Plan Overview

A Data Management Plan created using DMPonline

Title: Efeitos dos contaminantes ambientais terbacil e bromacil no metabolismo lipídico pró-esteatótico em cultura celular hepática e correlações com o metabolismo de uracila e a processos epigenéticos seguido de estudo translacional em Drosophila melanogaster

Creator: Karen Critiane Martinez de Moraes

Contributor: Osmar Malaspina, Jacques Montagne, Marcos Túlio de Oliveira

Affiliation: Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho

Template: DCC Template

Project abstract:

Atualmente, as doenças hepáticas de acúmulo de gordura e não alcoólicas (NAFLD) são consideradas um problema de saúde pública mundial. Essas patogenias se caracterizam pelo acúmulo excessivo de gordura no fígado causado por diferentes etiologias que podem evoluir a quadros clínicos mais graves. Mundialmente a utilização descomedida de produtos químicos resultam no acúmulo dessas substâncias no meio ambiente, que podem ser potencialmente tóxicas. No Brasil e em várias regiões do mundo, contaminantes ambientais como os pesticidas são utilizados em larga escala, alguns dos quais apresentando alta meia-vida como os baseado na estrutura de uracila (terbacil e bromacil). Estes por sua vez, acumulam-se no meio ambiente que de maneira direta ou indireta afetam o homem e outros animais não alvo, colaborando com o desenvolvimento e evolução de doenças hepáticas. Porém, faltam estudos sobre mecanismos de atuação desses contaminantes ambientais nos processos metabólicos e na regulação da sinalização celular que conduzem ao estabelecimento das patogenias. Esses esclarecimentos poderão colaborar com inovações biotecnológicas, auxiliando na identificação de moléculas a serem utilizadas como marcadores moleculares na caracterização do estadiamento das doenças hepáticas, por exemplo. Em proposta anterior apoiada pela FAPESP, estabelecemos modelos de coculturas de células hepáticas, responsivas a agentes químicos e simuladoras de um ambiente pró-esteatótico. Assim, na presente proposta objetiva-se utilizar tal modelo de estudo para se investigar a atuação mecanística dos contaminantes terbacil e bromacil no equilíbrio celular e no possível estabelecimento de um ambiente pró-esteatótico nessas culturas, correlacionando a mecanismos epigenéticos e da biossíntese de pirimidinas. Para isso, ensaios bioquímicos, celulares e moleculares serão realizados objetivando-se a construção de um painel da atuação dos compostos na saúde celular. Com a integração dos resultados, esperamos identificar moléculas expoentes, comuns às sinalizações induzidas nas culturas incubadas com os dois contaminantes, que potencialmente atuam no estabelecimento do quadro pró-esteatóticos. Essas moléculas, por sua vez, serão avaliadas em análises funcionais envolvendo ensaios de silenciamento ou superexpressão gênica. Na sequência, e objetivando-se implementar o modelo alternativo animal de *Drosophila melanogaster* como modelo translacional para o estudo de doenças hepáticas, os efeitos dos contaminantes ambientais serão avaliados nesse animal em ensaios bioquímicos, celulares e moleculares, como descrito para o modelo celular, objetivando-se avaliar o paralelismo entre os modelos. As análises conjuntas (modelo celular e *Drosophila*) nortearão as modificações genética a serem realizadas nas mosca-de-fruta, utilizando-se o sistema binário GAL4/UAS, numa tentativa de se validar as análises celulares de maneira sistêmica.

