

Resumos não técnicos de projetos científicos autorizados em 2017

Título do projeto	Avaliação do risco de novas substâncias psicoativas (NPS) (estudos <i>in vivo/ex vivo</i>) (NPS-EURONET)		
Duração do projeto	24 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	NPS, efeitos comportamentais, efeitos cognitivos, efeitos motores, avaliação de risco		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) (1)	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)	O principal objetivo deste projeto é compilar informação que contribua e permita a avaliação do risco para a saúde resultante da utilização de algumas destas NPSs (em articulação com as listas de prioridades do EMCDDA) e os resultados de estudos a decorrer no projeto europeu (AI.3.2). Para tal serão estudadas as alterações comportamentais e de aprendizagem (transientes e/ou permanentes) infligidas pelo consumo de NPSs (estudos <i>in vivo</i>), e sua translação em mecanismos de neurotoxicidade subjacentes (estudos <i>ex vivo</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	A obtenção de dados cruciais para a avaliação do risco, permitindo ao EMCDDA a tomada de decisões de uma forma mais célere e definição de medidas de controlo		

projeto)?	pelos estados membros e de redução dos riscos pelo consumo de NPSs. Adicionalmente, a correlação entre os dados observados nos estudos <i>in vivo</i> e os dados obtidos nos estudos <i>ex vivo</i> permitirão consolidar e possivelmente introduzir avanços científicos na identificação de neurotransmissores e células neurológicas envolvidas nos comportamentos bizarros observados.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Murganhos Swiss CD-1 e/ou C57/Bl6J
No contexto do que é proposto fazer-se 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 são desconhecidos e a possibilidade de convulsões será excluída através de despiste inicial de doses. Todos os animais serão sacrificados no fim do estudo, sendo portanto o grau de severidade de não recuperação. No final os animais serão sacrificados e estudos <i>ex vivo</i> serão encetados
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	O principal objetivo do estudo é a avaliação dos efeitos motores, comportamentais, cognitivos consequentes da utilização de NPSs e a capacidade de recuperação.
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	O desenho experimental prioriza a utilização do mesmo animal em vários tipos de testes (avaliações) comportamentais e recolha de urina para pesquisa de metabolitos (PK). Os grupos de controlo positivo serão eliminados sempre que haja repetição dos mesmos. Adicionalmente os animais utilizados nos estudos <i>in vivo</i> serão os animais utilizados nos estudos <i>ex vivo</i> .
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.	As espécies escolhidas têm sido as mais frequentemente utilizadas no estudo <i>in vivo</i> levados a cabo com este tipo de substâncias (Marusich et al., 2012; 2014; 2016; Wiley et al., 2016; Martínez-Clemente et al., 2014). Para minimizar os danos de bem-estar aos animais será efectuada primeiramente uma seleção de doses teste por forma a evitar a condução do estudo com doses que produzam convulsões. Ainda para garantir o bem estar os animais em gaiolas com tamanhos segundo as áreas estipuladas para o n.º de animais por gaiola, nas condições de temperatura/humidade, ciclos de luz estipuladas e com água e ração <i>ad libitum</i> e introdução de elementos de enriquecimento nas gaiolas (cama e túneis

	de diversão). Adicionalmente o bem estar traduzido por sinais/linguagem corporal será monitorizado diariamente.
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva no final da sua realização.	

Título do projeto	Efeitos da luz em chocos, <i>Sepia officinalis</i>, desmame precoce com camarão congelado		
Duração do projeto	1 ano		
Palavras-chave (máx. 5)	Cefalópodes; cultivo; zootecnologia; luz; desmame precoce		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) (1)	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	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)	O objectivo deste projecto é otimizar as condições de cultivo da fase de hatchling através do uso de uma fonte de luz apropriada, para melhorar os índices de ingestão de alimento congelado, redução da mortalidade e incremento do crescimento para valores similares aos obtidos com alimento 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)?	Os benefícios prováveis deste projecto são melhorar as condições zootécnicas de cultivo industrial do choco, <i>Sepia officinalis</i> , ao nível da primeira fase do ciclo do cultivo/vida – hatchling stage, nomeadamente ao nível da aceitação e ingestão de alimento congelado desde o primeiro dia pós-closão. A optimização das condições de luz irão previsivelmente promover a aceitação de		

