

## Resumos não-técnicos de projetos autorizados em 2014

Título do projeto	Tráfego mitocondrial na doença de Alzheimer: revelando o papel do HUMMR		
Duração do projeto	24 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	doença de Alzheimer, roedores, tráfego mitocondrial, infecção com vetores lentivirais, sobreexpressão da proteína HUMMR		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim	
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Sim	
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Este projeto tem como objetivo mostrar que os defeitos mitocondriais associados à doença de Alzheimer se devem, pelo menos em parte, a defeitos no tráfego destes organelos devido à diminuição dos níveis e/ou atividade da proteína HUMMR. Desta forma, esperamos mostrar que a sobreexpressão da proteína HUMMR proteja a integridade das sinapses e dos neurónios evitando as alterações cognitivas e de comportamento típicas da doença de Alzheimer.		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	Clarificar 1) os mecanismos subjacentes às anomalias mitocondriais que caracterizam as formas esporádicas e familiares da doença de Alzheimer; 2) se a proteína HUMMR é um bom alvo terapêutico.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	18 murganhos nonTg e 45 murganhos machos 3xTg-AD (C57Bl/6 x 129Sv) machos. Os murganhos 3xTg-AD serão divididos em 3		

	<p>grupos: 1) controlo, 2) infeção com VL vazio e 3) infeção com VLs que codificam HUMMR.</p> <p>63 ratos Wistar machos (18 ratos controlo (sham) e 45 ratos icvSTZ)</p>
No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Grau de severidade moderado. No final da realização do projeto, os animais serão eutanasiados com sobredose anestésica e o tecido cerebral (córtex e hipocampo) será removido para estudos posteriores.
Aplicação dos 3Rs	
<p>1.Replacement (Substituição)</p> <p>Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	Os murganhos 3xTg-AD e os ratos icvSTZ são modelos da doença de Alzheimer do tipo familiar e esporádico, respetivamente. Embora a génese da doença de Alzheimer do tipo familiar e do tipo esporádico seja distinta, ambos os tipos apresentam alterações da função mitocondrial numa fase precoce da doença. São modelos experimentais imprescindíveis para avaliar a eficácia de novas estratégias ou abordagens terapêuticas (por exemplo, os modelos animais são fundamentais para a avaliação da aprendizagem e memória, processos altamente afetados na doença de Alzheimer, através de testes de comportamento adequados).
<p>2.Reduction (Redução)</p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	Foi realizada uma <i>power analysis</i> para calcular o número mínimo de animais necessário para haver significância estatística.
<p>3.Refinement (Refinamento)</p> <p>Explique a escolha da(s) espécie e a razão porqueo modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	As cirurgias estereotáxicas serão efetuadas sob anestesia profunda [xilazina (10 ou 100mg/Kg)/cetamina (100mg/kg)].Após a cirurgia (p.c) todos os animais serão monitorizados 4x dia com colocação de comida húmida na cama. Os animais receberão analgésicos (i.p. fentalina 0.025 mg/Kg; de 8 em 8 horas nas 72h p.c), aquecimento (24 horas p.c) e fluidoterapia (12-12h na 72h p.c) (4). O peso dos animais será monitorizado e registado durante a experiência. Os animais que apresentarem uma perda de peso corporal superior a 20% do seu peso inicial serão eutanasiados com sobredose anestésica.

Título do projeto	Efeitos dos (endo)canabinóides na decidualização
Duração do projeto	5 anos

Palavras-chave (máx. 5)	(endo)canabinóides; decidualização; reprodução		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) <sup>1</sup>	Investigação fundamental	Sim	Não
	Investigação translacional ou aplicada		Não
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Estudo de novos mediadores no processo de decidualização e placentação, particularmente o envolvimento dos endocanabinóides. Por outro lado, interessa saber qual os efeitos resultantes de uma desregulação dos níveis endógenos destes compostos nestes processos.		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	Compreensão do potencial modulador dos endocanabinóides nos processos reprodutivos, essencialmente a compreensão de como os níveis de endocanabinóides afectam a decidualização e desenvolvimento da placenta. Assim, o seu conhecimento permitirá conhecer melhor alguns dos processos fundamentais para o estabelecimento de uma gravidez.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Wistar; Cerca de 80 animais/ano		
No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Não são esperados efeitos adversos dado os procedimentos passarem pelo estabelecimento de uma gravidez normal na colheita de células para culturas primárias. Grau ligeiro de severidade. As manipulações que envolvem a administração de compostos (deciduoma e efeitos no desenvolvimento da placenta) não devem revelar efeitos adversos dado se tratar de compostos endógenos e as doses serem muito baixas (próximas das concentrações		

	<p>fisiológicas previamente determinadas pelo nosso grupo de investigação e publicadas). Grau moderado de severidade.</p>
Aplicação dos 3Rs	
<p>1.Replacement (Substituição)  Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Já realizamos experiências preliminares em células deciduais primárias e recorreremos frequentemente a uma linha celular. No entanto estamos a estudar os mecanismos de sinalização intracelular induzidos pelos endocanabinóides, assim necessitamos terminar as culturas primárias. Por outro lado, estes estudos revelaram resultados promissores pelo que é relevante testar <i>in vivo</i> de forma a verificar os efeitos dos endocanabinóides na complexidade do microambiente uterino.</p>
<p>2.Reduction (Redução)  Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Foram realizados testes estatísticos por forma a determinar o poder da amostra relativamente ao número de animais a testar por grupo.</p>
<p>3.Refinement (Refinamento)  Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>Os ratos são escolhidos em detrimento de outras espécies por apresentarem um tipo de placentação (hemocorial) semelhante à humana. Por outro lado, dada a variabilidade genética dos ratos Wistar, estes mimetizam melhor as variações observadas nos humanos.  Todas as pessoas envolvidas no projeto e manuseamento de animais estão devidamente certificadas e têm experiência e conhecimento dos procedimentos e normas a observar no manuseamento dos animais.</p>

Título do projeto	Desenvolvimento pré-clínico de uma vacina terapêutica e preventiva contra o vírus da hepatite C	
Duração do projeto	2 anos	
Palavras-chave (máx. 5)	Vacinas, Hepatite C, Retrovirus, VLPs	
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse a saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;	Não
	Ensino superior ou formação para	Não

	aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	O objectivo final deste projeto é contribuir para o desenvolvimento de uma vacina contra o vírus da Hepatite C. Atualmente não existe vacina contra este vírus que infeta mais de 700 milhões de pessoas em todo o mundo.	
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	Este projeto pode contribuir para o desenvolvimento de uma vacina única no mundo e com potencial para ser usada em países desenvolvidos, subdesenvolvidos ou em vias de desenvolvimento.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	A espécie de animais a usar é <i>Mus musculus</i> , prevê-se um uso de 5 animais por grupo de estudo o que significa um total de 25 animais por experiência. Estes números já incluem os animais teste e controlo.	
No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	No final de cada experiência todos os animais serão sacrificados de acordo com as melhores práticas de manipulação e experimentação animal, com recurso a anestesia e deslocamento cervical. Durante o período experimental prevê-se que os efeitos adversos sejam mínimos uma vez que a vacina que será administrada não possui qualquer agente infeccioso. A vacina a ser testada é composta por partículas semelhantes a vírus que não possuem qualquer material genético na sua composição, ou em outro caso por um vector viral não replicativo.	
Aplicação dos 3Rs		
1.Replacement (Substituição) Refira a razão porque precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Até ao momento a ciência ainda não desenvolveu nenhum método <i>in vitro</i> ou <i>in silico</i> capaz de simular o comportamento/resposta imunitária gerada por um organismo vivo.	
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	O número de animais previsto por grupo experimental é 5. Este é o número adequado para gerar resultados com significado estatísticos válidos eliminando assim a necessidade de repetir a experiência. Este número de animais é ainda adequado para garantir a validade da experiência caso algum animal venha a falecer por questões externas à experiência, mais uma vez eliminando a necessidade de repetição do procedimento.	

<p>3. Refinement (Refinamento)</p> <p>Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>A análise da eficiência de uma vacina é tanto mais precisa quanto mais próxima a relação entre o modelo de estudo e o organismo alvo final. O estudo do vírus da Hepatite C tem como principal desvantagem o facto de este agente infectar apenas humanos e chimpanzés. Assim, considera-se o murganho como o modelo animal adequado por se tratar também ele de um mamífero. Este modelo é por si só um refinamento porque é um organismo mais simples. De notar que nenhum animal será sujeito a infeção por parte de nenhum vírus selvagem ou manipulado.</p>
---	---

Título do projeto	Caracterização da atividade eferente do sistema nervoso simpático na resistência à insulina induzida pelos corpos carotídeos	
Duração do projeto	12 meses	
Palavras-chave (máx. 5)	Sistema nervoso simpático, corpo carotídeo, microneurografia, resistência à insulina	
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	<p>Este projeto tem como objectivo geral clarificar as vias autonómicas envolvidas na resistência à insulina causada pela sobreativação dos corpos carotídeos (CB), nomeadamente:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Avaliar a atividade nervosa autonómica em modelos animais de resistência à insulina induzida por dietas hipercalóricas</li> <li>2. Avaliar alterações na atividade nervosa autonómica em modelos animais de resistência à insulina induzida por dietas hipercalóricas após desnervação crónica do nervo do seio carotídeo</li> </ol>	

<p>Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projecto)?</p>	<p>Acreditamos que este trabalho irá demonstrar que os corpos carotídeos controlam a ação periférica da insulina modulando regionalmente eferentes simpáticos responsáveis pelas respostas vasoconstritoras no músculo. Os resultados obtidos contribuirão para mapear o circuito neural induzido pelo consumo crônico de dietas hipercalóricas que é iniciado nos corpos carotídeos culminando na sobre ativação simpática no músculo e desencadeando a resistência à insulina. Acreditamos que o conhecimento destas vias eferentes poderá ser fundamental para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas na área das doenças metabólicas humanas.</p>
<p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p>	<p>Serão utilizados 70 ratos Wistar.</p>
<p>No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projecto?</p>	<p>Não se esperam efeitos adversos uma vez que a maior parte das experiências são experiências de não recuperação. Esperas grau de severidade ligeiro durante a realização da avaliação metabólica e moderado no período de recuperação do procedimento cirúrgico sob anestesia e analgesia adequada.</p>
<p>Aplicação dos 3Rs</p>	
<p>1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Os <i>outcomes</i> que se pretendem medir são atividade nervosa, frequência cardíaca e sensibilidade à insulina, em resposta à manipulação cirúrgica de um nervo. Estas variáveis não são passíveis de serem medidas em modelos alternativos à experimentação animal.</p>
<p>2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Utilizámos assim o método do coeficiente de variação para estimar o número de animais a utilizar por grupo (no nosso caso 10 animais por grupo teste) definindo como diferença mínima que desejamos encontrar um valor de 20%; que a população em estudo tem um coeficiente de variação antecipado de 10% e que o nível de significância deve ser inferior a 5%.</p>
<p>3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>O rato Wistar tem sido amplamente utilizado em estudos metabólicos, especialmente em experiências relacionadas com doenças metabólicas induzidas por dietas hipercalóricas. Com o desenho experimental que elaborámos, análise estatística e extensa revisão da literatura que realizámos, acreditamos que vamos obter dados originais, com elevada aplicabilidade no desenvolvimento de novas terapias no homem e evitar duplicação desnecessária de estudos. As técnicas de refinamento visam, para além de</p>

	reduzir o número de animais utilizados, minimizar qualquer dor, sofrimento ou angústia em animais. Consideramos que o uso de anestesia e analgesia pós-operatória, a fim de minimizar qualquer dor e angústia causada por procedimentos cirúrgicos é também uma técnica de refinamento utilizada no nosso projeto.
--	--

Título do projeto	A sabedoria do faminto: modulação por grelina da neurogénese e da sua relação com a memória		
Duração do projeto	1 ano		
Palavras-chave (máx. 5)	Grelina, memória, neurogenesis, dieta, células estaminais		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim	
	Investigação translacional ou aplicada		Não
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Existe uma relação entre os hábitos dietéticos, a função cognitiva e o risco de padecer doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer. De modo a compreender esta relação e contribuir para impedir/atenuar a deterioração cognitiva em doenças neurodegenerativas, neste projecto iremos estudar os efeitos da grelina e do seu recetor (que regulam e são regulados pelo consumo alimentar) na produção de novos neurónios, na formação de sinapses e na memória.		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou	O nosso projeto irá fornecer novas evidências sobre o papel do sistema de grelina na modulação da neurogénese adulta		



