



- ○ **Cadastrar**
- ○ **[Formulário Ensino](#) [Formulário Pesquisa](#) [Adendo a Formulário Pesquisa](#) [Adendo a Formulário Ensino](#)**
- ○ **Formulários**
- **[Meus formulários](#) [Sob minha responsabilidade](#)**
- **Relatórios**
- **Orientações Médico-Veterinárias**
- **Sair**

<b>Cadastro de Protocolo de Pesquisa para uso de animais em pesquisa</b>	
<p>- Após 01/08/2017 não será mais feito protocolamento inicial de formulários na versão impressa.            Os protocolos que forem recebidos no banco de dados da CEUA/UNICAMP serão automaticamente numerados e analisados e somente após aprovação final pela CEUA/UNICAMP deverão ser entregues na versão impressa e assinada pelo docente responsável e pelo executor.</p> <p>Importante: antes do preenchimento do formulário leia atentamente as recomendações da CEUA/UNICAMP disponíveis em <a href="http://www.ib.unicamp.br/comissoes/ceua_formularios">http://www.ib.unicamp.br/comissoes/ceua_formularios</a></p>	
<b>Nº protocolo</b>	5591-1/2020
<b>Data de envio à CEUA</b>	26/08/2020
<b>Dados do remetente</b>	
<b>Nome</b>	Licio Augusto Velloso
<b>E-mail</b>	lavelloso.unicamp@gmail.com
<b>1 Prazo</b>	
	<b>Início</b> 01/09/2020 <b>Término</b> 31/08/2024
<b>2 Título do projeto</b>	
<b>Título do projeto</b>	Avaliação dos efeitos da inibição seletiva de BDNF em neurônios hipotalâmicos FezF1 e Kiss1 sobre a regulação do metabolismo energético e da termogênese
<b>Área de conhecimento</b>	Fisiopatologia
<b>3 RESPONSÁVEL</b>	
<b>Matrícula</b>	283148
<b>Nome completo</b>	Licio Augusto Velloso
<b>Instituição</b>	UNICAMP
<b>Unidade</b>	FCM - Faculdade de Ciências Médicas
<b>Departamento / Disciplina</b>	Clínica Médica
<b>Experiência prévia</b>	Sim Quanto tempo? 20 anos
<b>Treinamento</b>	Sim Quanto tempo? 6 anos
<b>Vínculo com a instituição</b>	Docente / Pesquisador
<b>Telefone</b>	19 35210025
<b>Localização</b>	Laboratório de Sinalização Celular - FCM / UNICAMP
<b>E-mail</b>	lavelloso.unicamp@gmail.com
<b>3.1 Executores</b>	
<b>Nome completo</b>	Dayana Cabral da Silva
<b>Instituição</b>	UNICAMP
<b>Nível acadêmico</b>	Doutorado
<b>Experiência prévia (anos)</b>	3,5 anos
<b>Treinamento (especificar)</b>	IC e Mestrado
<b>Telefone</b>	(11) 94191-5153
<b>E-mail</b>	scabral.dayana@gmail.com