	<p>dietas artificiais num futuro próximo. Além disso, o uso de lâmpadas led irá também beneficiar a pegada ecológica da produção de choco, diminuindo os custos relacionados com iluminação.</p> <p>O otimizar desta tecnologia irá também previsivelmente beneficiar os protocolos zootécnicos de outras espécies de cefalópodes.</p>
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	840 chocos (<i>Sepia officinalis</i>) recém-eclodidos.
No contexto do que é proposto fazer-se 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 Provável/Esperado Ligeiro. Eventual situação de má-nutrição/inanição.
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>	Infelizmente não é possível utilizar métodos alternativos para dispensar o uso de animais nestes ensaios pois os mesmos visam compreender melhor os aspectos fundamentais relacionados com a adaptação do animal a situação de cativeiro para produção industrial. A informação disponível é muito pequena e não direcionada, sendo essencial para a domesticação da espécie para aquacultura comercial.
<p>2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	Considerou-se a redução do número de animais através do planeamento experimental recorrendo a Das et al. (2009). Planning for reduction. ATLA 37, 27–32. Considerou-se ainda informação contida em http://www.3rsreduction.co.uk/ , em Sykes et al. (2013) e nas Guidelines for the Care and Welfare of Cephalopods in Research – A consensus based on an initiative by CephRes, FELASA and the Boyd Group (Fiorito et al. 2015).
<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>	Escolheu-se o choco porque será esta espécie que será cultivada em aquacultura industrial e cujo protocolo de cultivo para a fase de hatchling se pretende otimizar. Estabelece-se um limite crítico de existência de má-nutrição avaliado por comportamento (boiar; de acordo com Tabela 5B das Guidelines para cefalópodes – Fiorito et al. 2015) ou morte abrupta em 24 horas, em ambos, igual ou superior a 20% dos animais (limite estabelecido por dados em Sykes et al. 2013) num tanque replicado de um

	<p>determinado tratamento. Se tal ocorrer, os animais serão colocados em situação semelhante à de controlo (de qualidade de postura) para recuperação do bem-estar. O procedimento é o mais refinado considerando que não existe informação biológica suficiente para afirmar que o choco não vê a cor vermelha e qual é o seu efeito. Em relação ao alimento, o estudo de Sykes et al. (2013) já demonstrou que é possível utilizar-se camarinha congelada desde o primeiro dia pós-eclosão. O próprio estabelecimento do limite-crítico em valores de 20% já é por si próprio um refinamento resultante de ensaios anteriores.</p>
--	--

Título do projeto	RNAs longos não-codificantes como novos biomarcadores para o diagnóstico da Doença do Sono em África		
Duração do projeto	3 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	RNAs longos não-codificantes, Tripanossomas, Diagnóstico, biomarcadores.		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) (1)	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)	Com este projeto pretendemos estudar se os RNAs longos não-codificantes podem ser bons biomarcadores para a doença de sono. Propomos responder a três perguntas principais: - Quanto tempo os RNAs longos não-		

