animais *knockout* ou não para $\alpha 7$ nAChR serão submetidos ao protocolo de dieta hiperlipídica (4,6 kcal/g; 45% kcal/lipídios) durante 4 semanas. Ao final da manipulação dietética, será mensurado os parâmetros do gasto energético por respirometria, assim como após eutanásia serão avaliadas os genes/proteínas

envolvidas na via de sinalização da homeostase energética no hipotálamo, fígado, tecido adiposo marrom e branco.

Start date: 08-01-2020

End date: 03-30-2024

Last modified: 01-23-2024

Copyright information:

The above plan creator(s) have agreed that others may use as much of the text of this plan as they would like in their own plans, and customize it as necessary. You do not need to credit the creator(s) as the source of the language used, but using any of the plan's text does not imply that the creator(s) endorse, or have any relationship to, your project or proposal

Papel de receptores colinérgicos alfa7nAChR em neurônios POMC hipotalâmicos sobre o controle da homeostase energética em camundongos

Durante a pesquisa coletados dados quantitativos, dentre eles: peso corporal, expressão de mRNA, expressão proteica, peso relativo de órgãos e tecidos, entre outros. Todos os dados anteriores serão provenientes do projeto de doutorado. Os dados primários poderão ser reutilizados para obter dados secundários, a partir de correlações ou fórmulas matemáticas. Os dados serão armazenados em tabelas elaboradas no software excel, gráficos e análises estatísticas serão realizadas no software GraphPad Prism. Os formatos dos dados são compatíveis com armazenamento em sistemas de nuvem (ex. Dropbox ou google drive) que permitem o compartilhamento com os pesquisadores envolvidos, mas também em formatos físicos.

Os dados serão coletados pelo pesquisador, inicialmente descritos em ata destinada exclusivamente para anotações dos experimentos. Os dados serão transferidos para planilhas previamente elaboradas no software excel denominada "planilha de dados do doutorado" e que apresentará abas nomeadas de acordo com as análises realizadas.

Os protocolos experimentais do presente trabalho foram previamente autorizados pela Comissão de Ética em Uso de Animais da UNICAMP sob protocolo número 5553-1/2020. Os dados brutos serão armazenados pelo período mínimo de 5 anos.

Os dados brutos serão mantidos em posse do orientador e do doutorando responsável pela execução do projeto. Contudo, os resultados analisados serão divulgados em formato de artigo em revistas científicas, mas também através do repositório de dissertações e teses da UNICAMP.

Os dados serão armazenados em nuvem (DROPBOX e Google Drive) para livre acesso do pesquisador e do orientador responsável. Contudo, para os backups físicos será utilizado um HD externo. O backup é de responsabilidade do pesquisador que executará a pesquisa. Em caso de incidentes nas plataformas citadas anteriormente, será acionado o suporte das mesmas. O backup físico será disponibilizada uma cópia ao orientador responsável.

Os colaboradores terão acesso ao compartilhamento de dados, contudo será limitado a visualização. O orientador será o único com permissão para edição do material. O sistema de nuvem conta com segurança disponibilizada pelos provedores das plataformas.

Question not answered.

Question not answered.

Os dados serão compartilhados através da plataforma de nuvem (DROPBOX e Google Drive) através da permissão através do email institucional do orientador.

O gerenciamento dos dados será realizado pelo pesquisador executor do projeto.

Question not answered.