<p>outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?</p>	<p>e sobre a relação entre a dieta e a aprendizagem/memória. Este trabalho poderá ser o ponto de partida para o desenvolvimento de outros projetos para analisar o potencial terapêutico do sistema da grelina em doenças neurodegenerativas.</p>
<p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p>	<p>Propomos utilizar 80 murganhos C57Bl/6 adultos e 380 neonatos no total das experiências propostas durante um ano.</p>
<p>No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?</p>	<p>Dois tipos distintos de procedimentos serão utilizados no decorrer deste projecto, sendo que o primeiro procedimento, que será realizado em neonatos, (procedimento terminal para colheita de células neuroprogenitoras) é de não recuperação e o segundo procedimento (procedimento experimental de administração intracranial de vectores virais e intraperitoneal de BrdU) é de severidade moderada.</p> <p>No final do projecto os animais serão eutanasiados por decapitação, no caso de animais neonatos, ou por sobredose anestésica, no caso de animais adultos.</p>
<p>Aplicação dos 3Rs</p>	
<p>1.Replacement (Substituição)</p> <p>Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>No humano, estudos com esta abordagem são considerados invasivos e como tal é essencial a utilização de animais. De facto, os modelos animais representam o único sistema disponível para estudar o sistema neuroendócrino, dada a sua complexidade e ausência de modelos de substituição que permitam estudar este sistema <i>in vitro</i>.</p> <p>Neste projeto tentaremos substituir sempre que possível as experiências <i>in vivo</i> por testes em culturas primárias de células neuroprogenitoras provenientes de animais.</p>
<p>2.Reduction (Redução)</p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>O número de animais necessários para estes estudos foi calculado através da utilização de “power analysis” tendo em conta a necessidade de significância estatística e outros estudos semelhantes realizados anteriormente.</p> <p>Além disso, a estratégia de administração viral dupla permite uma redução significativa do número final de animais.</p>
<p>3.Refinement (Refinamento)</p> <p>Explique a escolha da(s) espécie e a razão</p>	<p>Os murganhos são uma das espécies mais utilizadas como modelos de doenças neurodegenerativas. Além disso, existe</p>

<p>porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>experiência prévia na manipulação cirúrgica destes animais por parte do utilizador. O bem-estar animal será controlado diariamente, através da avaliação do comportamento, do peso e do estado da sutura dos animais. Se os animais apresentem sinais de dor após a cirurgia, será administrado um analgésico. Animais que apresentem perda de peso superior a 10% do peso inicial receberão fluidoterapia e animais que apresentem perda de peso superior a 20% do peso inicial ou abertura da sutura de modo permanente serão eutanasiados com sobredosagem anestésica. Os animais terão alimento e água ad libitum, em ciclos de 12 h de luz, num espaço a 22 ° C, com 55% de humidade e serão mantidos em grupos num ambiente enriquecido de modo a reduzir o stress.</p>
---	--

Título do projeto	Comunicação Notch - Wnt na regulação do desenvolvimento embrionário pré-implantação		
Duração do projeto	12 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	Embrião, Notch, Wnt, desenvolvimento		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim	
	Investigação translacional ou aplicada		Não
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Este projecto tem por objectivo o estudo do papel de vias moleculares de sinalização que potencialmente regulam o desenvolvimento		

	do embrião na pré-implantação e aquisição de competência do blastocisto para implantar <i>in vivo</i> e estabelecer uma gestação de termo.
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	O conhecimento dos mecanismos celulares e moleculares que regulam o desenvolvimento embrionário pré-implantação em mamíferos é ainda fragmentário e frequentemente controverso. Este projecto constitui uma novidade científica e poderá clarificar o papel da via Notch e da comunicação entre Notch e a via Wnt no desenvolvimento embrionário pré-implantação. Adicionalmente, o projecto tem poderá contribuir para a elucidação da participação destas vias na comunicação embrio-materna que leva ao estabelecimento da gestação. O decifrar destes mecanismos teria um impacto significativo no controlo da fertilidade humana e animal, e no melhoramento das taxas de sucesso das tecnologias de reprodução assistida.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	O projecto envolve a utilização de fêmeas de murganho CD1 (estirpe selvagem). Prevê-se a utilização de um número total de 55 animais (30 na tarefa 1 e 25 na tarefa 2).
No contexto do que você propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Severidade de procedimentos: Injecções intraperitoneais- ligeiro Injecções subcutâneas- ligeiro Protocolo para obtenção de embriões de murganho (post-mortem)- Não recuperação Transferência de embriões para fêmeas receptoras pseudo-gestantes- Moderado Os animais utilizados no projecto serão eutanasiados durante ou no fim da experiência.
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição)  Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Este projecto contempla o estudo do papel de vias de sinalização no desenvolvimento embrionário pré-implantação, na implantação e desenvolvimento posterior com o objectivo de elucidação destes mecanismos na espécie humana e animal (animais de produção). Estes mecanismos de reprodução só poderão ser estudados numa espécie animal.

<p>2.Reduction (Redução)</p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>No projecto foram contempladas experiências com embriões de bovino produzidos por fertilização <i>in vitro</i> de oócitos obtidos de ovários recolhidos no matadouro. Estas experiências <i>in vitro</i> com embriões de bovino não envolvem experimentação animal e vão ser usadas para otimizar todos os procedimentos experimentais a testar na cultura de embriões de murganho recolhidos de fêmeas superovuladas. Desta forma, reduz-se significativamente o número de animais para a recolha de embriões, uma vez que as optimizações da metodologia (incluindo as doses dos bloqueadores a testar) serão efectuadas primeiramente com embriões de bovino produzidos <i>in vitro</i>.</p>
<p>3.Refinement (Refinamento)</p> <p>Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>O murganho é um bom modelo animal para as experiências delineadas porque tem fisiologicamente um tempo de gestação relativamente curto (18-21 dias) e uma boa prolificidade, permitindo a transferência de vários embriões para uma mesma receptora. Adicionalmente, o nosso grupo de trabalho já tem experiência de trabalho com esta espécie, o que torna o acompanhamento das experiências mais simples e eficaz.</p> <p>Todos os procedimentos invasivos induzidos aos animais descritos como é o caso da recolha de embriões e transferência para fêmeas receptoras, são acompanhados por métodos de anestesia e/ou analgesia.</p>

Título do projeto	Manutenção e reprodução de murganhos transgênicos K14HPV16		
Duração do projeto	3 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	HPV-16, carcinogénese, anti-neoplásicos		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim	
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina	Sim	
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não

	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Sim	
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados <sup>2</sup>	Sim	
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	<p>1: Desenvolvimento de métodos não-invasivos para monitorizar a progressão tumoral induzida pelo HPV-16.</p> <p>2: Estudo das interações do HPV-16 com agentes químicos de origem natural.</p> <p>3: Desenvolvimento de estratégias nutricionais preventivas.</p> <p>4: Desenvolvimento de estratégias quimioterapêuticas.</p> <p>5: Desenvolvimento de estratégias fototerapêuticas.</p>		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	Os resultados deste projecto deverão permitir compreender a interação dos papilomavírus com agentes cancerígenos químicos no processo de carcinogénese, bem como desenvolver novas estratégias para a prevenção, diagnóstico, e tratamento das lesões induzidas, no Homem e no gado bovino.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	<i>Mus musculus</i> , 130 animais		
No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Os animais desenvolvem um prurido cutâneo moderado mas generalizado, bem como sintomas associados à progressão tumoral (perda de condição corporal em fases avançadas). No final do projecto, os animais serão eutanasiados.		
Aplicação dos 3Rs			
1.Replacement (Substituição)  Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Os métodos <i>in vitro</i> para estudar os efeitos do HPV-16 em tecidos epiteliais, através da preparação de culturas celulares organotípicas, não permitem avaliar o efeito das vias ligadas à inflamação e à reacção imunológica, como é nosso objectivo. De facto, este tipo de análise só pode ser realizado num sistema orgânico completo - um animal - dotado de todos os órgãos ligados à imunidade.		

<p>2.Reduction (Redução)</p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>A penetrância dos oncogenes estudados é de 80%, pelo que em cada grupo experimental esperamos obter carcinomas epidermoides invasores em 8 de cada 10 animais transgênicos. Este numero permite realizar testes estatísticos (análises de variância, testes t, de qui-quadrado) de modo a obter resultados significativos. Estes números permitem também prevenir a possibilidade de alguns animais serem sacrificados durante os procedimentos experimentais, garantindo que estes não têm de ser repetidos, com sofrimento adicional para mais animais.</p>
<p>3.Refinement (Refinamento)</p> <p>Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>Os métodos <i>in vitro</i> para estudar os efeitos do HPV-16 em tecidos epiteliais, através da preparação de culturas celulares organotípicas, não permitem avaliar o efeito das vias ligadas à inflamação e à reacção imunológica, como é nosso objectivo. De facto, este tipo de análise só pode ser realizado num sistema orgânico completo - um animal - dotado de todos os órgãos ligados à imunidade. Por outro lado, só existem estirpes transgênicas portadoras dos oncogenes do HPV-16 obtidas a partir de <i>Mus musculus</i> e não de outras espécies animais. O fenótipo desenvolvido por estes animais não exija cuidados especiais. A primeira tarefa consiste no desenvolvimento de um método inovador não-invasivo, que se destina a evitar a realização de biópsias cutâneas nestes animais. A implementação deste tipo de metodologia representa um refinamento substancial, aplicável não só a este projecto mas a toda esta área científica.</p>

Título do projeto	Estudo da carcinogénese química do urotélio do murganho em resposta a diferentes terapêuticas (farmacológicas e não farmacológicas)		
Duração do projeto	20 semanas		
Palavras-chave (máx. 5)	Bexiga, cancro, tratamento		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim	
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não

	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Sim	
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Estudar o efeito do exercício físico na disfunção cardíaca associada ao cancro e o efeito terapêutico de um fármaco anti-inflamatório.		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	<p>Aproximadamente 3 milhões de novos casos de cancro foram diagnosticados na Europa em 2006, um número que se prevê aumentar em consequência do envelhecimento da população. A disfunção cardíaca foi recentemente sugerida como uma morbilidade, geralmente subestimada, associada ao cancro e parece ocorrer em paralelo com a caquexia. No sentido de contrariar esta tendência, tem sido aconselhada a adoção de comportamentos saudáveis como a prática de exercício físico. Efetivamente, o exercício físico tem sido sugerido como uma estratégia terapêutica em doentes com insuficiência cardíaca, com efeitos positivos na função cardíaca, contrariando a remodelação mal adaptativa e a perda de massa muscular esquelética associada a esta doença. No entanto, o efeito do exercício físico na disfunção cardíaca associada ao cancro nunca foi estudado. O carcinoma invasor da bexiga caracteriza-se pela presença de um infiltrado de células inflamatórias abundante, sabe-se que estas secretam fatores que interferem no crescimento dos tumores e na sua malignidade, a utilização de fármacos anti-inflamatórios poderá vir a ser uma realidade no controlo da progressão do cancro da bexiga em humanos e animais de companhia.</p>		

