

## Plan Overview

---

*A Data Management Plan created using DMPTool*

**Title:** AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO E RESPOSTA INFLAMATÓRIA FRENTE A INOCULAÇÃO DE TUMOR DE WALKER 256 EM PROLES DE RATAS PINEALECTOMIZADAS

**Creator:** Rodrigo Martins dos santos

**Affiliation:** São Paulo State University (unesp.br)

**Principal Investigator:** José Cipolla Neto

**Data Manager:** José Cipolla Neto

**Project Administrator:** José Cipolla Neto

**Contributor:** Juliano Jefferson da Silva, Maria Nathália de Carvalho Magalhães Moraes Figueira Borges

**Funder:** São Paulo Research Foundation (fapesp.br)

**Template:** Digital Curation Centre (português)

### **Project abstract:**

O papel da melatonina (ME) na gravidez e no desenvolvimento fetal embrionário vem sendo discutido com evidências da conexão entre o desenvolvimento normal do feto e a ME. Sabe-se que o embrião e o feto são dependentes da ME materna, pois a glândula pineal se torna madura após o nascimento. A ME transplacentária possui diversos efeitos na fisiologia do feto como a coordenação do desenvolvimento de órgãos e tecidos periféricos, programação metabólica e imunológica. Há uma estreita relação entre uma gravidez ideal e uma transição saudável para a vida pós-natal. Foi proposto recentemente que um risco elevado de câncer pode surgir advindo de distúrbios crônicos ou interrupções na organização temporal dos ritmos biológicos bem como

baixos níveis circulantes de ME que normalmente ocorrem em paralelo e que acoplam o indivíduo à alternância diária de luz e escuridão. Evidências sugerem que a diminuição da ME leva a um desequilíbrio das secreções de citocinas inflamatórias, mutagênese e dano oxidativo, o que provavelmente resulta na progressão de vários tipos de câncer; além disso a supressão ME também induz a secreção exacerbada de testosterona e estrogênio, o que eleva o risco de câncer de endométrio, ovário, útero e mama. Reforçando os efeitos da ME, já foram demonstrados diversos benefícios em doenças associadas a macrófagos (câncer e infecções parasitárias) regulando as respostas dos macrófagos. Embora as vias específicas que transmitem seus efeitos sobre essas doenças ainda não sejam totalmente compreendidas torna-se necessários grandes esforços experimentais antes da aplicação clínica, pois a ME oferece uma base para o desenvolvimento de terapias promissoras para tratar doenças associadas a macrófagos, como o câncer. Com base nestas evidências, este projeto tem objetivo de verificar se a gestação de mães com supressão ME pode implicar em prejuízos na prole no que se refere a progressão e desenvolvimento tumoral e analisar qual é o envolvimento do sistema imunológico da prole, ou seja hipotetizamos que a gestão com a supressão de ME possa afetar o sistema imune na geração F1 principalmente se considerarmos os efeitos imunomodulares que a ME possui sobre macrófagos e seu fenótipo para estados que inviabilizam a oncogênese. Serão utilizadas 20 ratas Wistar, virgens, com 60 dias, divididas em 2 grupos (n=10): 1) Mães MCTL: ratas prenhes; 2) Mães MPinx: ratas prenhes pinealectomizadas. A ratas do grupo MPinx serão submetidas pinealectomia aos 45 dias de idade, e mantidas sob observação por 15 dias. Após este período, todos os animais serão alocados na disposição de duas ratas e um rato para o acasalamento. Após o parto, somente a prole será mantida para experimentação. Ao final da lactação os animais serão desmamados e divididos em 2 grupos experimentais: proles CTL (PCTL) e Proles Pinx (PPINX). Aos 60 dias de idade as proles dos grupos PPinx e PCTL serão submetidos a inoculação de tumor de Walker-256 e o desfecho do protocolo terá um total de 14 dias. Após esse período será realizada a eutanásia e coletado sangue pela veia cava inferior e o plasma obtido será utilizado para avaliação da citocinas inflamatórias TNF- $\alpha$ , IL-10, IL-12 e IFN- $\gamma$  e TGF $\beta$  pelo método de ELISA. Serão coletadas os tumores para análise histomorfológica por meio de coloração de Eosina e Hematoxilina e imunohistoquímica de macrófagos associados a tumores fenótipo (M1 e M2) para os seguintes marcadores: M1: CD68/iNOS e M2 CD206; expressão proteica e gênica dos alvos: Inflamassoma-NLRP3, AKT, PI3-Kinase e mTOR. A avaliação estatística será realizada por meio da análise de variância ANOVA. A análise estatística para histologia será realizada por meio do teste estatístico de Kruskal Wallis, seguido pelo pós-teste de Dunn. Os valores serão representados como média  $\pm$  erro padrão. Os testes estatísticos serão realizados no programa GraphPad Prism 7.