Atualmente, as doenças hepáticas de acúmulo de gordura e não alcoólicas (NAFLD) são consideradas um problema de saúde pública mundial. Essas patogenias se caracterizam pelo acúmulo excessivo de gordura no fígado causado por diferentes etiologias que podem evoluir a quadros clínicos mais graves. Mundialmente a utilização descomedida de produtos químicos resultam no acúmulo dessas substâncias no meio ambiente, que podem ser potencialmente tóxicas. No Brasil e em várias regiões do mundo, contaminantes ambientais como os pesticidas são utilizados em larga escala, alguns dos quais apresentando alta meia-vida como os baseado na estrutura de uracila (terbacil e bromacil). Estes por sua vez, acumulam-se no meio ambiente que de maneira direta ou indireta afetam o homem e outros animais não alvo, colaborando com o desenvolvimento e evolução de doenças hepáticas. Porém, faltam estudos sobre mecanismos de atuação desses contaminantes ambientais nos processos metabólicos e na regulação da sinalização celular que conduzem ao estabelecimento das patogenias. Esses esclarecimentos poderão colaborar com inovações biotecnológicas, auxiliando na identificação de moléculas a serem utilizadas como marcadores moleculares na caracterização do estadiamento das doenças hepáticas, por exemplo. Em proposta anterior apoiada pela FAPESP, estabelecemos modelos de coculturas de células hepáticas, responsivas a agentes químicos e simuladoras de um ambiente pró-esteatótico. Assim, na presente proposta objetiva-se utilizar tal modelo de estudo para se investigar a atuação mecanística dos contaminantes terbacil e bromacil no equilíbrio celular e no possível estabelecimento de um ambiente pró-esteatótico nessas culturas, correlacionando a mecanismos epigenéticos e da biossíntese de pirimidinas. Para isso, ensaios bioquímicos, celulares e moleculares serão realizados objetivando-se a construção de um painel da atuação dos compostos na saúde celular. Com a integração dos resultados, esperamos identificar moléculas expoentes, comuns às sinalizações induzidas nas culturas incubadas com os dois contaminantes, que potencialmente atuam no estabelecimento do quadro pró-esteatóticos. Essas moléculas, por sua vez, serão avaliadas em análises funcionais envolvendo ensaios de silenciamento ou superexpressão gênica. Na sequência, e objetivando-se implementar o modelo alternativo animal de *Drosophila melanogaster* como modelo translacional para o estudo de doenças hepáticas, os efeitos dos contaminantes ambientais serão avaliados nesse animal em ensaios bioquímicos, celulares e moleculares, como descrito para o modelo celular, objetivando-se avaliar o paralelismo entre os modelos. As análises conjuntas (modelo celular e *Drosophila*) nortearão as modificações genética a serem realizadas nas mosca-de-fruta, utilizando-se o sistema binário GAL4/UAS, numa tentativa de se validar as análises celulares de maneira sistêmica.

ID: 100570

Start date: 22-08-2022

End date: 22-08-2024

Last modified: 20-05-2022

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 customise 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

Efeitos dos contaminantes ambientais terbacil e bromacil no metabolismo lipídico pró-esteatótico em cultura celular hepática e correlações com o metabolismo de uracila e a processos epigenéticos seguido de estudo translacional em Drosophila melanogaster

Data Collection

What data will you collect or create?

Dados correlatos aos efeitos moleculares, celulares e bioquímicos sobre o efeito dos contaminantes ambientais terbacil e bromacil na indução do metabolismo pró-esteatótico hepático não alcoólico serão gerados a partir de investigações mecanísticas em co-cultura de células hepáticas e no modelo alternativo animal de Drosophila melanogaster, como uma ferramenta de investigação translacional.

Os ensaios irão avaliar a possível potencialidade de contaminantes que apresentam alta estabilidade e que se acumulam no meio ambiente, apresentando potencialidade de alterar vias metabólicas centrais para a homeostase celular e sistêmica tais como o metabolismo lipídico, o metabolismo de uracila e processos epigenéticos. Para acessar essas alterações e avaliar a potencialidade toxicológica e molecular dos contaminantes ambientais dados serão criados pelas análises conjuntas de metabólitos (lipídeos, glicose, saúde mitocondrial, análises de alterações epigenéticas de histonas e do material nuclear, bem como de alterações moleculares na expressão de genes) em modelo celular. Na sequência, pretende-se validar a funcionalidade de resultados significativos no modelo
translacional de *Drosophila melanogaster* em ensaios bioquímicos, celulares e moleculares, além da realização de alterações genéticas nas mosca-de-fruta, utilizando-se o sistema binário GAL4/UAS, para implementação e a difusão da utilização desse modelo animal no estudo de patogenias hepáticas, como estratégia biotecnológica.

Todos os resultados serão tabulados e armazenados em fotografias, tabelas e gráficos (.doc, .xls, jpeg entre outros) e backup apropriados serão preparados e disponibilizados a terceiros mediante solicitação ao coordenador do projeto e colaboradores.

How will the data be collected or created?