	<p>codificantes são identificáveis no sangue e na urina dos murganhos infetados.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Quais são os RNAs longos não-codificantes específicos os diferentes estádios da doença (fase aguda, crónica e severa), - Qual é o RNA longo não-codificante que é o melhor biomarcador desta doença.
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)?	Esperamos que consigamos encontrar biomarcadores da doença do sono em plasma, soro e urina de murganhos e desenvolver um teste de diagnóstico que vai de encontro com o critério ASSURED (<i>Affordable, Sensitive/specific, User-friendly, Rapid/Robust, Equipement-free, Delivered</i>)
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Murganho num total aproximado de 414 animais.
No contexto do que é proposto fazer-se 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 do animal irá variar entre moderado e severo conforme a fase da doença, sendo que piora gradualmente. No caso de nível de perturbação severo o animal será sacrificado antes de atingir qualquer limite crítico. O nível de perturbação moderno é imprescindível em estudos pilotos das diferentes variantes de infeção para se estabelecerem os <i>endpoints</i> nos humanos, pelo que nos estudos seguintes apenas perturbação moderada existirá. Estes animais serão sacrificados de modo a poder efetuar a totalidade do procedimento experimental mencionado no projeto.
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>	<p>A complexidade do ambiente proporcionado pelo hospedeiro não é passível de ser reproduzida <i>in vitro</i> levando muitas vezes a resultados significativamente diferentes. Deste modo é necessário recorrer a murganhos.</p> <p>Sempre que possível e pertinente recorreremos às experiências <i>in vitro</i> como primeira abordagem.</p>
<p>2.Reduction (Redução)</p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Através de uma análise estatística (tendo como base experiências anteriores), determinou-se que o tamanho de cada grupo experimental deverá ser de 4 animais. Sempre que possível, usaremos o mesmo grupo controlo para vários grupos experimentais de modo a reduzir o número total de animais usado.</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>Foi escolhido murganho C57Bl/6J porque nesta estripe, uma infeção por <i>Trypanosoma brucei</i> desenvolve-se de forma semelhante ao desenvolvimento da doença nos humanos. Assim neste modelo animal podemos potencialmente identificar biomarcadores nos diferentes estádios da doença.</p> <p>Neste projeto, os <i>timepoints</i> mais tardios da infeção serão entre os dias 20 até 26, onde normalmente a maioria dos animais não apresentam sintomas severos da doença.</p> <p>Caso aconteça, os animais serão eutanasiados.</p>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva no final da sua realização.</p>	

Título do projeto	Nanoagentes de monóxido de carbono (COGs) para combater a Artrite Reumatóide		
Duração do projeto	5 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Artrite, inflamação, nanoagentes de carbono, tratamento, ratos AIA		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) (1)	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)	Avaliar a eficácia destas partículas <i>in vivo</i> no modelo de artrite induzida por adjuvante em rato.		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia	Este projeto poderá contribuir para a confirmação da eficácia destas partículas no		

a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	tratamento da artrite reumatoide, e dar suporte para estudos futuros para o desenvolvimento de novas terapêuticas.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	90 Ratos (<i>Ratus norvegicus</i>)
No contexto do que é proposto fazer-se 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?	Severo. Os animais serão eutanaziados no final do projeto com recolha de amostras biológicas.
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 testar novos compostos e fármacos que não <i>in vivo</i> em modelos animais.
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	O número de compostos que passa para os estudos <i>in vivo</i> será extrapolado através de estudos <i>in vitro</i> , e apenas os três que apresentarem melhores expectativas serão usados para experimentação animal.
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 projeto iremos usar o modelo de artrite em rato wistar.
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva no final da sua realização.	

Título do projeto	Qual a interação entre neurónios dopaminérgicos e do corpo estriado durante a tomada de decisão?		
Duração do projeto			
Palavras-chave (máx. 5)			
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) (1)	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		Não

	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)	<p>Este projeto pretende estudar os mecanismos neurais responsáveis pela codificação de informação temporal. para tal, foca-se na interação entre duas áreas cerebrais interligadas, implicadas em estudos anteriores e na estimativa de durações temporais: o corpo estriado e a <i>substancia nigra pars compacta</i>. Especificamente, pretende-se:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1) utilizar a técnica de fotometria por fibra para registar a atividade de neurónios dopaminérgicos localizados na <i>substancia nigra pars compacta</i>, durante uma tarefa de estimação de durações temporais; 2) co-registar a atividade de neurónios dopaminérgicos localizados na <i>substancia nigra pars compacta</i> e neurónios do corpo estriado, durante uma tarefa de estimação de durações temporais; 3) manipular a atividade de neurónios dopaminérgicos localizados na <i>substancia nigra pars compacta</i> e registo simultâneo da atividade de neurónios do corpo estriado, durante uma tarefa de estimação de durações temporais. 		
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>Este estudo vai permitir aprofundar o conhecimento básico da neurofisiologia/anatomia dos gânglios da base, um conjunto de estruturas implicadas em diversas patologias do sistema nervoso central, como por exemplo as doenças de Parkinson e Huntington.</p>		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	<p>Murganhos (<i>Mus musculus</i>). 60 animais serão utilizados.</p>		
No contexto do que é proposto fazer-se 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>São esperadas perturbações moderadas decorrentes de treino comportamental prolongado e cirurgia estereotáxica. Não são esperados quaisquer efeitos adversos pois a linhagem de ratinho a utilizar está bastante bem caracterizada, assim como os métodos propostos estão bastante estabelecidos na comunidade científica. No final das experiências, os animais serão eutanasiados.</p>		

Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Neste projeto pretende-se medir e manipular a atividade cerebral de animais enquanto executam uma tarefa comportamental de discriminação de durações temporais. Desta forma, são necessários animais vivos, com cérebros funcionais em meio fisiológico.
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Os animais são testados no mesmo paradigma múltiplas vezes. para efeitos de significância estatística e robustez de resultados, é necessário utilizar um número mínimo de animais, calculado a partir de estudos anteriores.
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.	Não é possível correlacionar a atividade neuronal e comportamento sem animais vivos. A utilização de roedores é justificada neste projeto, dadas as semelhanças anatómicas e fisiológicas entre os cérebros dos mamíferos. Os animais serão mantidos de acordo com as regras do biotério . os procedimentos (i.e., treino comportamental e cirurgia estereotáxica) são de natureza moderada.

Título do projeto	Estudos sobre a regeneração cardíaca do Ratinho Espinhoso Africano <i>Acomys cahirinus</i>		
Duração do projeto	1 ano		
Palavras-chave (máx. 5)	Regeneração cardíaca, <i>Acomys</i> , ischemia		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) (1)	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		Não

	animais geneticamente alterados		
<p>Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)</p>	<p>Alguns animais (planárias, peixe-zebra, axolotl) são capazes de regenerar de forma notável partes do corpo. Os mamíferos, no entanto, são geralmente incapazes de regenerar tecidos ou órgãos em resposta a lesões, havendo formação de uma cicatriz fibrótica. Recentemente, descobriu-se que o ratinho espinhoso africano (<i>Acomys cahirinus</i>) tem uma capacidade incrível de regeneração não fibrótica de extensas lesões na derme, e do pavilhão auricular. Surpreendentemente, o processo resulta na reconstituição completa da estrutura original do tecido, incluindo cartilagem, derme, epiderme, tecido adiposo, glândulas e folículos capilares. Em contraste, o murganho <i>Mus musculus</i> apenas é capaz de reparar as margens do corte.</p> <p>Em conjunto, as duas espécies providenciam um poderoso modelo comparativo para a compreensão dos mecanismos que possibilitam a regeneração em <i>Acomys cahirinus</i> e não em <i>Mus musculus</i>.</p> <p>Uma importante questão a colocar é se a capacidade regenerativa observada em feridas na pele e orelha em <i>Acomys cahirinus</i> se estende a outros órgãos e sistemas. Têm surgido relatórios contraditórios sobre regeneração cardíaca numa estirpe particular de <i>Mus musculus</i> (a estirpe MRL/Mpj), e também em estirpes laboratoriais comuns de musaranho, mas apenas em musaranhos recém-nascidos (P1). Este projecto almeja avaliar a capacidade regenerativa do coração de <i>Acomys cahirinus</i> recém-nascidos, juvenis e adultos em resposta a danos cardíacos, comparativamente à capacidade das estirpes de musaranho MRL/Mpj e C57BL/6.</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>Qualquer capacidade que <i>Acomys</i> tenha para realizar regeneração cardíaca poderia ter importantes aplicações teóricas e práticas. Se assim for, <i>Acomys</i> poderia tornar-se um novo modelo para regeneração cardíaca em mamíferos e eventualmente levar a um entendimento de como induzir regeneração cardíaca em mamíferos não-regenerativos,</p>		