4 Colaboradores								
<b>5 RESUMO DO PROJETO/AULA (Não usar siglas e abreviaturas)</b>		Distúrbios no metabolismo energético estão correlacionados com o desenvolvimento de doenças como obesidade e diabetes mellitus tipo 2. O hipotálamo tem papel central no controle desse balanço através da produção e liberação de neuropeptídeos que geram respostas como o controle da fome, ingestão de alimentos e o estímulo da termogênese no tecido adiposo marrom. O BDNF é um fator neurotrófico envolvido na promoção e regulação da neurogênese, e na diferenciação e sobrevivência de neurônios. Estudos indicam que o brain derived neurotrophic factor (BDNF) é um mediador importante no processo de neurogênese hipotalâmica em resposta a sinais regulatórios da homeostase energética. Dados obtidos a partir da análise dos diferentes tipos celulares no hipotálamo por single-cell RNAseq, identificaram que os neurônios que expressam BDNF são as subpopulações Fezf1 e Kiss1. A partir destes dados, o objetivo do projeto é inibir a expressão de BDNF nessas populações neuronais e avaliar os impactos no metabolismo energético e na termogênese.						
<b>6 Objetivos (na íntegra) (Não usar siglas e abreviaturas)</b>		A proposta do presente estudo é avaliar se a inibição da expressão de BDNF nas subpopulações neuronais Kiss1 e Fezf1 gera alterações no metabolismo energético e na termogênese no tecido adiposo marrom.						
<b>7 Justificativa</b>		O aumento na incidência de doenças metabólicas se tornou um dos maiores problemas de saúde do século XXI, a elucidação e modulação de mecanismos moleculares envolvidos no controle do metabolismo energético tem sido alvo de diversos estudos nas últimas décadas. Segundo a Organização Mundial da Saúde em 2016 1,9 bilhões de adultos possuíam sobrepeso e desses, 650 milhões eram obesos. No Brasil, dados de 2018 atestam que 55,7% da população adulta está com sobrepeso e 19,8% obesa. Obesidade está associada com aumento da taxa de mortalidade e diversas comorbidades, como diabetes mellitus tipo 2, dislipidemia, doenças cardiovasculares, etc. Um estudo de 2007 calculou que cerca de 9% dos gastos do SUS com hospitalizações eram devido ao sobrepeso e suas comorbidades. Estudos que auxiliem no desenvolvimento de tratamentos e métodos de prevenção de tais doenças são importantes visto que o Brasil é um país em desenvolvimento e a diminuição de gastos evitáveis são cruciais para a manutenção do sistema de saúde. Neste contexto o hipotálamo regula o balanço energético e o BDNF é fator fundamental na neurogênese em resposta a sinais regulatórios da homeostase energética nessa região. A modulação da ingestão alimentar e o estímulo da termogênese no tecido adiposo marrom tem sido correlacionados com a expressão de BDNF hipotalâmico. Estudos demonstram correlações entre as subpopulações Kiss1 e Fezf1 e o metabolismo energético e o BDNF se mostrou como um potencial mediador de tais efeitos.						
<b>8 Relevância</b>		O presente estudo tem potencial para contribuir com o entendimento acerca dos mecanismos moleculares da expressão de BDNF nas subpopulações neuronais Kiss1 e Fezf1 e os efeitos na modulação do metabolismo energético. Ademais, ampliará o conhecimento acerca do papel do BDNF hipotalâmico na termogênese induzida no tecido adiposo marrom. Dessa forma, poderá contribuir com novas informações para o entendimento dos mecanismos moleculares acerca do desenvolvimento de doenças metabólicas como a obesidade, com capacidade de desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas bem como potenciais métodos de prevenção.						
9 MODELO ANIMAL								
<b>Espécie ou grupo taxonômico (nome vulgar, se existir)</b>		Roedor, Mus musculus (camundongos da linhagem Kiss1-CreGFP e Fezf1-CreGFP) Exemplo: Roedor, Mus musculus, camundongos. A linhagem é opcional, mas uma vez descrita deve estar em acordo com o item 9.2						
<b>Justificar o uso da espécie animal escolhida</b>		Modelo utilizado para avaliar a expressão condicional de substâncias nas subpopulações neuronais alvo do presente de estudo						
9.1 PROCEDÊNCIA								
<b>Biotério, fazenda, aviário etc.</b>		Jackson Laboratory e Biotério de Produção e Experimentação da USP. Vide item 13.						
<b>Localização</b>		USA e USP						
<b>Animal silvestre</b>		Não						
<b>Outra procedência?</b>		Não						
<b>O animal é geneticamente modificado?</b>		Sim Número do CQB: 072/98						
<b>9.2. Tipo e Característica</b> (É obrigatório o preenchimento de cada grupo separadamente)								
DEVE SER INFORMADO NOME E LINHAGEM COMPLETA DO ANIMAL: <a href="http://www.cemib.unicamp.br/servicos/cadastro_linhagens.php">http://www.cemib.unicamp.br/servicos/cadastro_linhagens.php</a> .								
Grupo	Animal	Linhagem	Quantidade			Idade	Peso aprox.	Grau de invasividade
			M	F	Subtotal			
1	Camundongo transgênico	Tg(Kiss1-cre)J2-4Cfe	5	5	10	8.00 Semanas	20.00 Gramas	3
	<b>Descrição</b>	Grupo Imuno Controle – Kiss1: Para avaliar a expressão de marcadores de ativação do tecido marrom adiposo frente a inibição da expressão de BDNF em neurônios Kiss1 os animais ao atingirem 8 semanas de vida serão submetidos à cirurgia estereotáxica para a injeção do vetor viral adeno-associado recombinante no hipotálamo. Após 15 dias os animais serão eutanasiados, perfundidos, o tecido adiposo marrom removido, pós-fixado em paraformaldeído 4% e crioprotetidos em solução de sacarose 30%. O tecido adiposo marrom será seccionado em cortes de 30µm em criostato e montados em lâminas. Será realizada imunomarcção para UCP1.						
2	Camundongo transgênico	Tg(Kiss1-cre)J2-4Cfe	5	5	10	8.00 Semanas	20.00 Gramas	3
	<b>Descrição</b>	Grupo Imuno iBDNF – Kiss1: Para avaliar a expressão de marcadores de ativação do tecido marrom adiposo frente a inibição da expressão de BDNF em neurônios Kiss1 os animais ao atingirem 8 semanas de vida serão submetidos à cirurgia estereotáxica para a injeção do vetor viral adeno-associado recombinante no hipotálamo. Após 15 dias os animais serão eutanasiados, perfundidos, o tecido adiposo marrom removido, pós-fixado em paraformaldeído 4% e crioprotetidos em solução de sacarose 30%. O tecido adiposo marrom será seccionado em cortes de 30µm em criostato e montados em lâminas. Será realizada imunomarcção para UCP1.						
3	Camundongo	Tg(Kiss1-cre)J2-4Cfe	5	5	10	8.00 Semanas	20.00 Gramas	3
CEUA/UNICAMP Caixa Postal 6109 13083-970 Campinas, SP - Brasil Protocolo: 5591-1/2020							Telefone: (19) 3521-6359 Telefax: (19) 3289-3124 E-mail: <a href="mailto:cmisib@unicamp.br">cmisib@unicamp.br</a> <a href="http://www.lb.unicamp.br/ceea">http://www.lb.unicamp.br/ceea</a>	