Os dados serão coletados pela realização de ensaios biológicos: análises celulares, moleculares e bioquímicos, adaptando-se ou seguindo protocolos e metodologias descritas na literatura e mesmo pela realização de novas padronizações e estabelecimento de novos protocolos, de acordo com as necessidades do projeto em desenvolvimento. Controles experimentais negativos e positivos de cada ensaio serão realizados. Além disso, todos os ensaios serão repetidos no mínimo 3 vezes.

Os resultados também serão armazenados de maneira organizada e de fácil acesso, permitindo a identificação dos mesmos de maneira eficiente. A organização dos resultados permitirá avaliar eficazmente as rotas metabólicas ativadas em nossos modelos de investigação da doença hepática gordurosa. O conjunto dessas informações armazenadas em computadores pessoais e discos rígidos (HDs) externos servirão de norteadores da interpretação de rotas metabólicas alteradas pelos contaminantes ambientais em análise.

Esses resultados serão depositados em repositório da UNESP tão logo publicados.

Documentation and Metadata

What documentation and metadata will accompany the data?

Tabelas, gráficos e figuras serão preparados para se assegurar que todas as pessoas possam ter acesso aos dados e interpretar seus resultados. As análises estatísticas também serão realizadas e os resultados serão armazenados em computadores pessoais, discos rígidos e ambientes virtuais como nuvens e drives. Além disso, todos, que por alguma razão, poderão ter acesso a integridade dos resultados, e mesmo das
metodologias utilizadas na execução experimental do estudo, quando em caso de dúvidas, solicitando-as diretamente ao PI do projeto.

Ethics and Legal Compliance

How will you manage any ethical issues?

A presente proposta de investigação se embasa em estudo realizado com linhagens celulares humanas comerciais e no modelo alternativo de Drosophila melanogaster, os quais não necessitam de aprovação de comitês de ética em pesquisa.
Ainda, considerando-se questões éticas, todos os pesquisadores do laboratório terão livre acesso aos dados.

How will you manage copyright and Intellectual Property Rights (IPR) issues?

Os dados processados serão disponibilizados tão logo produzidos. Os dados brutos serão liberados após a publicação dos resultados como artigos e trabalhos acadêmicos, ou 2 anos após o término do projeto.

Storage and Backup

How will the data be stored and backed up during the research?

Durante o desenvolvimento do projeto os dados serão estocados em computadores pessoais e discos rígidos com backups virtuais em Google drive, por exemplo. O coordenador da proposta ficará responsável por gerenciar o armazenamento dos dados e estratégias de segurança do armazenamento.

How will you manage access and security?

Todos os pesquisadores dos laboratório e os colaboradores terão acesso aos dados brutos, os dados estocados em disco rígido e os estocados em ambientes virtuais (nuvens). Entretanto, para se ter acesso a essas informações, os pesquisadores deverão solicitar acesso ao responsável pelo projeto. No mais, os dados serão seguros por senhas fortes,
onde somente o PI terá acesso a mesma.

Selection and Preservation

Which data are of long-term value and should be retained, shared, and/or preserved?

Os dados serão compartilhados em toda comunidade científica como artigos científicos, dissertações, teses e/ ou patentes. Além disso, pesquisadores que se interessem pelas informações e requeiram acesso aos dados terão que solicitá-los de maneira formal ao pesquisador responsável pelo projeto e a identificação do solicitante será a garantia do respeito e ética no tratamento dos dados aos quais foram solicitados o acesso.

What is the long-term preservation plan for the dataset?

O conjunto de dados gerados serão preservados e disponibilizados por tão longo exista o repositório institucional no qual este será depositado. Certamente, os resultados publicados serão compartilhados e depositados com o repositório institucional da UNESP. ao qual a coordenadora do projeto e alguns dos colaboradores se vinculam).

Data Sharing

How will you share the data?

Os dados serão disponibilizados a qualquer tempo sob requisição formal aos responsáveis pelo projeto. Também se planeja compartilhar os resultados brutos gerados em repositórios para se facilitar o acesso dos mesmos.

Are any restrictions on data sharing required?

Não há restrição para o compartilhamento de dados.

Responsibilities and Resources

Who will be responsible for data management?

O gerenciamento dos dados será realizado pelo pesquisador responsável pelo projeto. A equipe ajudará na captura das informações e organização de arquivos quando necessário.

What resources will you require to deliver your plan?

Nenhuma requisição.