	incluindo humanos.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	98 <i>Acomys</i> sp.; 196 <i>Mus musculus</i> .
No contexto do que é proposto fazer-se 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 stress dos animais é moderado ou severo. Se o projeto for bem-sucedido após o período de dois anos, prevemos a continuidade do mesmo. Os animais, serão eticamente sacrificados uma vez que seu objetivo experimental seja cumprido.
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	A regeneração é um fenómeno complexo que só pode ser estudado em animais vivos. Embora existam outros vertebrados e invertebrados modelos de regeneração, estamos especificamente interessados na regeneração em mamíferos para aplicações potenciais translacionais.
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	A regeneração é um fenómeno complexo que só pode ser estudado em animais vivos. Embora existam outros vertebrados e invertebrados modelos de regeneração, estamos especificamente interessados na regeneração em mamíferos para aplicações potenciais translacionais. A variabilidade do nosso sistema experimental sugere uma amostra entre 3 e 18 animais, dependendo na experiência em particular, para obter resultados estatisticamente significativos. para otimizar os procedimentos, entre 3 e 8 animais poderão ser necessários, e dependendo da experiência, podem ser necessários vários grupos experimentais.
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 projecto centra-se em duas espécies: <i>Acomys</i> sp (uma espécie de mamífero "regenerador"). e <i>Mus.musculus</i> (espécie de mamífero 'não-regenerador'). Em conjunto, estas duas espécies formam um sistema poderoso para comparação e estudando o celular e mecanismos moleculares subjacentes a o processo de regeneração em mamíferos. Nosso projeto depende fortemente de um ensaio de regeneração consistente em ferimentos circulares nos corações dos animais. Não existe, portanto, nenhuma alternativa para este ensaio. Os animais serão tratados com anestésicos e analgésicos antes e após os procedimentos cirúrgicos. Desconforto aos animais é leve, moderado ou severo, dependendo do procedimento particular em questão e o período da experiência.

O projeto será submetido a avaliação retrospectiva no final da sua realização.

Título do projeto	Melhoramento da anestesia em peixe-zebra		
Duração do projeto	5 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Refinamento, anestesia, bem-estar, eficácia clínica, peixezebra		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) (1)	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	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)	<p>O objetivo geral do projeto é identificar qual será o melhor anestésico a ser usado em peixe-zebra em termos de bemestar, eficácia clínica e praticabilidade. Assim objetivos mais específicos serão:</p> <ul style="list-style-type: none"> - avaliar a praticabilidade e o sucesso da anestesia (indução, analgesia, ritmo respiratório e a qualidade da recuperação anestésica). - avaliar a aversão e stress destes peixes a diferentes anestésicos, usando a tarefa de aversão local condicionada e a medição de cortisol. - determinar quanto tempo demoram os anestésicos a sair do corpo do peixe-zebra, quantificando-se os compostos nos seus tecidos. Estes dados são importantes para a investigação que usa estes animais e seus anestésicos, mas também para a aquacultura. Estes dados darão indicação sobre os intervalos de segurança de anestésicos que podem ser usados em 		

	<p>animais para consumo humano.</p> <p>- testar se há efeitos a longo prazo dos anestésicos, nomeadamente na aprendizagem/ memória, ansiedade e locomoção deste modelo animal.</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>Este projeto pretende refinar a anestesia de peixe-zebra usados em investigação, cujo número teve um acréscimo de 28% de 2008 para 2011 (últimas estatísticas da União Europeia). Existem vários anestésicos que são usados, mas com limitações a nível da situação experimental, aversão ou efeitos secundários. Assim, ao estudar as temáticas clínicas, práticas e de bem-estar pretendemos recomendar um protocolo anestésico para peixe-zebra que promova uma indução anestésica e recuperação de qualidade, com menos efeitos a longo prazo e que cause pouca ou nenhuma aversão. Assim pretendemos trazer benefícios para o bem-estar animal e a qualidade científica, reduzindo os custos. Estes resultados podem também ser importantes no estabelecimento de melhores protocolos anestésicos para o transporte de peixe em aquacultura.</p>
<p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p>	<p>Cerca de 500 peixes-zebra (Danio rerio) em 5 anos</p>
<p>No contexto do que é proposto fazer-se 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>Grau de severidade: Ligeiro</p> <p>Os órgãos dos animais serão recolhidos para posterior análise. Aos animais em que isto não acontecer serão eutanasiados por sobredosagem de anestésico.</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>O objectivo do projecto é refinar a anestesia num modelo animal, tanto a nível clínico como de bem-estar, logo não poderemos usar alternativas não-animais.</p>
<p>2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Usaremos dados de artigos já publicados e de testes piloto para calcular o número mínimo de animais a usar em cada experiência. Dos animais usados para filmar indução e recuperação da anestesia, alguns serão também usados para quantificar os anestésicos no corpo do animal e outros serão usados para estudar alterações comportamentais a longo prazo. Assim retiram-se mais informações dos mesmos animais, sem ter de se usar mais animais.</p> <p>O uso do método de analisar cortisol na água para medir a recuperação anestésica do</p>