	transgênico							
	<b>Descrição</b>	Grupo WB Controle – Kiss1: Para avaliar a expressão de marcadores de ativação do tecido marrom adiposo frente a inibição da expressão de BDNF em neurônios Kiss1, os animais ao atingirem 8 semanas de vida serão submetidos à cirurgia estereotáxica para a injeção do vetor viral adeno-associado recombinante no hipotálamo. Após 15 dias os animais serão eutanasiados e o tecido adiposo marrom removido para análise de UCP-1, $\beta$ 3-AR e tirosina hidroxilase por Western Blotting. Esses animais também terão o sangue coletado através de punção cardíaca, que será utilizado para análise por ELISA.						
4	Camundongo transgênico	Tg(Kiss1-cre)J2-4Cfe	5	5	10	8.00 Semanas	20.00 Gramas	3
	<b>Descrição</b>	Grupo WB iBDNF – Kiss1: Para avaliar a expressão de marcadores de ativação do tecido marrom adiposo frente a inibição da expressão de BDNF em neurônios Kiss1 os animais ao atingirem 8 semanas de vida serão submetidos à cirurgia estereotáxica para a injeção do vetor viral adeno-associado recombinante no hipotálamo. Após 15 dias os animais serão eutanasiados e o tecido adiposo marrom removido para análise de UCP-1, $\beta$ 3-AR e tirosina hidroxilase por Western Blotting. Esses animais também terão o sangue coletado através de punção cardíaca, que será utilizado para análise por ELISA.						
5	Camundongo transgênico	Tg(Kiss1-cre)J2-4Cfe	5	5	10	8.00 Semanas	20.00 Gramas	3
	<b>Descrição</b>	Grupo PCR Controle – Kiss1: Para avaliar a expressão de marcadores de ativação do tecido marrom adiposo frente a inibição da expressão de BDNF em neurônios Kiss1 os animais ao atingirem 8 semanas de vida serão submetidos à cirurgia estereotáxica para a injeção do vetor viral adeno-associado recombinante no hipotálamo. Após 15 dias os animais serão eutanasiados e o tecido adiposo marrom removido para análise de PCR para marcadores de ativação do tecido adiposo marrom. Esses animais também serão utilizados para isolamento de mitocôndrias para avaliação de respiração mitocondrial.						
6	Camundongo transgênico	Tg(Kiss1-cre)J2-4Cfe	5	5	10	8.00 Semanas	20.00 Gramas	3
	<b>Descrição</b>	Grupo PCR iBDNF – Kiss1: Para avaliar a expressão de marcadores de ativação do tecido marrom adiposo frente a inibição da expressão de BDNF em neurônios Kiss1 os animais ao atingirem 8 semanas de vida serão submetidos à cirurgia estereotáxica para a injeção do vetor viral adeno-associado recombinante no hipotálamo. Após 15 dias os animais serão eutanasiados e o tecido adiposo marrom removido para análise de PCR para marcadores de ativação do tecido adiposo marrom. Esses animais também serão utilizados para isolamento de mitocôndrias para avaliação de respiração mitocondrial.						
7	Camundongo transgênico	Fezf1-2A-dCre-D	5	5	10	8.00 Semanas	20.00 Gramas	3
	<b>Descrição</b>	Grupo Imuno iBDNF - Fezf1: Para avaliar a expressão de marcadores de ativação do tecido marrom adiposo frente a inibição da expressão de BDNF em neurônios Fezf1 os animais ao atingirem 8 semanas de vida serão submetidos à cirurgia estereotáxica para a injeção do vetor viral adeno-associado recombinante no hipotálamo. Após 15 dias os animais serão eutanasiados, perfundidos, o tecido adiposo marrom removido, pós-fixado em paraformaldeído 4% e crioprotetidos em solução de sacarose 30%. O tecido adiposo marrom será seccionado em cortes de 30 $\mu$ m em criostato e montados em lâminas. Será realizada imunomarcção para UCP1.						