	Antevemos a justificação da recomendação da prática de exercício físico a doentes oncológicos como terapia complementar para proteger a função cardíaca e uma possível nova abordagem terapêutica no controlo desta doença.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	56
No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	O grau esperado de severidade é moderado.
Aplicação dos 3Rs	
<p>1.Replacement (Substituição)</p> <p>Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	Porque para estudar a interferência do exercício físico na caquexia muscular cardíaca induzida pelo cancro da bexiga e avaliar a interferência de um fármaco na progressão da doença, necessitamos de um animal que tenha o órgão alvo (bexiga), que desenvolva lesões histológicas semelhantes às lesões identificadas no Homem e que desenvolva associado ao desenvolvimento tumoral caquexia muscular, para além disso também é necessário que aprenda a realizar exercício físico em tapete rolante; com base nestas premissas só temos uma espécie disponível: o murganho.
<p>2.Reduction (Redução)</p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	O número de animais que utilizamos é o mínimo para garantir a futura análise dos resultados, tem em consideração a taxa de mortalidade associada a este tipo de trabalho experimental, conhecimentos já adquiridos pela nossa equipa anteriormente.
<p>3.Refinement (Refinamento)</p> <p>Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>A razão da escolha da espécie baseia-se no espectro de lesões uroteliais desenvolvidas pelos animais, quando expostos ao agente carcinogénico N-butil-N-(4-hidroxibutil) nitrosamina, ser semelhante às lesões uroteliais identificadas no Homem, isto é, carcinoma invasor da bexiga.</p> <p>O número de animais colocado por gaiola será em função da dimensão da mesma e do seu bem-estar; será colocado material para os animais fazerem ninhos, será colocado material para os animais se poderem</p>



	esconder.
--	-----------

Título do projeto	Pré-Condicionamento de células mesenquimatosas da matriz do cordão umbilical (UCX®) como forma de incrementar a potência terapêutica para a artrite reumatóide		
Duração do projeto	12 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	Células estaminais mesenquimatosas umbilicais; Hipóxia; Culturas celulares 3D; Artrite reumatóide		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Aumentar a potência terapêutica de células mesenquimatosas da matriz do cordão umbilical (UCX®) através da sua manutenção em culturas sob o efeito de hipóxia e em culturas 3D em agregados e verificar se as UCX® condicionadas (PRIMED-UCX) são capazes de confirmar o aumento das suas potencialidades terapêuticas parácrinas		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como	As actuais abordagens terapêuticas biológicas para a Artrite Reumatóide (AR) têm elevados		

<p>poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?</p>	<p>custos para o utente final, não são desprovidas de efeitos secundários graves e nenhum dos agentes mais comumente utilizados se revelou, a longo prazo, eficaz na remissão sintomática na ausência de fármacos. Os doentes com AR poderiam, assim, num futuro próximo, beneficiar de uma nova abordagem terapêutica se fosse possível demonstrar que as PRIMED-UCX se podem constituir como um ATMP para o tratamento da AR.</p>
<p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p>	<p>150 ratos Wistar</p>
<p>No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?</p>	<p>O modelo utilizado tem por base o desenvolvimento de poliartrite envolvendo inflamação periarticular. Assim sendo, é de esperar um grau moderado de perturbação no animal. Embora não previsto, em caso de ser necessário accionar end-points humanitários que levem ao sacrifício de animais, a eutanásia será efectuada por inalação de CO<sub>2</sub>, de acordo com o Anexo II do n.º 3 do artigo 6 do Decreto-Lei 113/2013 de 7 de Agosto. No final da realização da experiência os animais serão sacrificados através de inalação de CO<sub>2</sub>.</p>
<p>Aplicação dos 3Rs</p>	
<p>1.Replacement (Substituição)</p> <p>Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Os ensaios pré-clínicos só podem ser realizados em animais.</p>
<p>2.Reduction (Redução)</p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>A garantia da utilização do número mínimo de animais decorre da planificação das experiências e dos conhecimentos técnicos adquiridos pela equipa do projecto relativamente ao modelo em questão.</p>
<p>3.Refinement (Refinamento)</p> <p>Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>Os ratos Wistar machos, com 4 meses de idade, mostraram reunir as melhores condições como espécie e estirpe susceptível ao desenvolvimento de poliartrite, de forma reprodutível e com identificação clara das fases da doença, como descrito em publicação da equipa do projecto. A indução da doença requer imobilização da pata direita e será feita com recurso a anestesia de curta duração, por inalação de isoflurano, de forma a evitar situações de sofrimento animal e garantir ao operador a maior qualidade no processo de</p>

	indução.
--	----------

Título do projeto	PROFISH – Triagem de novos probióticos do microbiota do robalo Europeu ( <i>Dicentrarchus labrax</i> ) capazes de melhorar a utilização de matérias-primas vegetais		
Duração do projeto	1 Ano		
Palavras-chave (máx. 5)	Probióticos; Microbiota intestinal; Polissacarídeos não amiláceos; Robalo Europeu		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Sim	
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	Isolar, identificar e caracterizar bactérias do trato gastrointestinal do robalo europeu produtoras de enzimas extracelulares capazes de hidrolisar os NSP. Determinar o seu potencial como probióticos para uso em aquacultura.		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	Desenvolvimento sustentável da indústria da aquacultura.  Melhorar a saúde e bem-estar animal.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Robalo Europeu ( <i>Dicentrarchus labrax</i> )  240 animais		
No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de	Durante a realização do ensaio experimental o grau de severidade será nulo.		

severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	No final do ensaio experimental os peixes serão abatidos.
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição)  Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	O objetivo do trabalho não pode ser alcançado sem o uso de animais.
2.Reduction (Redução)  Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	O cálculo do número de animais a utilizar foi realizado com base na análise estatística e tendo em conta o bem-estar dos animais durante o ensaio.
3.Refinement (Refinamento)  Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	O robalo Europeu foi a espécie escolhida para este estudo devido à sua importância na aquicultura mediterrânica.  Durante o ensaio todas as condições (alimentação e parâmetros da água de cultivo) serão controladas de forma a minorar o stresse dos animais.  No final do ensaio os peixes serão mortos por dose letal de anestésico de forma a minimizar o sofrimento animal.

Título do projeto	Alvejamento duplo de Tumores EGFR positivos		
Duração do projeto	6 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	EGFR; imagiologia molecular ; Tirosina cinase; Factor de crescimento epidérmico humano		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações		Não

	profissionais		
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Avaliação em ratinho da farmacocinética, estabilidade in vivo e da capacidade de detecção tumoral de novos complexos- <sup>67/68</sup> Ga para detecção de tumores EGFR positivos.		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	Pretende-se obter informação sobre uma nova estratégia de imagiologia molecular para avaliar a expressão de recetores do EGF a nível tumoral de modo a seleccionar a terapêutica mais adequada a cada doente com tumores EGFR positivos.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	60 ratinhos Balb C 60 ratinhos Balb C nude		
No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projecto?	Grau de severidade – ligeiro  No decorrer da experiência os animais serão sacrificados com excesso de anestésico ou deslocação cervical.		
Aplicação dos 3Rs			
1.Replacement (Substituição)  Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	A caracterização dos perfis e estabilidade radioquímica e biológica dos novos complexos será sempre efectuada por métodos alternativos não animais mas essa caracterização pré-clínica requer estudos em modelos animais para avaliar do potencial interesse clínico. Contudo cada grupo de animais terá um número mínimo que permita a correlação dos resultados e uma análise fidedigna.		
2.Reduction (Redução)  Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Para reduzir o número de animais todos os compostos a estudar serão previamente avaliados por modelos <i>in vitro</i> e em linhas celulares. Só os compostos com perfil mais adequado prosseguirão para ensaios em ratinho.		
3.Refinement (Refinamento)	A escolha da espécie animal relaciona-se com a experiência anterior dos investigadores;		

<p>Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>condições do nosso biotério e do laboratório de experimentação animal de compostos radioactivos; possibilidade de correlacionar os nossos resultados com compostos de natureza semelhante referidos na literatura e com a necessidade de inocular células tumorais de origem humana.</p> <p>O bem estar dos animais será assegurado pelo cumprimento das condições de manuseamento e alojamento dos animais definidos no nosso regulamento. Para além disso os ensaios são ensaios agudos e a quantidade de composto a administrar é muito baixa (da ordem de <math>10^{-5}M</math> não sendo expectável o aparecimento de efeitos adversos.</p>
--	---

Título do projeto	Exercício físico na Doença de Parkinson: modulação da função dos receptores dos produtos de glicação avançada		
Duração do projeto	12 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	Doença de Parkinson, Exercício Físico, Receptores dos produtos de glicação avançada (RAGE), receptores Toll-4 (TLR-4)		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Propomos identificar um alvo terapêutico (eixo RAGE/TLR4) bem como propor uma estratégia não farmacológica na Doença de Parkinson.		
Quais são os potenciais benefícios que	Este projecto tem valor translacional visto que		

possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	vai permitir identificar um alvo terapêutico bem como uma estratégia que permitirá atenuar a neurodegenerescência na Doença de Parkinson.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	54 Ratos wistar (machos)
No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Neste projecto, usaremos uma toxina dopaminérgica que reproduz em rato um estadio precoce da Doença de Parkinson incluindo alterações motoras e não motoras. O grau provável de severidade é moderado. No final da realização do projecto os animais serão eutanasiados por decapitação sob anestesia ou anestesia + perfusão, dependentemente da técnica para a qual será utilizado o cérebro a ser removido.
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição). Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Ensaio <i>in vitro</i> já demonstraram o papel de mRAGE na morte de neurónios dopaminérgicos. Nesta fase é necessário a utilização de animais para podermos mimetizar o fenótipo comportamental e neuroquímico da Doença de Parkinson. Acresce ainda que vamos propor o exercício físico como estratégia não farmacológica na Doença de Parkinson.
2.Reduction (Redução). Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	O número de animais alocados a cada tarefa é o mínimo descrito para a obtenção de resultados estatisticamente significativos.
3.Refinement (Refinamento). Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	Os animais serão aclimatizados, acondicionados em ambiente controlado e manipulados por pessoal qualificado. É reconhecido que os procedimentos propostos induzem um nível de stress moderado nos animais. Assim, os animais serão monitorizados de acordo com uma escala de "humane endpoints" previamente estabelecidos (e.g. peso, hidratação, comportamento inato). Um protocolo de anestesia será adotado nos procedimentos invasivos e no momento de eutanásia.

Título do projeto	Acoplamento da progressão da aterosclerose e distúrbios ósseos na artrite reumatóide		
Duração do projeto	2 anos e meio		
Palavras-chave (máx. 5)	Inflamação; Aterosclerose, Osteoporose		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com	Investigação fundamental		Não

Artº 5º)	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Sim	
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Com este trabalho pretendemos avaliar como a inflamação está relacionada com alterações no vaso (aterosclerose) e no osso (osteoporose). Pretende-se ainda avaliar a cinética da progressão destas duas patologias quando ocorrem no mesmo indivíduo.		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	A potencial identificação de marcadores biológicos comuns às duas doenças poderá trazer pistas para a utilização de novos alvos terapêuticos para melhor controle e simultâneo destas duas doenças.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	10 animais por grupo em 5 time-point de avaliação. No total teremos 4 grupos: K/BxAg7 com dieta gorda; K/BxAg7 com dieta normal; ApoE -/- com dieta gorda; C57BL/6J com dieta gorda.		
No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Os efeitos adversos serão os resultantes do desenvolvimento das doenças: estenose dos grandes vasos nos animais com aterosclerose; alopecia nos animais sob dieta gorda; inchaço e deformação das articulações nos animais com artrite, levando à redução da mobilidade. No final de cada tempo de desenvolvimento das patologias (time-points) os animais serão eutanasiados para remoção dos órgãos e		



	estruturas necessárias para o estudo.
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição)  Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Não é possível estudar a progressão das duas doenças em alternativas não-animais.
2.Reduction (Redução)  Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	De acordo com trabalhos anteriores foram calculados os números mínimos de animais para se conseguirem obter diferenças nos resultados que conduzam aos objectivos propostos.
3.Refinement (Refinamento)  Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	Os animais serão periodicamente avaliados pelo médico veterinário responsável pelo estabelecimento, todas as alterações ao estado de saúde reportados e os animais serão eutanasiados se necessário, ainda que o tempo experimental previsto não tenha sido atingido. Mais ainda, nas caixas dos animais artríticos serão colocadas camas mais macias e os alimentos colocados no solo, por forma a minimizar a dor e/ou desconforto destes com a progressão das lesões articulares.