	<p>animal, sem ter de o eliminar faz com que este possa ser usado na avaliação comportamental de efeitos secundários, diminuindo o número de animais necessários. O método de medição de cortisol no corpo do animal é sensível o suficiente para que o cortisol seja quantificável em apenas um animal, reduzindo-se o número de animais necessários.</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 é usado, pois o objetivo é mesmo refinar a anestesia neste modelo animal, devido ao seu uso crescente em investigação. Em termos de refinamento, no geral, os animais serão monitorizados diariamente, e com maior frequência após a anestesia. Para que a sua recuperação anestésica se faça com o mínimo de variáveis e stress possível, o animal recupera num aquário separado e só após recuperar uma natação normal é colocado no seu grupo social. Enriquecimento ambiental (plantas) vai ser fornecido aos animais que estarão sozinhos por um período máximo de 13 dias devido a um teste comportamental, minimizando assim possíveis alterações de stress. Em todas as outras ocasiões, os animais serão alojados em grupos por serem animais sociais.</p>

Título do projeto	Examinando mecanismos que regulam o crescimento ocular em cefalópodes		
Duração do projeto	5 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Choco, polvo, crescimento do olho, miopia		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) (1)	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		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Determinar se o processo biológico de resposta a privação visual é inerente à evolução do olho.		
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 número de pessoas míopes está a incrementar a nível mundial, e em alguns países os números estão a atingir valores epidémicos. Compreender a evolução do crescimento do olho em resposta ao mundo visual que o rodeia poderá levar em última análise à prevenção ou a uma cura da miopia.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Choco comum Europeu, <i>Sepia officinalis</i> Polvo comum, <i>Octopus vulgaris</i> Dourada, <i>Sparus aurata</i> Língado, <i>Solea senegalensis</i> 24-48 de cada espécie.		
No contexto do que é proposto fazer-se 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>A aplicação de distintas lentes durante 5 dias para estimular a miopia irá provocar crescimento anormal do olho, que se pensa ser recuperável após remoção da mesma. Grau de severidade Ligeiro.</p> <p>Os animais terão 5 dias para recuperação (contemplado no desenho experimental) após a remoção da lente. Se os cinco dias não forem suficientes para uma recuperação completa, os animais permanecerão isolados até que tal se verifique. Ao recuperarem totalmente podem ser devolvidos ao tanque do stock original de animais de uma determinada espécie, após apreciação veterinária, para serem eventualmente reutilizados noutra experiência.</p> <p>Se o tamanho do olho não puder ser medido <i>in vivo</i>, metade dos animais será sujeito a occisão após 5 dias e os restantes após 10 dias. Se for possível realizar o procedimento <i>in vivo</i>, os animais poderão ser eventualmente sujeitos a reutilização.</p>		
Aplicação dos 3Rs			
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	A emetropização ocorre em animais vivos, durante a fase de crescimento e em olhos intactos. Não existem modelos não animais, nem outros métodos alternativos, que		

	<p>permitam excluir o uso dos mesmos, já que as experiências a serem concretizadas neste projecto são de investigação fundamental, ao nível evolutivo, e essenciais ao conhecimento básico da biologia das espécies. Não existem dados publicados anteriormente que permitam uma abordagem alternativa de meta-análise.</p>
<p>2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Número de animais foi calculado considerando-se as seguintes referências: Das et al. (2009). Planning for reduction. ATLA 37, 27–32; informação disponível em http://www.3rs-reduction.co.uk/ e nas Guidelines for the Care and Welfare of Cephalopods in Research – A consensus based on an initiative by CephRes, FELASA and the Boyd Group (Fiorito et al. 2015). Foi ainda considerado na determinação experiências anteriores, tais como Gagnon et al. (2013), Jostrup et al. (2009), Shen et al. (2005), Sivak (1982), Stubbs & Stubbs (2016) e Turnbull et al. (2015). Se se verificar a viabilidade da técnica de ultrassonografia para realizar as medições de dimensão ocular in vivo, apenas serão necessários 8 animais por experiência porque será possível recolher dados de recuperação no mesmo animal sujeito ao procedimento. É importante ainda considerar que o controlo será feito no próprio animal, já que apenas se aplicará uma lente por animal e em apenas um dos olhos, sendo que a variável em estudo é o tamanho do olho em desenvolvimento.</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 cefalópodes (choco, lula e polvo) desenvolveram-se de um ramo diferente da árvore evolutiva. Pensa-se que os seus olhos são um exemplo de evolução convergente porque também possuem lente, córnea, corpo ciliado equivalente. As restantes espécies escolhidas (dourada e linguado) irão servir de controlo evolutivo, já que o desenvolvimento do sistema visual do linguado é distinto do da dourada. Uma vez que a emetropização é um processo que é desencadeado por experiência visual, os cefalópodes são um ótimo modelo para perceber se a emetropização é conservativa. Limites Críticos (End-points): Os animais que desenvolvam feridas</p>