8	Camundongo transgênico	Fezf1-2A-dCre-D	5	5	10	8.00 Semanas	20.00 Gramas	3
	<b>Descrição</b>	Grupo WB Controle - Fezf1: Para avaliar a expressão de marcadores de ativação do tecido marrom adiposo frente a inibição da expressão de BDNF em neurônios Fezf1 os animais ao atingirem 8 semanas de vida serão submetidos à cirurgia estereotáxica para a injeção do vetor viral adeno-associado recombinante no hipotálamo. Após 15 dias os animais serão eutanasiados e o tecido adiposo marrom removido para análise de UCP-1, $\beta$ 3-AR e tirosina hidrolase por Western Blotting. Esses animais também terão o sangue coletado através de punção cardíaca, que será utilizado para análise por ELISA.						
9	Camundongo transgênico	Fezf1-2A-dCre-D	5	5	10	8.00 Semanas	20.00 Gramas	3
	<b>Descrição</b>	Grupo WB Controle - Fezf1: Para avaliar a expressão de marcadores de ativação do tecido marrom adiposo frente a inibição da expressão de BDNF em neurônios Fezf1 os animais ao atingirem 8 semanas de vida serão submetidos à cirurgia estereotáxica para a injeção do vetor viral adeno-associado recombinante no hipotálamo. Após 15 dias os animais serão eutanasiados e o tecido adiposo marrom removido para análise de UCP-1, $\beta$ 3-AR e tirosina hidroxilase por Western Blotting. Esses animais também terão o sangue coletado através de punção cardíaca, que será utilizado para análise por ELISA.						
10	Camundongo transgênico	Fezf1-2A-dCre-D	5	5	10	8.00 Semanas	20.00 Gramas	3
	<b>Descrição</b>	Grupo WB iBDNF - Fezf1: Para avaliar a expressão de marcadores de ativação do tecido marrom adiposo frente a inibição da expressão de BDNF em neurônios Fezf1 os animais ao atingirem 8 semanas de vida serão submetidos à cirurgia estereotáxica para a injeção do vetor viral adeno-associado recombinante no hipotálamo. Após 15 dias os animais serão eutanasiados e o tecido adiposo marrom removido para análise de UCP-1, $\beta$ 3-AR e tirosina hidrolase por Western Blotting. Esses animais também terão o sangue coletado através de punção cardíaca, que será utilizado para análise por ELISA.						
11	Camundongo transgênico	Fezf1-2A-dCre-D	5	5	10	8.00 Semanas	20.00 Gramas	3
	<b>Descrição</b>	Grupo PCR Controle - Fezf1: Para avaliar a expressão de marcadores de ativação do tecido marrom adiposo frente a inibição da expressão de BDNF em neurônios Fezf1 os animais ao atingirem 8 semanas de vida serão submetidos à cirurgia estereotáxica para a injeção do vetor viral adeno-associado recombinante no hipotálamo. Após 15 dias os animais serão eutanasiados e o tecido adiposo marrom removido para análise de PCR para marcadores de ativação do tecido adiposo marrom. Esses animais também serão utilizados para isolamento de mitocôndrias para avaliação de respiração mitocondrial.						
12	Camundongo transgênico	Fezf1-2A-dCre-D	5	5	10	8.00 Semanas	20.00 Gramas	3
	<b>Descrição</b>	Grupo PCR iBDNF – Fezf1: Para avaliar a expressão de marcadores de ativação do tecido marrom adiposo frente a inibição						
CEUA/UNICAMP Caixa Postal 6109 13083-970 Campinas, SP - Brasil Protocolo: 5591-1/2020		Telefone: (19) 3521-6359 Telefax: (19) 3289-3124 E-mail: <a href="mailto:comisib@unicamp.br">comisib@unicamp.br</a> <a href="http://www.ib.unicamp.br/ceea">http://www.ib.unicamp.br/ceea</a>						