Título do projeto	Papel do gene <i>Ret</i> no desenvolvimento e função do sistema imunitário		
Duração do projeto	60 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	Linfócitos, órgãos linfoides; RET		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) <sup>1</sup>	Investigação fundamental	Sim	
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações		Não

	profissionais		
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Sim	
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	A interação entre diferentes sistemas, nomeadamente entre o sistema imune e o sistema nervoso, não está bem compreendida. Com o nosso projecto, pretendemos entender o papel de RET, um receptor para factores neurotróficos, no desenvolvimento e função do sistema imune. Em particular, queremos perceber de que forma as células nervosas e imunitárias comunicam nos tecidos, em especial o intestino, e como essa interação condiciona as diferentes respostas imunes.		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	Para além de avançar com o conhecimento científico na área de imunidade dos tecidos, o nosso trabalho tem o potencial de contribuir para a uma melhor compreensão de doenças inflamatórias do intestino.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	2200 ratinhos ( <i>Mus musculus</i> )		
No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Para a maioria dos procedimentos realizados em animais espera-se um grau de severidade ligeira ou moderada. No final dos procedimentos os animais não serão reutilizados e serão sacrificados.		
Aplicação dos 3Rs			
1.Replacement (Substituição)  Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Não existem alternativas eficientes que reproduzam a complexidade dos sistemas animais.		
2.Reduction (Redução)  Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Baseado em experiências piloto e em trabalhos já publicados, o número mínimo de animais por grupo experimental foi estimado entre 5 a 10 animais, usado análise estatística com o software Gpower. No entanto a combinação de experiências in vivo, com experiência <i>in vitro</i> quando estas podem ser utilizadas, permitem		

	uma redução do número de animais utilizados.
<p>3. Refinement (Refinamento)</p> <p>Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>As técnicas de transgénese e de alterações genéticas em ratinho estão bem estabelecidas e o tempo de reprodução desta espécie é relativamente curto. O sistema imunitário do ratinho é conhecido em grande detalhe, para além disso, nesta espécie um vasto número de reagentes está disponível para o estudo de células do sistema imunitário. Com particular importância, é também o facto de o sistema imunitário do ratinho e do homem serem bastante semelhantes, e portanto os resultados poderão ser potencialmente mais interessantes para futuras aplicações de diagnóstico e tratamento em humanos. Na nossa perspectiva nenhum outro organismo mais simples preenche todos os requisitos necessários para este projecto.</p> <p>De forma a melhorar o bem estar animal, estes serão armazenados em gaiolas ventiladas e acompanhados pelo médico veterinário responsável do estabelecimento onde os animais são alojados.</p>
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva no final da sua realização.	

Título do projeto	Descodificar o transcriptoma regulado pelo SRF/MRTF nas células endoteliais de ponta		
Duração do projeto	12 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	Angiogénese, cancro, vasos sanguíneos, regulação genética		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim	<del>Não</del>
	Investigação translacional ou aplicada	<del>Sim</del>	Não
	Uso regulamentar e produção de rotina	<del>Sim</del>	Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	<del>Sim</del>	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;	<del>Sim</del>	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	<del>Sim</del>	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	<del>Sim</del>	Não
	Manutenção de colónias de animais	Sim	<del>Não</del>

	geneticamente alterados		
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	O gene SRF controla a expressão de genes envolvidos na formação de novos vasos sanguíneos. A caracterização dos genes efetores neste processo é essencial para encontrar novas vias terapêuticas para lutar contra diversas patologias vasculares.		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	É necessário encontrar novas formas de controlar a formação e função dos vasos sanguíneos para combater o crescimento de tumores sólidos e patologias vasculares, como aneurismas e hemangiomas. Os resultados que serão obtidos neste estudo levaram a um salto qualitativo neste sentido.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Serão utilizados cerca de 160 ratinhos transgênicos da estirpe PDGFB-CreERT2; SRF <sup>fl/fl</sup> e SRF <sup>fl/fl</sup> .		
No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Para os períodos que as experiências estão planejadas não existem efeitos adversos esperados e o grau de severidade esperado é Ligeiro.		
Aplicação dos 3Rs			
1.Replacement (Substituição)  Refira a razão porque precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	A expressão dos genes serão previamente validados por experiências e testes de actividade e função <i>in vitro</i> . No entanto, para poder confirmar os resultados preliminares <i>in vitro</i> , e para poder contextualizar os resultados no processo organotípico da formação dos vasos sanguíneos, é imperativo realizar experiências <i>in vivo</i> , utilizando o modelo genético estabelecido.		
2.Reduction (Redução)  Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Todas as experiências serão realizadas com o número mínimo de animais para realizar uma análise estatística significativa. O número mínimo de 4 a 6 animais por grupo por experiência para uma análise estatística relevante é calculado com na base na experiência adquirida na realização de projetos semelhantes.		
3.Refinement (Refinamento)  Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	O modelo animal utilizado é o único modelo actualmente disponível para realizar a análise pretendida, devido a ser o único modelo genético que permite a inactivação do factor SRF unicamente nas células endoteliais durante o processo de angiogénese. Até ao momento ainda não foi possível criar uma alternativa não animal que reproduza toda a complexidade e seja equivalente ao processo angiogénico <i>in vivo</i> . Assim, torna-se imperativo a utilização deste		

modelo animal. No entanto, especial atenção será tomada em todos os procedimentos para que os animais sejam expostos ao menor sofrimento possível. Qualquer animal que mostre sinais de desconforto, mal-estar, stress, ou doença será imediatamente administrado o tratamento adequado para o problema, medidas tomadas com base nas recomendações do médico veterinário responsável, e se o sofrimento do animal não for passível de ser tratado, eutanásia será aplicada .

Título do projeto	Diabetes Mellitus de tipo I (DMT1) como factor de risco para Osteoporose		
Duração do projeto	6 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	Diabetes mellitus tipo I; osteoporose; turnover ósseo.		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	<p>Objectivos específicos do projecto:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>determinar a composição elementar do osso compacto e trabecular e investigar perfis de concentração para discriminar entre osso normal e osso diabético;</li> <li>avaliar biomarcadores séricos do metabolismo do cálcio, turnover ósseo e controlo metabólico da diabetes, as suas relações recíprocas e com a duração do controlo da doença;</li> <li>analisar a estrutura da microarquitetura do osso e a actividade osteoblástica e osteoclástica;</li> <li>estudar a regulação diferencial dos genes sob dferente tratamento da DMT1;</li> <li>avaliar a associação a expressão génica das células ósseas em doentes T1DM e os resultados</li> </ol>		

	<p>da histomorfometria óssea.</p> <p>A concretização destes objectivos visa preencher as lacunas do conhecimento actual sobre o papel da DMT1 na etiologia da osteoporose, nomeadamente no que concerne,</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• à relação entre a microarquitECTURA do osso e a duração da DMT1 nos primeiros anos da doença e o controlo metabólico da doença,</li> <li>• à composição elementar do osso diabético, uma dimensão importante da resistência óssea à fractura,</li> <li>• à expressão alterada dos genes nas células ósseas dos indivíduos com DMT1 e sua relação com parâmetros histomorfométricos do osso diabético, permitindo examinar os processos patológicos na sua fase mais precoce e, assim, elucidar a possível correlação entre DMT1 e osteoporose desde o início e não em fase tardia da doença.</li> </ul>
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projecto)?	Este projecto preconiza uma abordagem aprofundada e detalhada da relação entre a DMT1 e as alterações ósseas induzidas por esta doença, eliminando os efeitos de co-factores que têm limitado as conclusões dos poucos estudos epidemiológicos conduzidos até hoje, e proporcionando um melhor conhecimento dos mecanismos subjacentes à perda óssea induzida pela DMT1 e do papel desta doença, de incidência e prevalência crescente em Portugal, na etiologia da osteoporose.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	105 ratos Wistar do sexo masculino.
No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projecto?	São esperados os seguintes efeitos adversos resultantes da indução da DMT1 por injeção de STZ: hiperglicemia, hipoinsulinemia, polifagia, poliúria e polidipsia, acompanhadas por perda de peso. No que respeita aos procedimentos a implementar, excepto na occisão, o grau de severidade mais elevado será moderado. No final do projecto, todos os animais serão eutanasiados.
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	O preenchimento das lacunas do conhecimento actual sobre o papel da DMT1 na etiologia da osteoporose não é possível com os dados disponibilizados por estudos epidemiológicos em humanos, uma vez que a manifestação da doença só ocorre após longo processo evolutivo, e muito menos em estudos centrados em organismos menos evoluídos, culturas celulares ou <i>in silico</i> , por não permitirem a recolha de dados relativos às variáveis

	dependentes incluídas neste projecto. Pelo que são necessários estudos com modelos animais validados, como é o caso do modelo utilizado neste projecto, o qual permite examinar os processos patológicos na sua fase mais precoce e, assim, elucidar a possível correlação entre DMT1 e osteoporose desde o início e não em fase tardia da doença.
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Para além da determinação do nº de animais baseada numa análise estatística adequada às questões de investigação formuladas, os animais serão mantidos em condições ambientais controladas, incluindo nutrição, alojamento e ambiente físico adequados, e sujeitos a protocolos experimentais controlados, de forma a reduzir ao mínimo o nº de unidades de investigação necessárias.
3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	A indução da DMT1 experimentalmente no rato por injeção intraperitoneal de estreptozotocina é largamente utilizada, cujo modelo apresenta as manifestações clínicas estáveis da doença em humanos, tais como, hiperglicemia, hipoinsulinemia, poliúria e polidipsia, acompanhadas por perda de peso, rapidamente após a injeção. Os custos do bem-estar animal serão minimizados através da manutenção e manipulação dos animais através de pessoal qualificado, respeito pelas necessidades animais no que respeita ao seu alojamento, definição de limites críticos humanos e recurso a métodos de eutanásia humanitários.

Título do projeto	Identificação de novos genes requeridos para o desenvolvimento do pâncreas de vertebrados explorando o rastreio genético de ruptura de expressão de genes		
Duração do projeto	1 ano		
Palavras-chave (máx. 5)	Peixe-zebra, pancreas, desenvolvimento, pâncreas, genética.		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) <sup>1</sup>	Investigação fundamental	Sim	
	Investigação translacional ou aplicada		Não
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não

	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados <sup>2</sup>	Sim	
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Compreender melhor os mecanismos de desenvolvimento do pâncreas dos vertebrados.		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	O pâncreas dos vertebrados é um órgão pequeno que tem varias funções, entre as quais, controlar os níveis adequados de açúcar no sangue e secretar enzimas que facilitam a digestão. Devido ao seu papel crítico, o pâncreas tem uma enorme importância biomédica e a sua deficiência tem como resultado várias e importantes doenças genéticas em Humanos, como por exemplo a diabetes, uma doença bastante comum que afecta a mais de 340 milhões de pessoas em todo o mundo. O pâncreas está composto por diferentes tipos de células que se diferenciam a partir de células progenitoras comuns. Ainda que as redes genéticas envolvidas na diferenciação celular do pâncreas não sejam inteiramente compreendidas. Neste projecto exploratório iremos encontrar novos genes envolvidos no desenvolvimento do pâncreas através de estudos de perda de função, o que irá melhorar o conhecimento das redes genéticas do pâncreas e como consequência, terá grandes implicações no campo biomédico.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	A espécie a ser usada será o <i>Danio rerio</i> (zebrafish). Irão ser usados aproximadamente 20 animais diários para a produção de embriões. Para os restantes procedimentos experimentais usaremos exclusivamente embriões de peixe-zebra ( <i>Danio rerio</i> ), nos estadios embrionários que precedem o início da alimentação autónoma.		
No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Não se esperam efeitos adversos severos. O protocolo de cruzamento implica apenas o manuseamento de animais para transporta-los das jaulas de manutenção para as jaulas de cruzamento. Isto poderá provocar stress aos animais, por essa razão só iremos usar cada animal 1 vez por semana, passando o resto do tempo em recuperação. Após a realização do projecto os animais irão ser mantidos na fish facility como stocks gerais.		
Aplicação dos 3Rs			
1.Replacement (Substituição)	O objectivo deste estudo é compreender as redes		



<p>Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>genéticas envolvidas na organogênese do pâncreas do peixe-zebra. Para tal necessitamos compreender qual é o requerimento de determinados genes na formação dos diferentes tipos celulares do pâncreas, como estes tipos celulares se organizam para formar este órgão e compreender como os defeitos no desenvolvimento do pâncreas afectam o organismo. O uso de sistemas mais simples como o de cultura de células <i>in vitro</i> não nos podem ajudar, visto que o nosso objecto de estudo é um sistema complexo que envolve não só uma perspectiva celular mas também do órgão e do organismo. Visto que o nosso órgão de estudo só existe na linhagem dos vertebrados, temos de usar um modelo vertebrado.</p>
<p>2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>O número de adultos usados para estabelecer os cruzamentos e obtenção de embriões será otimizado ao longo do tempo. A eficiência de cada cruzamento será tomada em conta de modo a não se efectuar cruzamentos que ultrapassem a necessidade de produção de embriões.</p>
<p>3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>O peixe-zebra (<i>Danio rerio</i>), o modelo animal que iremos usar neste projecto, é por si só uma excelente alternativa a outros modelos vertebrados como mamíferos. Gostaria de acrescentar que para as experiências propostas iremos usar exclusivamente embriões de peixe-zebra, nos estádios embrionários que precedem o início da alimentação autónoma. A obtenção destes embriões não implica o sacrifício dos progenitores tal como nos modelos de mamíferos. No entanto, para a obtenção desses embriões teremos de manusear adultos para estabelecer cruzamentos. Para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais iremos:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Manter os animais em aquários de cruzamento durante o menor tempo possível, sendo alimentados e devolvidos aos aquários de manutenção assim que o cruzamento termine.</li> <li>- Iremos garantir que as condições dos aquários de cruzamento sejam as adequadas para este modelo animal, gerando o menor stress possível para os animais. Para tal iremos garantir que a água usada para os cruzamentos mantém os parâmetros adequados para o peixe zebra.</li> <li>- Os animais usados para os cruzamentos só irão ser usados uma vez por semana, permanecendo o resto do tempo em repouso.</li> </ul>