	resultantes da aplicação da lente e/ou que percam a mesma serão removidos do estudo para evitar situações de patologia e/ou de vantagem sobre os restantes em termos de alimentação, espaço, e eventualmente confronto; Os animais que não ingiram comida durante 5 dias pós-procedimento serão removidos do estudo para evitar situações irreversíveis de fome que levem a morte pela fome.
--	--

Título do projeto	Biologia da TTR normal e condições patológicas		
Duração do projeto	5 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Transtirretina, Polineuropatia Amiloidótica familiar, Sistema Nervoso Central, Sistema Nervoso Periférico, Biomarcadores		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) (1)	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)	São objetivos deste projecto: - Contribuir para a compreensão dos mecanismos que levam à deposição da transtirretina (TTR) nos tecidos - Contribuir para o desenvolvimento de terapias em amiloidoses relacionadas com a TTR. - Contribuir para o desenvolvimento de biomarcadores bioquímicos e imunológicos em amiloidoses de TTR relevantes para a caracterização e follow-up deste grupo de doenças.		

	<p>- Contribuir para conhecer a biologia da TTR, nomeadamente a sua função no sistema nervoso.</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>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Melhorar o conhecimento dos mecanismos moleculares envolvidos nas amiloidoses de TTR e da função neuroprotetora da TTR e potencialmente identificar novos alvos terapêuticos. 2. Descobrir novos biomarcadores que de forma minimamente invasiva contribuam para o melhor diagnóstico das amiloidoses de TTR, que tenham potencial para definir o prognóstico deste grupo de doenças, e biomarcadores que identifiquem pessoas em risco de forma a se tomem medidas para evitar as sequelas nefastas associadas. 3. Descobrir biomarcadores que permitam distinguir as diferentes fases das amiloidoses de TTR de forma a adequar os tratamentos existentes e os novos ao problema de cada doente.
<p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p>	<p>Mus musculus Cerca de 800 animais/ano</p>
<p>No contexto do que é proposto fazer-se 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>Serão utilizados murganhos sv129 controlo e geneticamente modificados. Os procedimentos (eutanásia, craniotomia para infusão de fármacos, lesão do nervo ciático) serão realizados sob anestesia geral de isoflurano e oxigénio. Nos procedimentos em que o animal viva após intervenção cirúrgica, recuperará da anestesia com analgésicos e ficará sob observação por menos de 48 horas. Os procedimentos serão efectuados por pessoal experiente em cirurgia experimental. Todos os animais serão anestesiados e será providenciada analgesia e fluidoterapia durante 8 horas após cirurgia. No período de recobro os animais serão vigiados, mantidos aquecidos e com comida húmida no fundo da gaiola. Após as primeiras 12 horas, os animais serão monitorizados clinicamente de uma forma diária. No pós-cirúrgico e até à data de eutanásia será oferecido enriquecimento ambiental (rolos e papel), e muita atenção. Os pontos terminais 'humane endpoints' estão implementados à partida e sempre que o animal demonstre sinais de</p>