da expressão de BDNF em neurônios FezF1 os animais ao atingirem 8 semanas de vida serão submetidos à cirurgia estereotáxica para a injeção do vetor viral adeno-associado recombinante no hipotálamo. Após 15 dias os animais serão eutanasiados e o tecido adiposo marrom removido para análise de PCR para marcadores de ativação do tecido adiposo marrom. Esses animais também serão utilizados para isolamento de mitocôndrias para avaliação de respiração mitocondrial.				
		<b>Total Machos</b>	<b>Total Fêmeas</b>	<b>Total Geral</b>
		<b>60</b>	<b>60</b>	<b>120</b>
<b>9.3 MÉTODOS DE CAPTURA (somente em caso de uso de animais silvestres)</b>	—			
<b>9.4 Planejamento estatístico/delineamento experimental</b>	As análises estatísticas serão feitas através do test "t" student e One-way ANOVA. Dessa forma, considerando a diferença entre os grupos e a variabilidade biológica entre eles, para um "n" significativo ( $p < 0.005$ ) utilizaremos 5 animais por grupo. Esse valor foi calculado baseado nos cálculos disponíveis no livro Sokal e Rolf (Biometry: the Principles and Practice of Statistics in Biological Research, 2012, 4th ed., WH Freeman, New York, e de acordo com os artigos de referência: Eckelman WC, Kilbourn MR, Joyal JL, Labiris R, Valliant JF. Justifying the number for each experiment. Nucl Med Biol. 2007; 34(3):229-32. doi:10.1016/j.nucmedbio.2007.01.005 e Charan J, Kantharia ND. How to calculate sample size in animal studies?. J Pharmacol Pharmacother. 2013;4(4):303-306. doi:10.4103/0976-500X.119726.			
<b>9.5 GRAU DE INVASIVIDADE*</b>	3			
<b>Os materiais biológicos destes exemplares serão usados em outros projetos? Quais? Se já aprovados pela CEUA, mencionar o número do protocolo.</b>	Sim. "Determinação de mecanismos moleculares e celulares envolvidos na neurogênese adulta de hipotálamo em resposta a estímulos reprodutivos" e			
<b>9.6 CONDIÇÕES DE ALOJAMENTO E ALIMENTAÇÃO DOS ANIMAIS</b>	Alimentação: Todos os animais receberão dieta isocalórica da marca Nuvilab. Todos os animais receberão água filtrada e clorada ad libitum. Cada gaiola alojará no máximo 4 camundongos, que serão mantidos em estante ventilada, com temperatura e umidade controladas. Além disso, manteremos os animais em ciclo claro/escuro de 12/12 horas.			
<b>Local onde será mantido o animal Biotério, fazenda, aviário, etc. Localização</b>	Biotério do Laboratório de Sinalização Celular, NMCE, FCM/UNICAMP			
<b>Ambiente de alojamento</b>	Gaiola			
<b>Número de Animais por gaiola/galpão</b>	4			
<b>Tipo de cama (maravalha, estrado ou outro)</b>	Maravalha			
<b>10 PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS DO PROJETO</b>				
<b>10.1. ESTRESSE/DOR INTENCIONAL NOS ANIMAIS</b>	Não			
<b>10.2 Uso de Fármacos Anestésicos</b>	Sim			
<b>Fármaco</b>	<b>Dose (UI ou mg/kg)</b> (DEVE SER INDICADA A DOSE E NÃO O INTERVALO)		<b>Via de administração</b>	
Ketamina	100 mg/kg		Intraperitoneal	
Xilazina	10 mg/kg		Intraperitoneal	
Diazepan (medicação pré-anestésica)	5 mg/kg		Intraperitoneal	
<b>10.3 Uso de Relaxante Muscular</b>	Não			
<b>10.4 Uso de Fármacos Analgésicos</b>	Sim			
<b>Fármaco</b>	<b>Dose (UI ou mg/kg)</b>	<b>Via de administração</b>	<b>Frequência</b>	
Cloridrato de tramadol (nº DCB08807)	5 mg/kg	Intraperitoneal	Primeira administração 2h antes da cirurgia estereotáxica e, as outras serão realizadas nos 3 dias consecutivos à cirurgia, em uma frequência de 2x/dia.	
<b>10.5 Imobilização do Animal</b>	Não			
<b>10.6 Condições Alimentares</b>				
<b>Jejum</b>	Não			
<b>Restrição hídrica</b>	Não			