<p>Título do projeto</p>	<p>Modulação do <i>design</i> animal: função dos ligandos do Hoxd13 no desenvolvimento dos membros dos vertebrados</p>
--------------------------	--

Duração do projeto	1 ano	
Palavras-chave (máx. 5)	vertebrado, hoxd13, ligando, peixe-zebra, embriões	
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	X
	Investigação translacional ou aplicada	
	Uso regulamentar e produção de rotina	
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	
	Investigação destinada à conservação das espécies;	
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	
	Inquéritos no domínio da medicina legal	
Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Durante este projecto exploratório iremos usar a linha transgénica de peixe-zebra que desenvolvemos anteriormente (hsp70:hoxd13a) para investigar de que forma os ligandos do gene Hoxd13 se alteram com a modulação do seu nível de transcritos.	
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	Este projecto permitirá um maior conhecimento sobre os mecanismos de desenvolvimento embrionário que podem ter estado na origem da evolução dos apêndices locomotores nos vertebrados possibilitando a transição do meio aquático para o meio terrestre. Para além disso, este projecto vai também tornar possível entender de que forma mutações neste gene provocam malformações nos membros dos humanos durante o desenvolvimento embrionário.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Danio rerio, 2 a 10 indivíduos adultos para efetuar cruzamentos com vista à obtenção de ovos semanalmente durante todo o período do projecto.	

<p>No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?</p>	<p>Não estão previstos efeitos adversos e os animais serão mantidos vivos após o final do projecto. A eutanásia será utilizada apenas em situações de injúria, doença ou estado infecto-contagioso.</p>
<p>Aplicação dos 3Rs</p>	
<p>1.Replacement (Substituição)</p> <p>Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Esta questão tem que ser estudada no contexto de um organismos porque necessitamos de ver as alterações fenotípicas causadas pela sobre-expressão do gene Hoxd13 durante as primeiras fases do seu desenvolvimento. Dentro dos modelos animais disponíveis, o peixe-zebra evita estudos em ratinho e rato evitando a eutanásia para a obtenção de embriões.</p>
<p>2.Reduction (Redução)</p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Serão usados apenas 2 a 10 animais semanalmente para a obtenção do apropriado número de ovos e estes serão mantidos vivos durante toda a sua vida.</p>
<p>3.Refinement (Refinamento)</p> <p>Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>Para realizar os procedimentos experimentais usaremos exclusivamente embriões de peixe-zebra (Danio rerio), nos estadios embrionários que precedem o início da alimentação autónoma. No entanto, para a obtenção desses embriões, vamos também manusear adultos. Esses adultos serão mantidos num sistema de aquários preparado para este efeito, em sala própria, em que serão mantidas todas as condições de alimentação, ciclo de luz, temperatura e características bioquímicas da água requeridas para a apropriada manutenção dos animais. O seu bem estar vai também ser garantido através do correcto manuseamento dos mesmos sendo a eutanásia um procedimento a utilizar apenas em situações de injúria, doença ou estado infecto-contagioso. O investigador responsável pelo projecto bem como os outros membros da equipa têm formação e acreditação legal para experimentação animal, condição que será obrigatória para todos os futuros membros da equipa.</p>

<p>Título do projeto</p>	<p>Terapia de Coroideremia baseada em células</p>
<p>Duração do projeto</p>	<p>2 anos</p>
<p>Palavras-chave (máx. 5)</p>	<p>Coroideremia, Células Estaminais Pluripotentes</p>

	Induzidas, Medicina Regenerativa		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	<del>Sim</del>	Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	<del>Não</del>
	Uso regulamentar e produção de rotina	<del>Sim</del>	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	<del>Sim</del>	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;	<del>Sim</del>	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	<del>Sim</del>	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	<del>Sim</del>	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	<del>Sim</del>	Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	<p>A Coroideremia é uma doença hereditária rara que causa perda progressiva da visão causada pela ausência da proteína REP-1 (RAB Escort Protein-1). A cegueira é causada por degeneração de várias camadas existentes na parte posterior do olho, nomeadamente a coróide, o epitélio pigmentar da retina e a retina. Uma vez degeneradas, as células que constituem estas camadas perdem as suas capacidades funcionais, daí que estratégias que passem pela transplantação e substituição do tecido lesado demonstrem potencial terapêutico para estes doentes. Com este projecto, pretendemos realizar experiências preliminares de modo a confirmar a aplicabilidade duma terapia celular no caso da Coroideremia. Propomos usar células estaminais, em particular células estaminais pluripotentes induzidas (iPS cells), que podem ser obtidas em laboratório sem recurso a embriões. Estas células estaminais pluripotentes serão diferenciadas em Epitélio Pigmentar da Retina, que pode ser posteriormente usado em ensaios de transplantação.</p>		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	<p>A Coroideremia é uma doença degenerativa que causa cegueira. Ainda não existe cura, apesar dos recentes avanços promissores em terapia genética. Contudo, nos doentes em que o estado degenerativo das várias camadas celulares da retina já está avançado apenas uma estratégia de transplantação irá providenciar benefícios terapêuticos. Com este projecto, pretendemos</p>		

	estabelecer protocolos experimentais para explorar o potencial terapêutico das iPS cells e diferenciá-las em células funcionais do Epitélio Pigmentar da Retina. Estas experiências usando células de murganho pretendem funcionar como prova de conceito dos benefícios de aplicar estratégias regenerativas na Coroideremia, assim como em outras doenças degenerativas da retina.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Murganhos NOD.Scid, 32 animais por ano num total de 64, no máximo.
No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	O animal será sujeito a uma injeção subcutânea com o objectivo de haver indução de tumor. O nível de stress provocado é reduzido apesar de prolongado no tempo. Isto porque para se poder fazer uma caracterização histopatológica do tumor benigno formado (teratoma) é necessário esperar 30-45 dias até ter 1-2 cm <sup>3</sup> . É uma limitação decorrente da técnica e não existe como evitá-lo. No fim da experiência, os animais são sacrificados por deslocamento cervical.
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	As células estaminais usadas neste projecto (iPS cells) são produzidas no laboratório e como tal, precisam de ser devidamente caracterizadas, nomeadamente em termos de comprovar a sua pluripotência. Neste projecto várias linhas celulares de iPS cells serão obtidas por reprogramação celular de células dum modelo animal de Coroideremia. Para uma confirmação definitiva de que estas linhas celulares atingiram um estado de verdadeiramente pluripotência, temos que recorrer a um ensaio de diferenciação <i>in vivo</i> através da formação de teratomas, um dos mais robustos ensaios disponíveis. Assim podemos confirmar que estas células têm capacidade de diferenciação em células das três linhagens germinativas.
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	No decorrer deste projecto, várias linhas celulares de iPS cells serão obtidas e caracterizadas. Primariamente será comprovado a morfologia, a auto-renovação e a expressão de marcadores típicos de pluripotência. Posteriormente, serão sujeitas a um ensaio de diferenciação <i>in vitro</i> (através de Embryoid Bodies). Apenas as linhas celulares que satisfaçam todos estes critérios prévios serão sujeitos ao ensaio do teratoma, de modo a aumentar a probabilidade de sucesso do mesmo e a minimizar o número de animais a usar. Para além disto as experiências serão devidamente e cuidadosamente planeadas de modo a otimizar todo o processo.

<p>3. Refinement (Refinamento)  Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>Para os estudos a realizar, é recomendado o uso de murganhos imunocomprometidos de modo a minimizar o risco de rejeição imune das células injectadas. Os ratinhos NOD.Scid demonstraram, em estudos anteriores, tolerar a injeção de células estaminais pluripotentes, quando comparados com ratinhos imunocompetentes. Os murganhos após injeção das células serão vigiados cada 2-3 dias. Em caso de dor ou stress, evidência de morbilidade (como alteração no pêlo, na postura e/ou mobilidade), haverá decisão pela eutanásia. O mesmo acontecerá se o tumor exceder 10% do peso corporal ou se houver evidência de que o tumor se disseminou para um órgão secundário (o que não é esperado no caso dos teratomas).</p>
---	--

Título do projeto	Determinação das bases moleculares da transferência de melanossomas na pigmentação cutânea		
Duração do projeto	Seis meses		
Palavras-chave (máx. 5)	Melanossomas, Rab27a, Rab11b, silenciamento, siRNA		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim	
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	A pele é o maior órgão do corpo humano e a pigmentação cutânea tem um papel fundamental na protecção do organismo contra a acção nociva da radiação ultra-violeta. A “unidade de pigmentação” epidérmica consiste no complexo funcional no qual melanócitos (as células que produzem o pigmento cutâneo melanina) e queratinócitos (as células epiteliais mais numerosas da pele, constituindo a sua camada mais periférica, a epiderme) funcionam conjuntamente de forma		

	<p>sinérgica no sentido de manter o equilíbrio da pigmentação cutânea. A transferência da melanina dos melanócitos (dadores) para os queratinócitos (receptores) é um processo fundamental subjacente ao fenómeno de pigmentação e fotoprotecção contra os danos induzidos pela radiação ultravioleta. Contudo, o mecanismo de transferência da melanina dos melanócitos para os queratinócitos continua a ser controverso. Este trabalho tem por objectivo estudar as bases moleculares da transferência de melanina entre as células da epiderme.</p>
<p>Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?</p>	<p>A pigmentação cutânea tem implicações importantes na aparência estética do indivíduo, no fotoenvelhecimento e no cancro cutâneo. Pretende-se que este trabalho contribua com um melhor entendimento sobre certos pormenores das bases moleculares da transferência da melanina bem como o desenvolvimento de um novo modelo <i>in vivo</i> de pigmentação cutânea, que poderá ser do interesse da indústria farmacêutica. O murganho transgénico SCF nunca foi usado como modelo <i>in vivo</i> para estudo de mecanismos de pigmentação. Por esse motivo, este trabalho contribuirá também para perceber o seu potencial como modelo animal em estudos de pigmentação cutânea.</p>
<p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p>	<p>Murganho SCF, 30 animais.</p>
<p>No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?</p>	<p>Os efeitos adversos esperados são os localmente decorrentes das injeções de anestésico e de adenovirus vectores de siRNA, associados a um grau ligeiro de perturbação e severidade. No final da realização do projecto os animais serão sacrificados por narcose com CO2.</p>
<p>Aplicação dos 3Rs</p>	
<p>1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Visto o objectivo deste trabalho ser a confirmação do papel da Rab 11b e Rab27a no processo de transferência de melanina dos melanócitos para os queratinócitos <i>in vivo</i>, a utilização de animais como modelo experimental é mandatária. É importante referir que este trabalho segue-se aos estudos do nosso grupo em células em cultura. Contudo, a pele tem uma histo-arquitectura complexa e bem definida que não pode ser reproduzida <i>in vitro</i>. Daí que a utilização de um modelo animal <i>in vivo</i> seja essencial na nossa fase de estudo.</p>
<p>2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>As experiências serão cuidadosamente planeadas de modo a otimizar todo o processo. Com base nisto, utilizar-se-ão sempre os números mínimos de animais com vista a obter o número de amostras</p>

	cutâneas a ser caracterizadas histologicamente suficiente para caracterizar de forma estatisticamente significativa os efeitos do silenciamento de moléculas específicas que se acredita estarem implicadas no fenómeno de pigmentação cutânea.
<p>3. Refinement (Refinamento)</p> <p>Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>Os animais a ser utilizados são murganhos transgênicos SPF, visto estes animais possuírem melanócitos em toda a epiderme, não apenas folicular (como sucede com a generalidade dos murganhos não albinos), mas também interfolicular, configurando estes animais, por este facto, um bom modelo animal de pigmentação cutânea dos mamíferos.</p> <p>Os animais serão monitorizados a cada três dias e não é expectável que os procedimentos venham a causar qualquer sofrimento.</p> <p>Não é previsível que venha a ser induzida dor ou desconforto aos animais visto o pavilhão auricular ser escassamente inervado. Ainda assim, os animais irão ser anestesiados com administração de anestésico por via intra-peritoneal, previamente à injeção intra-dérmica auricular. Não esperamos sintomas ou infeção locais após injeção de adenovirus em virtude destas partículas virais não produzirem infeção clinicamente sintomática. Contudo, em caso de sinais de infeção, dor ou sofrimento, tais como perda de peso, atrofia muscular, posição flectida, apatia ou agressividade, os animais serão eutanasiados. Também não é esperado qualquer fenótipo específico de nenhuma entidade patológica.</p>