**Start date:** 01-01-2022

**End date:** 01-01-2024

**Last modified:** 09-04-2023

**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

---

# AVALIAÇÃO DO DESENVOLVIMENTO E RESPOSTA INFLAMATÓRIA FRENTE A INOCULAÇÃO DE TUMOR DE WALKER 256 EM PROLES DE RATAS PINEALECTOMIZADAS

## Coleta de Dados

---

### Que dados serão coletados ou criados?

A partir de ratas pineaectomizadas será avaliada a variação do fenótipo de macrófagos e a progressão do câncer por meio da inoculação de tumor de walker 256 na geração F1 de ratos machos.

Serão obtidos os seguintes dados: 1) Avaliação histomorfológica do tumor por meio por meio da coloração de Eosina e Hematoxilina; 2) Dados de Imunohistoquímica da variação fenotípica de macrófagos associados a tumores fenotipo (M1 e M2); 3) Dados sobre expressão proteica e gênica do Tumor de Walker (Inflamassoma- NLRP3, AKT, PI3-Kinase e mTOR) 4) Avaliação das citocinas plasmáticas pelo método de ELISA: TNF- $\alpha$ , IL-10, IL-12, IFN- $\gamma$  e TGF $\beta$ ;

### Como os dados serão coletados ou criados?

Procedimentos para obtenção de dados serão padronizados segundo descrições mais atualizadas da literatura pertinente e/ou segundo as instruções dos fornecedores dos reagentes. Outros procedimentos para assegurar a qualidade dos dados gerados serão 'incluídos' no desenho experimental, como controles negativo e positivo, curvas-padrão e treinamento adequado nos procedimentos e métodos.

Relevância e reprodutibilidade biológica nos experimentos in vitro serão assegurados pela realização de experimentos independentes, avaliados em triplicata

## Documentação e Metadados

---

### Que documentação e metadados acompanharão os dados?

Todo experimento realizado no projeto será documentado diariamente em cadernos ATA (físicos com anotações manuscritas) incluindo todos os detalhes do procedimento e possíveis intercorrências. Esses dados ainda serão registrados em relatórios/planilhas e sistematizados com a finalidade de demonstrar todos os procedimentos metodológicos aplicados na evolução da pesquisa.

## Ética e Conformidade Legal

---

### **Como você administrará qualquer questão ética?**

As metodologias empregadas neste estudo estarão embasadas na literatura e seguirão rigorosamente os princípios éticos estabelecidos pelos órgão competentes (Comissão de Ética no Uso dos Animais (CEUA))

### **Como você vai gerenciar os direitos autorais e os direitos de propriedade intelectual (IP / IPR)?**

Os direitos autorais dos artigos científicos produzidos a partir do presente projeto de pesquisa serão do periódico que o publicará, avaliado pelos autores, e cumprindo as normas relacionadas com a citação das agências que fomentaram a pesquisa

## Armazenamento e Backup

---

### **Como os dados serão armazenados e terão backup durante a pesquisa?**

Os dados serão armazenados em nuvem do Google Drive. O acesso ocorrerá por meio de e-mail institucional. Como medida de segurança será realizado backup dos arquivos serão feitos em tempo real a partir do aplicativo Google Drive. Além disso semanalmente será realizado back-up adicional em Disco Rígido externo protegido por senha.

