

Projeto: Estresse e neuroinflamação: impactos no comportamento de ansiedade e controle respiratório. **Pesquisadora**

Responsável: Dra. Luana Tenorio Lopes

PLANO DE GESTÃO DE DADOS

1. COLETA DE DADOS:

Que dados serão coletados ou criados? Neste projeto produziremos dados quantitativos e qualitativos textuais e numéricos, com arquivos de extensões .doc, .jpg e .pdf. Não serão reutilizados dados de nenhuma outra pesquisa.

-Variáveis fisiológicas: registros de temperatura corporal, ventilação, volume corrente, frequência respiratória, consumo de oxigênio, duração e a latência de episódios de sono e vigília em camundongos (Protocolos 1, 2 e 10).

-Variáveis comportamentais relacionados à ansiedade: comportamento de imobilidade, levantar-se e auto-limpeza (todos registrados durante o teste agudo de inalação de 7% de CO₂). Adicionalmente, registraremos comportamentos de ansiedade em um grupo separado de animais (Protocolo 1, 10).

- Cortes histológicos contendo marcação para micróglia no hipotálamo (dorsomedial e área pré-fornical) (Protocolo 3, 10).

- Dosagem de interleucinas centrais e periféricas em camundongos (Protocolo 4).

- Análise qualitativa da expressão de micróglia escura no hipotálamo (Protocolo 5).

- Mapeamento de possíveis áreas com sinais de neuroinflamação (Protocolo 6).

- Registros eletrofisiológicos dos neurônios do hipotálamo e micróglia (Protocolos 7 e 8).

- Efeito do bloqueio seletivo do sistema orexinérgico nas variáveis respiratórias, ciclo-sono-vigília e ativação microglial (Protocolo 9).

- Efeitos da intervenção terapêutica com ao uso de composto psicodélico de forma aguda e crônica nas variáveis respiratórias, ciclo-sono-vigília e ativação microglial (Protocolo 10).

Os dados relacionados a todos registros fisiológicos descritos acima serão coletados por computadores por meio de softwares específicos para cada tipo de protocolo. Outros dados relacionados ao comportamento serão filmados para posterior análise. O material histológico será mantido em lâminas histológicas (serão fotografadas) e salvas para posterior análise.

Como os dados serão coletados ou criados? Para indução do modelo de ansiedade, os animais serão expostos à duas abordagens conjuntas: protocolo de separação materna neonatal entre P3-P12 (ver anexo metodologia) e exposição à hipercapnia na fase adulta (7% CO₂).

- Variáveis fisiológicas serão coletadas através de experimentos de pletismografia de corpo inteiro, sistema de calorimetria indireta, EEG/ECG para análise de ciclo sono-vigília, introdução de probe no animal para medida de temperatura corporal.

- Variáveis comportamentais serão coletadas através da filmagem do comportamento durante a exposição à hipercapnia e durante os testes de labirinto em cruz elevado, caixa claro-escuro, campo aberto e teste de sucrose.

- Os dados para análise de neuroinflamação serão coletados através de imuno-histoquímica mostrando a ativação microglial no hipotálamo e medida do perfil inflamatório observado através de medidas de citocinas inflamatórias e pró-resolutivas centrais (técnica de *punch*) e periféricas (medidas pelo plasma sanguíneo) via RT-PCR e ELISA.

- Os dados de análise da expressão de micróglia escura serão coletados através de protocolo de imuno-histoquímica para marcação de Iba-1 e osmium para obtenção de imagens de microscopia eletrônica de varredura para caracterização da expressão de micróglia escura e análise de biomarcadores de estresse celular.

- Os dados de mapeamento de possíveis áreas centrais de neuroinflamação serão coletados através de experimentos de neuroimagem (PET scan).

- Os dados sobre os registros eletrofisiológicos de micróglia serão coletados através do registro da expressão e densidade das correntes voltagem-dependentes de K⁺ (outward (IK; MP = +50 mV) e inward (IKir; MP = -150 mV); Registros eletrofisiológicos de neurônios (para estudo de interação neurônio-micróglia) serão coletados através do registro das correntes pós-sinápticas excitatórias espontâneas e evocadas através da técnica de *patch-clamp*.

- Os dados sobre o bloqueio do sistema orexinérgico serão coletados através de técnica de DREADDs.

- Os dados sobre efeito da intervenção terapêutica com psicodélico, serão coletados através da administração de ayahuasca via gavagem seguida da exposição dos animais a testes de medidas respiratórias, ciclo sono-vigília, imuno-histoquímica para avaliação de ativação microglial e testes comportamentais.