Título do projeto	Biocerâmicas na regeneração tecidual em perfurações de furca num modelo canino		
Duração do projeto	6 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	Biocerâmicas; regeneração; perfuração; furca;		
Fim/objectivo do projecto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não



	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	O objetivo deste estudo visa a comparação das respostas dos tecidos perirradiculares e pulpares após aplicação de uma biocerâmica e um Gold Standard em perfurações de furca induzidas, com recurso a análise radiográfica e histológica.		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	Este trabalho visa ser um contributo para o melhor conhecimento dos materiais utilizados no tratamento de perfurações de furca, permitindo realizar uma escolha mais correta e melhorar o prognóstico do tratamento deste tipo de lesões que normalmente é reservado.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Cães (cinco)		
No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Efeitos adversos mínimos, com grau de severidade esperado ligeiro. No final do projeto os animais serão eutanasiados.		
Aplicação dos 3Rs			
1.Replacement (Substituição) Refira a razão porque precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	A necessidade de utilização de cães é justificada pelo facto de o material histoindutor a ser utilizado já ter sido amplamente testado <i>in vitro</i> relativamente às suas propriedades físicas e citotoxicidade, existindo necessidade de ser validado em modelo mamífero superior, sendo o cão o modelo mais adequado.		
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	O número de animais necessários a utilizar tem em conta os modelos de perfurações de furca previamente utilizados e validados, permitindo ter um modelo com validade estatística, utilizando o menor número de animais. Para este modelo serão utilizados o 2º e 3º pré-molar maxilar e o 2º, 3º e 4º pré-molar mandibular, devido às características anatómicas, utilizando assim um numero mínimo de animais.		
3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	Os cães serão utilizados devido às semelhanças morfofisiológicas com o periodonto humano e ao facto dos dentes apresentarem um distanciamento entre as raízes que permite executar mais facilmente os procedimentos. Os dentes são suficientemente grandes para facilitar o estudo da reação tecidual e permitir um amplo espaço para a perfuração. Neste caso em particular, o modelo canino tem um número maior de dados		

	bibliográficos relativos ao material controlo que permite mais fidedignamente comparar os resultados.
--	---

Título do projeto	O sistema renina-angiotensina como alvo para o tratamento de doenças oculares		
Duração do projeto	1 ano e 6 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	Renina, doenças oculares, angiogénese, stress oxidativo, aliscireno		
Fim/objetivo do projeto(de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Estudar o sistema renina-angiotensina em modelos <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> de células da retina. Avaliar a contribuição deste sistema na progressão/desenvolvimento de doenças oculares. Testar o efeito dum inibidor directo da renina (aliscireno) na inibição de parâmetros característicos de doenças oculares.		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	As terapias que existem actualmente para o tratamento de doenças oculares não são totalmente eficazes. Os fármacos utilizados nestas patologias não actuam no inicio da cascata de reacções. A abordagem proposta neste projecto (administração intra-ocular do aliscireno) consiste numa intervenção mais directa a nível de inibição duma das principais vias que contribui para o desenvolvimento das doenças oculares. Assim acreditamos que o aliscireno trará grandes benefícios em relação a outros inibidores do sistema renina-angiotensina normalmente usados no tratamento de patologias oculares..		

Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Serão utilizados aproximadamente 100 murganhos ( <i>Mus musculus</i> ).
No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Neste projecto irá ser administrado aos animais aliscireno através de injeções intra-oculares. As injeções serão realizadas exclusivamente por investigadores devidamente treinados e certificados pelo que esse facto garantirá o mínimo de dano ou dor aos animais. Após a injeção, e de acordo com os dados preliminares dos estudos <i>in vitro</i> , os animais serão mantidos por um período de tempo. Após esse tempo os animais serão sacrificados.
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	As primeiras tarefas deste projecto consistem em otimizar o efeito do aliscireno na inibição do sistema renina-angiotensina. Estes estudos serão realizados em modelos <i>in vitro</i> de células da retina. Visto as doenças oculares afectarem milhões de pessoas em todo o mundo, é imprescindível testar o efeito do aliscireno em modelos <i>in vivo</i> e, deste modo, na fase adequada do projecto avançaremos para modelos animais.
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Neste projecto pretendemos estudar o efeito do aliscireno em animais com diferentes idades, de modo a cobrir todos os estadios da doença (antes, durante e fase final). Para cada estadio usaremos unicamente o número mínimo de animais necessário em cada experiência, os quais serão definidos através de testes estatísticos adequados.
3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar(danos) aos animais.	Neste projecto usaremos o murganho como modelo animal. O murganho é um animal de fácil manutenção e reprodução em colónia. O órgão objecto de estudo neste projecto – olho – é de fácil acesso e com características anatómicas semelhantes ao humano. Os murganhos utilizados neste projecto estão devidamente alojados num biotério certificado e serão única e exclusivamente manipulados por investigadores treinados que garantirão todas as condições de conforto e bem-estar antes, durante e após os procedimentos.

Título do projeto	Caracterização do mecanismo molecular envolvido na retenção de esporozoítos de <i>Plasmodium</i> nos sinusoides hepáticos		
Duração do projeto	5 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	<i>Plasmodium</i> , fígado, malária, infeção,		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Não	
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de		Não

	rotina		
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados <sup>2</sup>		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc).	<p>Este projeto tem como foco a fase pre-eritrocitária da infecção por <i>Plasmodium</i> e recorre à combinação de abordagens de biologia molecular, biologia celular e técnicas de imagem em tempo real para:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Caracterização do mecanismo molecular envolvido na retenção de esporozoítos de <i>Plasmodium</i> nos sinusoides hepáticos;</li> <li>2. Estudar a contribuição do fígado como órgão linfóide durante a fase pre-eritrocitária;</li> </ol>		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	Com este projeto pretende-se contribuir para o desenho racional de uma vacina que interfira com a fase hepática do <i>Plasmodium</i> decifrando para tal mecanismos moleculares que se estabelecem entre o parasita e o hospedeiro		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Murganhos: NMRI/ Swiss/Balb/c /C57Bl6 Ratos: Wistar Estima-se a utilização anual de 800 animais.		
No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	O grau de severidade provável é ligeiro. Os animais infectados com esporozoítos ou formas sanguíneas de <i>Plasmodium</i> vão ser mantidos em experiência apenas durante a fase assintomática da infeção sendo posteriormente eutanasiados.		
<b>Aplicação dos 3Rs</b>			
<b>1.Replacement (Substituição)</b> Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	O ciclo de vida do <i>Plasmodium</i> divide-se entre dois hospedeiros principais. Um hospedeiro mamífero e um hospedeiro invertebrado nomeadamente o mosquito fêmea Anopheles. Por sua vez, em cada hospedeiro o parasita diferencia-se em vários estádios. Atualmente não existem técnicas que permitam a realização da totalidade do ciclo de vida do parasita <i>in vitro</i> , pelo que é necessária a utilização de modelos animais nomeadamente, rato e ratinho. Nas espécies de parasitas que infectam os roedores, o ciclo sanguíneo não é reprodutível <i>in vitro</i> . Como tal, os parasitas têm		

	<p>que ser propagados no sangue dos animais. No entanto para as nossas experiências não são necessários a obtenção nem de elevados níveis de parasitemia nem do aparecimento de complicações. Relativamente aos estudos na fase pre-eritrocitária, algumas experiências podem ser realizadas in vitro, como por exemplo as experiências de infeção de hepatocitos pelo parasita. Contudo, alguns estudos deverão decorrer in vivo, exatamente pelo interesse do modelo de ratinho. No entanto, a infecção permanecera assintomática</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b>  Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>O desenho experimental foi otimizado de modo a reduzir o número de animais em cada experiência permitindo contudo a aplicação de métodos estatísticos e a obtenção de conclusões.</p>
<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b>  Explique a escolha da(s) espécie e a razão por que o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>No sentido de garantir o bem-estar do animal, as experiências serão efectuadas por pessoal devidamente formado e licenciado pela DGV, as gaiolas terão enriquecimento ambiental e “humane endpoints” serão pré-definidos para determinar o fim das experiências. Para tal os animais serão monitorizados diariamente e ser-lhes-á fornecida fluidoterapia sempre que percam 10% do seu peso corporal, ou serão eutanasiados se perderem 20% do peso corporal.</p>

Título do projeto	Biomarcadores e mecanismos na cistite intersticial		
Duração do projeto	1 ano		
Palavras-chave (máx. 5)	Cistite intersticial; síndrome doloroso vesical; biomarcadores; recetores adrenérgicos;		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	<p>Durante os últimos 3 anos o grupo testou a hipótese que a BPS/IC é consequência de uma disfunção do sistema nervoso simpático. Esta hipótese nunca antes tinha sido explorada, apesar de algumas evidências sugerirem que a alteração do sistema nervoso simpático está subjacente a outras patologias dolorosas crónicas, como é o caso da síndrome doloroso regional crónico e algumas formas de dor neuropática. O grupo acumulou evidências substanciais que suportam esta hipótese, quer do ponto de vista clínico quer do ponto de vista experimental. Nos doentes com BPS/IC, detetou-se uma hiperatividade do sistema nervoso simpático e altos níveis de noradrenalina na urina, que se correlacionam com a intensidade da dor. Do ponto de vista experimental, demonstrou-se que a estimulação adrenérgica prolongada induz um estado de hiperalgesia vesical, induz um aumento da frequência urinária e causa alterações morfológicas na bexiga do rato que imitam as observadas nos doentes com BPS/IC.</p>		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	Tendo em consideração estes achados que relacionam a BPS/IC com uma disfunção do sistema nervoso simpático, abrem-se novas oportunidades de investigação.		

	<p>A primeira é na área dos biomarcadores. A falta de um teste de diagnóstico objetivo não invasivo para a BPS/IC dificulta o respetivo diagnóstico diferencial. Mais ainda, até à data não existem testes que ajudem a monitorizar a doença. Possuindo dados que apontam um envolvimento do sistema nervoso simpático na origem da BPS/IC, o grupo pode agora explorar biomarcadores urinários relacionados com a atividade simpática, incluindo a determinação de catecolaminas e respetivas enzimas de metabolização (incluindo a recentemente descrita renalase). Utilizar-se-ão as urinas dos doentes que se encontram armazenadas no nosso laboratório.</p> <p>Outra oportunidade que o nosso estudo prévio abriu foi o uso de antagonistas dos recetores adrenérgicos para o tratamento da BPS/IC. Neste momento, as normas da Associação Europeia de Urologia para a BPS/IC não consideram estes fármacos como opção. Contudo, se considerarmos a presença de um excesso de atividade simpática, estes fármacos surgem como uma opção lógica. No entanto, é necessária a identificação do subtipo de recetores adrenérgicos implicados. Isto será o objetivo da segunda tarefa.</p> <p>A terceira oportunidade que os nossos achados prévios oferecem é a investigação da interação entre os recetores adrenérgicos e as vias nociceptivas, a nível celular. Tal interação nunca foi investigada mas pode ser relevante não só para se entender a BPS/IC como também outras patologias dolorosas. O conhecimento desta via poderá eventualmente contribuir para a identificação de novos alvos terapêuticos que ajudem a criar novos fármacos analgésicos.</p>
<p>Que espécies de animais e que número aproximado de animais serão utilizados?</p>	<p>132 ratos fêmeas Wistar, 6 ratinhos fêmeas knockout para alfa 1a adrenoreceptor, 6 ratinhos fêmeas knockout para alfa 1d adrenoreceptor, 6 ratinhos fêmeas knockout para o TRPV1 e 18 ratinhos fêmeas C57BL6J;</p>
<p>No contexto do que se propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?</p>	<p>Moderado.</p> <p>Serão sacrificados.</p>
<p>Aplicação dos 3Rs</p>	
<p>1.Replacement (Substituição)</p>	<p>Na realização das tarefas utilizam-se animais e</p>

Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	alternativa não-animais. Os animais são usados somente quando se pretende verificar os efeitos sistêmicos de determinados tratamentos.
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	As experiências aqui desenhadas visaram o uso mínimo de animais. Os procedimentos a aplicar já se encontram estandardizados e como tal o erro experimental é mínimo.
3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	A escolha dos animais (Wistar, C57BL6J e transgênicos) deve-se ao fato destes animais reproduzirem satisfatoriamente o nosso organismo e por experiências anteriores terem usado estas mesmas espécies, o que irá permitir uma comparação dos resultados. Tendo em conta que se trata de estudos que poderão envolver algum desconforto ou dor por parte dos animais, as experiências foram desenhadas para reduzir ao máximo estes efeitos nocivos sem comprometer o próprio resultado experimental.