### **Como você vai gerenciar o acesso e a segurança?**

Os acessos aos dados serão restritos ao pesquisador e orientador. A pesquisadora irá garantir a segurança dos dados com backup. Após a publicação, acesso ilimitado, gratuito e público aos dados será concedido conforme normativas locais ou da revista científica a qual será destinada a publicação

## Seleção e Preservação

---

### **Quais dados são de valor a longo prazo e devem ser mantidos, compartilhados e / ou preservados?**

Todos os dados obtidos neste projeto serão consideradas como tendo valor para armazenamento a médio e longo prazo, considerando a política "Open Science" e a possibilidade de que os dados e

informações (mesmo não publicados) possam ser úteis para outros pesquisadores ou como interesse público. Logo, todos os dados gerados serão gerenciados e o compartilhamento destes dados será feita segundo a política 'Open Science', respeitando as políticas e regulamentações específicas aplicáveis pela Agência FAPESP relacionadas à propriedade intelectual e as restrições de compartilhamento de dados ainda não publicados. Versões brutas dos dados analisados serão preservadas indefinidamente.

### **Qual é o plano de preservação a longo prazo do conjunto de dados?**

O prazo mínimo de 12 meses após o término da vigência da proposta junto à agência de fomento manteremos todos os arquivos de segurança neste período (nuvem, cadernos ATAs, Driver Externo). Após esse período, cópias independentes do conjunto de dados serão feitas em dois hard drives portáteis distintos e estes dispositivos físicos serão mantidos sob a guarda dos responsáveis nesta proposta indefinidamente.

### **Compartilhamento de Dados**

---

#### **Como você vai compartilhar os dados?**

Enquanto não publicados ou em fase de publicação, apenas o pesquisador principal e o responsável/supervisor terão acesso irrestrito a todos os dados armazenados em nuvem ou discos externos. Pesquisadores interessados nos dados poderão ter contato com os dados por meio de publicações, apresentações/palestras ou por meio de apresentações em eventos científicos. O acesso à conjuntos completos de dados poderão ser solicitados por outros interessados após a publicação dos dados, segundo a política de 'Open Science'. Em todos os casos, deverão ser dado créditos à equipe de pesquisa e à agência financiadora (FAPESP), em caso de aceite do trabalho.

#### **Existem restrições ao compartilhamento de dados requeridos?**

Os responsáveis poderão compartilhar dados e informações geradas nesta proposta livremente após a publicação do manuscrito que inclui o conjunto de dados em questão, desde que seja dado crédito adequado à equipe de pesquisa e agência financiadora (FAPESP), em caso de aceite do projeto. Os dados poderão ser compartilhados por meio de cópias impressas ou eletronicamente. O presente estudo não gerará dados confidenciais, de modo que não haverá restrições ao compartilhamento de dados.

### **Responsabilidades e Recursos**

---

#### **Quem será responsável pelo gerenciamento de dados?**

---

Serão respeitadas todas as políticas de armazenamento de dados intelectuais da FAPESP, sob responsabilidade coordenadora da proposta, Professor Titular Drº José Cipolla Neto

**Quais recursos você precisará para entregar seu plano?**

A USP Universidade de São Paulo, juntamente com o Departamento de Fisiologia e Biofísica irá fornecer toda a infraestrutura e suporte necessários para desenvolvimento e disponibilização dos dados, como conexões à internet WiFi seguras e encriptadas, suporte de pessoal de tecnologia da informação (TI) na manutenção do acesso à rede e internet, suporte específico e necessária à execução do plano de gerenciamento de dados.

---