<b>10.7 Cirurgia</b>	Única - Única - cirurgia estereotáxica para inibição da expressão de BDNF no hipotálamo			
<b>10.8. Pós-OPERATÓRIO</b>				
<b>10.8.1 OBSERVAÇÃO DA RECUPERAÇÃO</b>	4.00 hora(s)			
<b>10.8.2 USO DE ANALGESIA</b>	Sim			
<b>Fármaco</b>	<b>Dose (UI ou mg/kg)</b>	<b>Via de administração</b>	<b>Frequência</b>	<b>Duração do uso</b>
Cloridrato de tramadol (nº DCB08807)	5 mg/kg	Intraperitoneal	Única	Não se aplica
<b>10.8.3 OUTROS CUIDADOS PÓS-OPERATÓRIOS</b>	Sim - Administração de antibiótico Penikel, 24.000 UI/kg em dose única.			
<b>10.9. EXPOSIÇÃO / INOCULAÇÃO / ADMINISTRAÇÃO</b>	Sim			
<b>Fármaco/Outros</b>	<b>Via de administração</b>	<b>Dose (indicar unidades)</b>	<b>Frequência</b>	
Cre-dependente rAAV	Injeção bilateral no núcleo arqueado e núcleo ventromedial do hipotálamo	0,5 uL	Única	
rAVV-scramble	Injeção bilateral no núcleo arqueado e núcleo ventromedial do hipotálamo	0,5 uL	Única	
<b>11 EXTRAÇÃO DE MATERIAIS BIOLÓGICOS</b>	Sim			
<b>Material biológico</b>	<b>Quantidade da amostra</b>	<b>Frequência</b>	<b>Método de coleta</b>	
Tecido Adiposo Marrom	40 mg	Única	Eutanásia com remoção do tecido adiposo marrom interescapular	
Sangue	500 uL	Única	Punção cardíaca	
<b>12 FINALIZAÇÃO</b>				
<b>12.1 MÉTODO DE EUTANÁSIA</b>	<p>Descrição Aprofundamento de anestesia seguido de decapitação.</p> <p>Substância, dose, via (A dose do agente injetável deve ser no mínimo três vezes maior que a dose indutora utilizada no plano anestésico.) Pré-anestésico = Cloridrato de tramadol 5 mg/Kg seguido de Cloridrato de quetamina 300 mg/kg + Cloridrato de xilazina 30 mg / Kg</p> <p>Caso método restrito (uso exclusivo de decapitação, deslocamento cervical ou CO2), justifique (referência bibliográfica para o não uso de anestésicos) Não se aplica</p>			
<b>12.2 DESTINO DOS ANIMAIS APÓS O EXPERIMENTO</b>	Todos os animais serão eutanasiados, e após, alocados em sacos plástico apropriados e armazenados em freezer destinado apenas para este fim onde permanecem até o momento da coleta por empresa especializada.			
<b>12.3. Forma de descarte da carcaça</b>	Descarte em saco plástico adequado para material infeccioso que posteriormente será coletado por agência especializada			