Título do projeto	Efeito da inclusão de macroalgas na dieta de animais ruminantes nas funções ruminal e imunitária		
Duração do projeto	5 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	Macroalgas; ruminantes; função ruminal; função imunitária		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) <sup>1</sup>	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou aplicada		Não
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Sim	
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados <sup>2</sup>		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Durante muito tempo, animais como ovelhas, vacas e cavalos de regiões da costa foram alimentados com macroalgas. Apesar do potencial das algas enquanto fonte proteica para animais, reduzida investigação tem sido dirigida para a sua avaliação enquanto ingrediente da dieta. Essa investigação tem sido ainda mais escassa com		



	<p>animais ruminantes e os estudos que existem consideram a biomassa ou extratos de alga como melhoradores da dieta e não como ingrediente. Estes estudos mostram potencial das algas enquanto ingrediente alternativo, mas a informação relativa aos efeitos no rúmen e a variedade de espécies avaliadas são reduzidas. Que tenhamos conhecimento, há escassa informação relativa ao valor nutritivo de macroalgas naturalmente recolhidas na nossa costa ou disponíveis no mercado português. Assim sendo, este projeto tem como objetivo geral avaliar o potencial de macroalgas como fontes proteicas na alimentação de ruminantes. Dadas as algas possuírem compostos biologicamente ativos com conhecidos efeitos benéficos, a função imunitária será avaliada em ensaio in vivo com borregos.</p>
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	No final deste projeto exploratório, esperamos ser capazes de identificar o potencial das macroalgas como ingredientes da dieta de animais ruminantes. Outro benefício residirá na valorização das algas enquanto recurso natural.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Serão utilizados animais da espécie <i>Ovis aries</i> (6 ovelhas e 10 borregos)
No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	O grau provável de severidade será nenhum/ligeiro, o animal manter-se-á sem alterações fisiológicas e etológicas. Na primeira experiência, as ovelhas manter-se-ão vivas após a experiência, sendo enviadas para o seu alojamento habitual juntamente com os outros animais da instituição. No final da segunda experiência, os borregos serão eutanasiados.
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Sendo objetivo do projeto avaliar o efeito da inclusão de macroalgas na dieta de animais ruminantes na sua função ruminal e imunológica, e tendo nós já realizado ensaios <i>in vitro</i> de modo a testar a potencialidade e efeitos das macroalgas, é essencial estudar no animal vivo.
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Um número reduzido de animais pode não permitir detetar efeitos biológicos importantes e um número elevado de animais pode representar um desperdício de recursos. Dada a escassez de estudos existentes nesta área em particular, não existe informação segura do desvio padrão esperado, pelo que não é possível determinar o número de animais a utilizar em cada experiência através da Power Analysis. Assim sendo, foi utilizada a Resource Equation (ver "Mead R. 1988.

	The design of experiments. Cambridge, New York: Cambridge University Press. 620 p.” e/ou “Guidelines for the design and statistical analysis of experiments using laboratory animals. Festing MF, Altman DG, ILAR J. 2002; 43(4):244-58) baseada na lei dos acréscimos decrescentes, ou seja, a partir do momento que a experiência atinge uma determinada dimensão, a adição de mais unidades experimentais fornece muito pouca informação. Desta forma, a dimensão apropriada foi determinada a partir do número de graus de liberdade do termo do erro na análise de variância ou teste-t.
3. Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objectivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	Dado o projeto ter como objetivo a avaliação do efeito da inclusão de macroalgas na dieta de animais ruminantes na sua função ruminal e imunológica, foram selecionados os ovinos pela sua facilidade de manutenção. Os animais serão alojados em condições que garantam o seu bem-estar e os procedimentos terão um grau de adversidade nulo.

Título do projeto	Terapia de Modulação de <i>Splicing</i> para a Distrofia Muscular de Duchenne		
Duração do projeto	2 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Terapia, Splicing; Distrofia Muscular de Duchenne		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas,	A Distrofia Muscular de Duchenne é uma doença genética hereditária de transmissão recessiva associada ao cromossoma X para a qual não se		

etc)	conhece cura. Este projecto visa a utilização de terapia genética recentemente descrita usando fármacos inovadores para a terapia desta doença, num modelo animal, por injeção de um oligonucleótido terapêutico.		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	Os benefícios que poderão derivar deste projeto serão a validação desta terapia inovadora ao nível do modelo animal da doença.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	A espécie animal a utilizar é a <i>Mus musculus</i> , prevendo-se a necessidade de utilização de cerca de 36 animais.		
No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Os efeitos adversos esperados são residuais, pois a expectativa é de que a reposição da produção da proteína em falta, por baixa que seja, tenha efeitos benéficos no doente. Os efeitos adversos serão diminutos porque a interferência com a expressão genética em geral será apenas residual. No final do projecto o destino dos animais será decidido tendo em conta a necessidade destes para projectos subsequentes.		
Aplicação dos 3Rs			
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Este projecto de validação num modelo animal é subsequente aos resultados promissores anteriormente obtidos em linhas celulares cultivadas <i>in vitro</i> .		
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	O número mínimo de animais a utilizar é garantido por uma cuidada preparação das experiências a realizar e por uma correcta avaliação dos resultados, após cada experiência.		
3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	A escolha da espécie, <i>mus musculus</i> , foi decidida por ser o animal mamífero mais usado em experimentação animal e para a qual existem condições de manutenção no Instituto de investigação em que o projecto se enquadra. Adicionalmente foi decisivo para a escolha, a existência de um modelo da doença em estudo.		

Título do projeto	SweetMic – Utilização de microesponjas "doces" como armadilha para <i>Helicobacter pylori</i> : uma nova alternativa para o tratamento da infecção gástrica.		
Duração do projeto	5 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Biomateriais; microesferas; quitosano; <i>Helicobacter pylori</i> ; cancro gástrico.		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	<del>Sim</del>	Não
	Investigação translacional	ou	Sim
			<del>Não</del>

	aplicada		
	Uso regulamentar e produção de rotina	Sim	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Sim	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;	Sim	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Sim	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Sim	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Sim	Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	<p>Para que a bactéria <i>Helicobacter pylori</i> infecte o estômago, é necessário que esta adira à mucosa gástrica. Este processo é mediado por adesinas bacterianas (como a Blood group antigen binding adhesin - BabA) que reconhecem especificamente estruturas glicosiladas da mucosa gástrica (nomeadamente o Lewis B - Leb).</p> <p>A nossa equipa demonstrou que é possível imobilizar diferentes glicanos em biomateriais, de forma a produzir superfícies específicas para <i>H. pylori</i> com diferentes adesinas (patente internacional submetida). Sabendo isto e que indivíduos infetados com estirpes <i>H. pylori</i> BabA+ têm risco acrescido para desenvolver cancro gástrico, este projecto propõe uma alternativa inovadora para o tratamento da infeção gástrica por <i>H. pylori</i>. A estratégia baseia-se no desenvolvimento de micropartículas de quitosano (Mic Ch) decoradas com receptores Leb, de modo a que, após administração oral, possam ligar selectivamente <i>H. pylori</i> e removê-las da mucosa gástrica pelo trato intestinal.</p> <p>Prevê-se que as Mic Leb sejam mais eficientes que as Mic Ch devido à presença dos glicanos, mas as Mic Ch são mucoadesivas e ligam inespecificamente várias estirpes de <i>H. pylori</i>, inclusivamente a estirpe SS1 que infecta murganhos C57BL/6, sendo por isso previsível que também estas possam eliminar a infecção.</p> <p>Estes resultados fornecerão informações imprescindíveis para o estabelecimento de um novo tratamento ou profilaxia para a infeção por <i>H. pylori</i> em humanos, tendo igualmente potencial para ser usado como terapia complementar à terapêutica com antibióticos actualmente aplicada.</p>		

<p>Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projecto)?</p>	<p><i>Helicobacter pylori</i> (<i>H. pylori</i>) coloniza mais de 50% da população mundial, atingindo uma incidência de 80-90% em Portugal. A infeção persistente por esta bactéria provoca lesões gástricas que podem evoluir para gastrite ou mesmo carcinoma gástrico. A terapia atual, que engloba uma combinação de antibióticos, falha em cerca de 20% dos casos, resultando na permanência de infeção em potencialmente cerca de 140 milhões de pessoas no mundo. Por este motivo, é urgente encontrar terapias alternativas.</p>
<p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p>	<p>Neste projeto serão usados murganhos C57BL/6 (que expressam Leb na mucosa gástrica) para testar <i>ex-vivo</i> a eficiência das Mic Ch e Mic Leb para remover/prevenir a infeção por <i>H. pylori</i> (sendo assim possível usar uma estirpe de <i>H. pylori</i> BabA+), e <i>in vivo</i> o tempo de retenção das Mic Ch e Mic Leb no estômago e a eficiência das Mic Ch. Está estimado o uso de 92 murganhos C567BL/6 por ano.</p>
<p>No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?</p>	<p>Na 3ª experiência haverá necessidade de fazer várias gavagens pois tanto a infeção dos animais com <i>H. pylori</i>, como a administração das Mic são feitas oralmente por gavagem para garantir a administração do número certo de bactérias e micropartículas, respectivamente. Embora não esteja associado a dor, este procedimento é desconfortável e, por esse motivo, considero que o grau de severidade é moderado. Caso a gavagem seja correctamente realizada não se esperam efeitos secundários deste procedimento. Animais com sinais de pneumonia respiratória devido a aspiração do conteúdo da gavagem serão eutanasiados. Uma vez que todas as experiências pressupõem a análise do estômago ou de outros órgãos para avaliação do resultado, no final de cada experiência todos os animais deverão ser sacrificados.</p>
<p>Aplicação dos 3Rs</p>	
<p>1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Com o objectivo de evitar o sacrifício desnecessário de animais, os estudos de citotoxicidade serão feitos inicialmente <i>in vitro</i> usando uma linha celular gástrica e só as concentrações que se verificarem não tóxicas serão testadas em relação ao tempo retenção gástrico.</p>
<p>2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Com o objectivo de diminuir o número de animais, a eficiência das Mic Ch e Mic Leb será inicialmente avaliada num modelo <i>in vitro</i> usando seções de mucosas gástricas incluídas em parafina. Para além disso, sempre que possível os estudos <i>ex-vivo</i> de eficiência e <i>in vivo</i> do tempo de retenção serão realizados com animais incluídos</p>

	em experiências de outros investigadores (grupos controlo com estômagos não comprometidos).
<p>3. Refinement (Refinamento)</p> <p>Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>Até à data não foram identificados modelos animais de pequeno porte que simultaneamente expressem Leb e sejam suscetíveis de infeção por estirpes de <i>H. pylori</i> BabA+ (só o Rhesus Monkey expressa Leb e é infectado por estirpes de <i>H. pylori</i> que infectam humanos). Assim sendo, neste projeto serão usados murganhos C57BL/6 (que expressam Leb na mucosa gástrica) para testar <i>ex vivo</i> a eficiência das Mic Ch e Mic Leb para remover/prevenir a infeção por <i>H. pylori</i> (sendo assim possível usar uma estirpe de <i>H. pylori</i> BabA+), e <i>in vivo</i> o tempo de retenção das Mic Ch e Mic Leb no estômago e a eficiência das Mic Ch.</p> <p>Embora não seja possível realizar ensaios de eficiência <i>in vivo</i> com as Mic Leb (relembro que os C57BL/6 não são passíveis de infeção com estirpes <i>H. pylori</i> BabA+), os ensaios <i>in vivo</i> do tempo de trânsito gastrointestinal permitirão inferir acerca do tempo de retenção das Mic no estômago, permitindo planejar a posologia a aplicar em humanos sem indução de toxicidade das Mic Ch e Mic Leb.</p> <p>Para diminuir os custos de bem estar aos animais, será feita uma habituação e manipulação prévia com o intuito de diminuir a ansiedade dos animais aquando da administração das bactérias e microesferas. Será também utilizado material de ninho, como papel, e tubos de cartão para enriquecer o alojamento dos animais. Por fim, durante os períodos de jejum prolongados ou consecutivos, será feita a administração de soro glicosilado de forma a manter a hidratação dos animais.</p>