Todos os dados gerados serão colocados no formato de planilhas, gráficos e tabelas no Google Drive organizados em pastas nomeadas de acordo com cada protocolo sob a responsabilidade da pesquisadora responsável.

2. DOCUMENTAÇÃO E METADADOS:

Que documentação e metadados acompanharão os dados? Os dados do projeto serão compartilhados via Google Drive da pesquisadora responsável que conterá uma pasta específica para o projeto aqui proposto, e no qual será atualizado a cada 90 dias com os dados brutos, os dados tratados, manuscritos iniciais, manuscritos corrigidos, com as recomendações dos revisores e os artigos aceitos na forma de PROOF e material suplementar (quando houver). Os dados também ficam armazenados nos computadores do laboratório que utilizamos para coleta de dados.

3. ÉTICA E CONFORMIDADE LEGAL:

Como você administrará qualquer questão ética? O estudo será conduzido de acordo com as diretrizes da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório (SBCAL) e da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Universidade Estadual Paulista.

Como você vai gerenciar os direitos autorais e os direitos de propriedade intelectual (IP / IPR)? A execução do projeto não produzirá resultado potencialmente objeto de Patente de Invenção. Os resultados serão submetidos para publicação em revistas científicas e o Copyright seguirá a política de cada revista em relação aos embargos.

4. ARMAZENAMENTO, BACKUP E SEGURANÇA:

Como os dados serão armazenados e terão backup durante a pesquisa? Todos os dados gerados serão armazenados no formato de planilhas, gráficos e tabelas no Google Drive gerenciadas pelo pesquisador principal, antes de serem publicados. Todos os pesquisadores associados envolvidos no projeto terão acesso à essas planilhas como editores através de acesso com e-mail institucional. Outros membros do grupo de pesquisa envolvidos neste projeto terão acesso aos arquivos como leitores. Todas as imagens fotografadas das lâminas histológicas, serão gravadas em HDs externos e adicionadas ao Google Drive, bem como as imagens de microscopia eletrônica e neuroimagem. Somente os pesquisadores associados ao projeto terão acesso ao Google Drive via e-mail institucional e o acesso será protegido por senha.

5. SELEÇÃO E PRESERVAÇÃO

Quais dados são de valor a longo prazo e devem ser mantidos, compartilhados e / ou preservados? Os dados de valor são os que realmente representem um avanço para nosso campo de pesquisa e que forem publicados. Eles serão preservados e os dados irrelevantes serão descartados após período de 1 ano. Após publicação, os dados relevantes selecionados, serão preservados conforme descrito na questão abaixo. O acesso aos dados brutos, poderá ser solicitado entrando em contato com os autores.

Qual é o plano de preservação a longo prazo do conjunto de dados? Os dados relevantes bem como teses e dissertações com acesso permitido desta pesquisa serão armazenados no Repositório Institucional Unesp (<https://repositorio.unesp.br/>). A longo prazo pretende-se manter bancos de armazenamento digital, uma vez que são seguros e com validade indeterminada para uso. O armazenamento físico, também será feito utilizando HD externo. O material histológico será mantido em lâminas histológicas e guardados por até 5 anos após publicações. Todas as lâminas serão fotografadas e as imagens serão gravadas em HDs externos e adicionadas ao Google Drive por tempo indeterminado.

6. COMPARTILHAMENTO DE DADOS: Como você vai compartilhar os dados? Os manuscritos serão submetidos para publicação em revistas indexadas e revisadas por pares de alta qualidade. As conclusões serão apresentadas em conferências nacionais ou internacionais relevantes sobre neurociência, fisiologia e psiquiatria. Os dados serão disponibilizados após a publicação científica. Também pretendemos publicar parte dos resultados em formato pré-prints no biorxiv (<https://www.biorxiv.org/>) para agilizar a comunicação e divulgação de manuscritos gratuitamente. Os dados brutos serão compartilhados durante o projeto (via Google Drive) somente com os envolvidos do projeto. Porém após publicação, os interessados poderão solicitar acesso aos dados bruto entrando em contato com a pesquisadora responsável. Contudo, os resultados obtidos das análises estatística serão compartilhados via dissertações, teses e publicações de resumos em eventos e artigos em revistas indexadas e adicionados no repositório da Unesp (<https://repositorio.unesp.br/>). Os dados não publicados serão parcial e / ou totalmente divulgados em eventos científicos. Os resultados mais promissores serão elaborados como artigos originais de pesquisa para submissão em periódicos da área. Após a publicação dos dados, preferencialmente em periódicos *open access*, os dados serão adicionados no Repositórios da Unesp, na Rede de Repositórios de Dados Científicos do Estado de São Paulo.

7. RESPONSABILIDADE E RECURSOS: A administração dos dados estará a cargo da pesquisadora responsável.