<p><b>13 RESUMO DO PROCEDIMENTO (relatar todos os procedimentos com os animais)</b></p>	<p>Será medido a evolução do ganho de peso individual, bem como da ingestão calórica total por gaiola anteriormente e posteriormente à cirurgia, medidas de glicemia serão realizadas através da veia da cauda com glicosímetro, a temperatura do tecido adiposo realizada por câmara infravermelha e o consumo de O<sub>2</sub> e produção de CO<sub>2</sub> serão medidos por um analisador de gases em câmara respiratória.</p> <p>A inibição da expressão de BDNF nas subpopulações neuronais será realizada através de cirurgia estereotáxica, na qual injetaremos bilateralmente um vetor viral adeno-associado recombinante no núcleo arqueado para os animais Kiss1-cre e no núcleo ventromedial para os animais Fezf1-cre. Animais controle serão injetados com vetor viral adeno-associado recombinante scramble. Para a remoção do tecido adiposo marrom interescapular serão utilizados o auxílio de lupa e instrumentos de microdissecção. Serão realizados ensaios de western blotting, PCR quantitativo, imuno-histoquímica e isolamento de mitocôndrias para avaliação de consumo de O<sub>2</sub>. No grupo destinado ao Western Blotting, faremos a coleta de sangue por punção cardíaca. O sangue passará pelo processo de centrifugação onde o soro será separado e utilizado para realização da técnica de ELISA para quantificação de marcadores metabólicos.</p> <p>Durante todo o período experimental os animais receberão água e ração ad libitum e serão alocados em estantes ventiladas, aclimatizadas e com ciclo claro/escuro 12/12 horas. Duas horas antes da cirurgia estereotáxica os animais receberão cloridrato de tramadol 5mg/kg) e, logo antes do procedimento cirúrgico serão anestesiados com ketamina (100mg/kg), xilazina (10mg/kg) e diazepam (5mg/kg). Após a cirurgia, receberão cloridrato de tramadol (5mg/kg) intraperitoneal por 3 dias, 2x/dia. Além disso, iremos monitorar a dor, o peso do animal, o consumo de ração e água após a cirurgia. Também utilizaremos a escala de Grimace para avaliar a dor dos animais. E se necessário, realizaremos o endpoint antes do final do período experimental. A eutanásia dos animais será feita por aprofundamento do anestésico (Lidocaína 5 mg/Kg intraperitoneal e 10 minutos após, aplicação intraperitoneal de Tiopental sódico, 100 mg/kg), seguida por deslocamento cervical.</p> <p>Respondendo ao questionamento do revisor sobre se outros tecidos destes animais experimentais serão utilizados em outros projetos. Sim serão, contudo os projetos ainda não foram submetidos, mas na ocasião da submissão os pesquisadores farão a devida comunicação à CEUA e mais do que isto solicitarão sua permissão. Provavelmente os tecidos a serem utilizados serão: hipotálamo, fígado, tecido adiposo epididimal e inguinal. Porém, gostaria de frisar que tudo será devidamente informado à CEUA no tempo oportuno do envio dos projetos e previamente a extração destes órgãos.</p>
<p><b>Arquivos</b></p>	
<p><b>Referência bibliográfica:</b>Somente PDF</p>	
<p><b>Referência bibliográfica 2:</b>Somente PDF</p>	
<p><b>Aprovação CIBio:</b>Somente PDF</p>	<p><a href="#">Parecer CIBIO 4 2020.pdf</a></p>
<p><b>Aprovação SISBIO:</b>Somente PDF</p>	
<p><b>Certificado de curso básicos de legislação e procedimentos para utilização de animais de laboratório:</b>Somente PDF</p>	<p><a href="#">Curso Manejo Animais USP.pdf</a></p>
<p><b>14. TERMO DE RESPONSABILIDADE (LEIA CUIDADOSAMENTE ANTES DE ASSINAR)</b></p>	
<p><input checked="" type="checkbox"/> Li e cumprirei o disposto na Lei Federal 11.794, de 8 de outubro de 2008, e as demais normas aplicáveis à utilização de animais para o ensino e pesquisa, especialmente as resoluções do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA;</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Declaro que este protocolo não é desnecessariamente duplicativo, tem mérito científico e que a equipe participante deste projeto/aula foi treinada e é competente para executar os procedimentos descritos neste protocolo;</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Declaro que não existe método substitutivo que possa ser utilizado como uma alternativa ao projeto;</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Assumo, sob pena de lei, total responsabilidade pela veracidade das informações prestadas neste protocolo;</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Assumo as responsabilidades civis e criminais se os procedimentos descritos neste protocolo não forem seguidos.</p> <p><input checked="" type="checkbox"/> Declaro estar ciente de que o ponto final humanitário é o momento no qual a dor, desconforto ou distresse de um animal utilizado é evitado, terminado, minimizado ou reduzido por ações como:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>adoção de tratamento para aliviar a dor, o desconforto ou o distresse;</li> <li>interrupção de um procedimento doloroso;</li> <li>exclusão do animal do estudo; ou</li> <li>morte humanitária do animal (RESOLUÇÃO NORMATIVA Nº 30, DE 2 DE FEVEREIRO DE 2016 - CONCEA);</li> </ol> <p>e me comprometo a agir imediatamente após receber instruções para aliviar a dor ou o distresse, conforme as determinações da legislação vigente.</p>	