Título do projeto	Indução de hemogénese em fibroblastos humanos		
Duração do projeto	24 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	Células estaminais hematopoiéticas Reprogramação Fator de transcrição Transplantação Fibroblasto		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	<u>Sim</u>	Não
	Investigação translacional ou aplicada	<u>Sim</u>	Não
	Uso regulamentar e	Sim	<u>Não</u>

	produção de rotina		
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Sim	<u>Não</u>
	Investigação destinada à conservação das espécies;	Sim	<u>Não</u>
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Sim	<u>Não</u>
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Sim	<u>Não</u>
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Sim	<u>Não</u>
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	<p>As células estaminais hematopoiéticas (HSCs) geram continuamente sangue através da manutenção do equilíbrio entre a auto-renovação e diferenciação em todas as linhagens de células sanguíneas. Transplante de HSCs é uma terapia celular amplamente utilizada em doentes com doenças hematológicas. No entanto, existem limitações já que o transplante alogénico depende da correspondência genética entre doadores e doentes. Diferenças de histoincompatibilidade, mesmo em enxertos combinados, resultam frequentemente no desenvolvimento de quadros clínicos adversos, tais como GVHD, a rejeição do enxerto e infecções. Portanto, são necessárias fontes alternativas de HSCs específicas para cada paciente possibilitando a terapia com células estaminais autólogas. Tais alternativas podem vir da indução de HSCs a partir de células não relacionadas provenientes do paciente.</p>		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	<p>Os objetivos deste estudo envolvem a programação direta de fibroblastos humanos da derme em células estaminais hematopoiéticas com a capacidade de se renovar e diferenciar adequadamente nas diferentes linhagens hematopoiéticas após o transplante. Os fibroblastos serão reprogramados com a introdução de fatores de transcrição introdução e transplantados em ratinhos imunodeficientes. Propomo-nos fazer estudos no modelo de ratinho que irá lançar as bases para uma eventual aplicação das células estaminais hematopoiéticas programadas em humanos que necessitem de transplantes de medula óssea. Alcançar o objetivo deste projecto representa um benefício médico directo para doentes com doenças hematológicas. O projecto</p>		

	<p>pode evar também ‘a identificação da combinação de fatores de transcrição mínima necessária para o estabelecimento da “network” de regulação das células estaminais hematopoiéticas humanas.</p>
<p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p>	<p><i>Mus Musculus</i> (aproximadamente 125 animais em 24 meses)</p>
<p>No contexto do que se propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?</p>	<p>O processo de irradiação e transplantação terão um grau de severidade ligeiro. Os animais serão sacrificados 8 meses após o transplante. Durante este period os ratinhos serão sujeitos a análise de sangue periódica.</p>
<p>Aplicação dos 3Rs</p>	
<p>1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Ensaio de formação de colónias <i>in vitro</i> dependentes e independentes de células de estroma serão amplamente utilizados antes dos ensaios de transplantação. Estes ensaios darão uma indicação de quando começar os estudos <i>in vivo</i> de uma maneira sistemática. O enxerto em ratinhos imunodeficientes NSG é o teste final para células estaminais hematopoiéticas e não pode ser substituído por outros procedimentos.</p>
<p>2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Os números serão reduzidos ao mínimo e as experiências de transplante serão realizadas de um maneira consecutiva, em vez de transplantes contemporâneos.</p>
<p>3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão por que o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>Os ratinhos <i>Mus musculus</i> NSG são o modelo animal <i>state-of-the-art</i> usado para estudar hematopoiese humana (ratinhos humanizados). Todos os animais estarão sob anestesia inalatória para minimizar a dor e sofrimento durante os transplantes.</p>

<p>Título do projeto</p>	<p>Toxoplasmose/Sida: Papel da família de proteínas disulfito isomerase (PDI) na invasão da célula hospedeira, pelo agente patogénico <i>Toxoplasma gondii</i></p>		
<p>Duração do projeto</p>	<p>2 anos</p>		
<p>Palavras-chave (máx. 5)</p>	<p>Co-infecção Toxoplasmose/Sida; PDI; Imunologia; Interação parasita-hospedeiro</p>		
<p>Fim/objectivo do projeto (de acordo com Artº 5º)</p>	<p>Investigação fundamental</p>		<p>Não</p>
	<p>Investigação translacional ou aplicada</p>	<p>Sim</p>	
	<p>Uso regulamentar e produção de rotina</p>		<p>Não</p>
	<p>Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais</p>		<p>Não</p>



	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados <sup>2</sup>		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Identificar e caracterizar o papel dos membros da família PDI (no parasita e na célula hospedeira) no processo de invasão da célula hospedeira por <i>T. gondii</i> , realizando estudos “in vitro” e “in vivo”.		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	A identificação dos membros da família PDI que possam constituir um potencial alvo para o desenvolvimento de terapias alternativas, na toxoplasmose humana (assim como noutros animais), será uma importante ferramenta na elaboração de novos agentes terapêuticos contra <i>T. gondii</i> .		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Balb/C – 40 C57BL/6J - 40		
No contexto do que se propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	O grau de perturbação a provocar no animal será ligeiro. Os animais serão eutanasiados a seguir à experiência.		
Aplicação dos 3Rs			
1.Replacement (Substituição) Refira a razão porque precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	A experimentação animal é necessária para que os resultados, sobre o potencial alvo terapêutico, identificados e caracterizados neste projecto possam serem inferidos para o Homem.		
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Foi efectuada a análise estatística para garantir que eram utilizados o número mínimo de animais, e obter resultados estatisticamente significativos.		
3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	A selecção das estirpes a utilizar fundamentou-se na literatura disponível, para a realização de ensaios idênticos aos propostos neste projecto. Serão adoptadas as medidas de boas práticas de experimentação animal de modo a minimizar os danos aos animais.		

Título do projeto	Mecanismos neurofisiológicos do envelhecimento: visão inovadora de conceitos antigos
Duração do projeto	24 meses

Palavras-chave (máx. 5)	Envelhecimento, plasticidade sináptica, memória, receptores NMDA, memantina		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim	
	Investigação translacional ou aplicada		Não
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados <sup>2</sup>		Não
Descreva os objetivos do projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Caracterizar os mecanismos moleculares subjacentes às alterações da LTP em animais envelhecidos.		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	Temos como objectivo entender os mecanismos neurofisiológicos subjacentes às alterações da LTP e determinar o seu significado funcional. Decifrar as implicações sobre como tratar o declínio cognitivo em idosos é também um objectivo a alcançar.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Serão usados cerca de 180 ratos machos <i>Rattus norvegicus</i> , Wistar		
No contexto do que se propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Os animais usados para ensaios comportamentais serão sacrificados para serem usados em experiências de electrofisiologia. Estes animais serão submetidos à administração de fármaco (já usado nos humanos) - procedimento de severidade ligeira.  Os animais usados para registos electrofisiológicos in vivo serão sacrificados imediatamente após o registo que é feito com o rato anestesiado.		
Aplicação dos 3Rs			
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Este estudo foca-se principalmente nos mecanismos subjacentes à memória e aprendizagem e como tal o uso de animais é fundamental.		
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de	O número de animais será o mais reduzido possível. Contudo por ser um estudo a ser realizado ao longo do envelhecimento ter-se-ão de		

animais	usar muitos animais para que se possam repetir todas as condições em ratos novos e velhos.
3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	Este estudo fundamenta-se em estudos anteriores, nos quais se usaram animais da espécie <i>Rattus norvegicus</i> , a fim de se poderem fazer comparações com dados anteriores a espécie será mantida. Todos animais serão manipulados por investigadores credenciados e treinado para o efeito.

Título do projeto	Determinação do perfil de activação macrofágico durante a infeção por <i>Toxoplasma gondii</i> : papel da progesterona		
Duração do projeto	48 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	Toxoplasmose, Macrófago, Progesterona, Infeção congénita.		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) <sup>1</sup>	Investigação fundamental	Sim*	
	Investigação translacional ou aplicada	Sim*	
	Uso regulamentar e produção de rotina		
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		
	Investigação destinada à conservação das espécies		
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		
	Inquéritos no domínio da medicina legal		
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados <sup>2</sup>		
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Neste projecto, pretendemos estudar quais os mecanismos imunológicos subjacentes aos fenómenos patológicos decorrentes da infeção congénita utilizando como modelo de estudo a infeção de murganhos durante o segundo terço da gestação do <i>T. gondii</i> .		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	Pretende-se que os resultados obtidos neste trabalho permitam a concepção de novas imunoterapias/vacinas para a prevenção da patologia, melhorando os métodos de produção e o estado de saúde animal.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Murganho e aproximadamente 100 animais.		
No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Os animais serão utilizados no segundo terço da gravidez evitando desta forma a indução do aborto que normalmente ocorre se a infeção é iniciada no primeiro terço da gravidez e por outro lado evita a infeção congénita que normalmente ocorre durante o último terço da gravidez possibilitando ao mesmo tempo, a obtenção de resultados e observações válidas para o trabalho desenvolvido, considerando-se assim uma severidade moderada. No final de realização dos protocolos experimentais, os animais serão eutanaziados		
Aplicação dos 3Rs			

<p>1.Replacement (Substituição). Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Estudos <i>in vitro</i> demonstraram que a progesterona tem um papel na regulação de determinadas células do sistema imunológico, essenciais na manutenção da gravidez. No entanto, até agora não foi possível determinar este efeito <i>in vivo</i> e no contexto de infecção por <i>T. gondii</i>. Assim, este projecto visará avaliar o efeito da infecção nos níveis de progesterona e <i>viceversa</i>, o perfil de ativação de leucócitos durante a gestação e infecção e o efeito da progesterona na activação de determinadas células do sistema imune, desta forma estabelecendo relações da modulação da activação das populações leucocitárias com os níveis de progesterona produzidos. Assim, já foram realizados estudos <i>in vitro</i> demonstrando que a progesterona tem um efeito na modulação da ativação dos leucócitos, sendo necessário a realização de estudos <i>in vivo</i> que permitam validar os resultados obtidos e que sejam extrapoláveis</p>
<p>2.Reduction (Redução). Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>A utilização programada de um número mínimo de animais (5 por grupo) permitirá chegar a resultados conclusivos e válidos (foi efetuada a “power analysis” para determinação do tamanho da amostra) e será realizada posteriormente a análise da variância (ANOVA) dos resultados obtidos. A análise dos resultados obtidos com murganhos gestantes será realizada recorrendo ao teste “2-Way ANOVA without interaction”;</p>
<p>3.Refinement (Refinamento). Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>Todos os procedimentos animais serão realizados de forma a minimizar o sofrimento dos animais. Assim, os animais serão utilizados no segundo terço da gravidez evitando desta forma a indução do aborto que normalmente ocorre se a infecção é iniciada no primeiro terço da gravidez e por outro lado evita a infecção congénita que normalmente ocorre durante o último terço da gravidez possibilitando ao mesmo tempo, a obtenção de resultados e observações válidas para o trabalho desenvolvido. Para o estudo do efeito da infecção na activação leucocitária e determinação dos níveis de progesterona, irão ser utilizados dois grupos de murganhos: um grupo de 5 murganhos gestantes (controlo) e um grupo de 5 murganhos gestantes infetados em cada experiência. No entanto, se por algum motivo forem observados os “human endpoints” estabelecidos no biotério, os animais serão imediatamente eutanasiados (verificação no projeto piloto que tal não acontece). Os murganhos serão eutanasiados por inalação com isoflurano e posterior deslocamento cervical.</p>