Eu, Licio Augusto Velloso (Licio Augusto Velloso), certifico que:

- li o disposto na Lei Federal 11.794, de 8 de outubro de 2008, e as demais normas aplicáveis à utilização de animais para o ensino e pesquisa, especialmente as resoluções do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA;
- este estudo não é desnecessariamente duplicativo, tem mérito científico e que a equipe participante deste projeto/aula foi treinada e é competente para executar os procedimentos descritos neste protocolo;
- não existe método substitutivo que possa ser utilizado como uma alternativa ao projeto;
- assumo, sob pena de lei, total responsabilidade pela veracidade das informações prestadas neste protocolo;
- assumo as responsabilidades civis e criminais se os procedimentos descritos neste protocolo não forem seguidos.

Assinatura:  (responsável)

Data: 28 / 08 / 2020

Eu, Dayana Cabral da Silva (Dayana Cabral da Silva), certifico que:

- li o disposto na Lei no 11.794, de 8 de outubro de 2008, e nas demais normas aplicáveis à utilização de animais em ensino e/ou pesquisa, especialmente as Resoluções Normativas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA;
- este estudo não é desnecessariamente duplicativo, possuindo mérito científico e a equipe participante deste projeto/aula foi treinada e é competente para executar os procedimentos descritos neste protocolo;
- não existe método substitutivo que possa ser utilizado como uma alternativa ao projeto;
- assumo, sob pena de lei, total responsabilidade pela veracidade das informações prestadas neste protocolo;
- assumo as responsabilidades civis e criminais se os procedimentos descritos neste protocolo não forem seguidos.

Assinatura:  (executor) Data: 28 / 08 / 2020

O projeto de pesquisa e/ou ensino poderá ser solicitado, a critério da CEUA, respeitando-se os quesitos de confidencialidade e conflito de interesses.

Quando cabível, anexar o termo de consentimento livre e esclarecido do proprietário ou responsável pelo animal.

CEUA/UNICAMP  
Caixa Postal 6109  
13083-970 Campinas, SP - Brasil  
Protocolo: 5591-1/2020

Telefone: (19) 3521-6359  
Telefax: (19) 3289-3124  
E-mail: [comisib@unicamp.br](mailto:comisib@unicamp.br)  
<http://www.ib.unicamp.br/ceea>