	<p>sofrimento, stress, sangramento e/ou perda de peso superior a 20% o animal será sacrificado de modo humano e a experiência terminará.</p> <p>O peso dos animais será monitorizado e registado durante a experiência. Sempre que os animais demonstrem uma perda de peso superior a 20% do peso inicial ou algum outro sinal de sofrimento os animais serão eutanasiados com sobredose anestésica.</p> <p>O número de animais por gaiola será adequado à sua dimensão e, no caso de se detetarem lesões resultantes de lutas os animais serão separados. No final das experiências, os animais serão eutanasiados e sacrificados.</p> <p>Todas as experiências são consideradas de severidade ligeira, com excepção da lesão do nervo ciático que classifica-se de severidade ligeira a moderada, não havendo no entanto dor associada pois os animais estão anestesiados no procedimento e posteriormente sob analgesia e monitorização. Não há alternativa à realização deste procedimento.</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>Foram executados ensaios <i>in vitro</i> com culturas ou linhas celulares onde se compararam a toxicidade celular e/neuroprotecção da TTR normal e mutada, que revelaram a insuficiência altamente parcial e pertinência para o uso de modelos <i>in vivo</i>.</p>
<p>2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>O número de animais a utilizar vai ser reduzido ao mínimo e nenhuma vida animal será desperdiçada desnecessariamente. Os protocolos desenvolvidos vão permitir utilizar quer os tecidos quer os fluidos biológicos em experiências. A criação de um biobanco de tecidos e fluidos vai possibilitar a utilização dos materiais colhidos para validação de resultados ou em experiências futuras sem necessidade de gerar novas colónias.</p> <p>Os animais serão distribuídos em pequenos grupos de modo a obter resultados significativos estatisticamente. Os mesmos animais serão utilizados quando possível em testes de comportamento e de bioquímica.</p> <p>Os animais foram distribuídos em grupos de modo a obter resultados significativos</p>

	estatisticamente. O numero de animais por grupo foi determinado através de uma “power analysis” de maneira a obter uma diferença de 30% entre os grupos, com um desvio padrão de 10%, com um “power” de 90-95%, sendo necessários grupos de 5-10 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.	Serão utilizados murganhos sv129 controlo e geneticamente modificados. Os procedimentos (eutanásia, craniotomia para infusão de fármacos, lesão do nervo ciático) serão realizados sob anestesia geral de isoflurano e oxigénio. Nos procedimentos em que o animal viva após intervenção cirúrgica, recuperará da anestesia com analgésicos e ficará sob observação por menos de 48 horas. Os procedimentos serão efectuados por pessoal experiente em cirurgia experimental. Todos os animais serão anestesiados e será providenciada analgesia e fluidoterapia durante 8 horas após cirurgia. No período de recobro os animais serão vigiados, mantidos aquecidos e com comida húmida no fundo da gaiola. Após as primeiras 12 horas, os animais serão monitorizados clinicamente de uma forma diária. No pós-cirúrgico e até à data de eutanásia será oferecido enriquecimento ambiental (rolos e papel), e muita atenção.

Título do projeto	Caracterização funcional do desenvolvimento e diferenciação intestinais num modelo de murganho de deleção do gene <i>Mex3a</i>		
Duração do projeto	5 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Proteína de ligação ao ARN MEX3A; Modelo transgénico knock-out; diferenciação intestinal; carcinogénese gastrointestinal		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) (1)	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)	Este projecto apresenta como objectivos principais determinar as funções biológicas da proteína de ligação ao ARN MEX3A e o impacto da sua perda de expressão em processos de regeneração e/ou carcinogénese.		
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 por base trabalho anterior do grupo de investigação, o estudo dos processos celulares e moleculares regulados pelo MEX3A num contexto biologicamente relevante como o do modelo animal aqui descrito permitirão compreender as suas funções biológicas e potencialmente delinear novas estratégias terapêuticas com base nestes mecanismos. Como tal, espera-se que este projecto apresente benefícios nas áreas da aquisição de conhecimento científico básico e aplicação à saúde humana.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Serão utilizadas animais da espécie <i>Mus musculus</i> (murganho). Serão necessários aproximadamente 270 animais no conjunto de genótipos diferentes (selvagem, heterozigótico e homozigótico) envolvendo diferentes estirpes.		
No contexto do que é proposto fazer-se 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?	Este projecto é classificado de forma global e prospectivamente com uma severidade de grau Moderado . Embora a maior parte dos procedimentos planeados não apresentem este grau de severidade, trata-se de uma nova linhagem de animais geneticamente alterados e como tal desconhece-se à partida o impacto total da alteração do genótipo no bem-estar do animal. No final da realização do projecto, apenas a linhagem geneticamente alterada que não apresente fenótipo nocivo (por exemplo heterozigóticos, com deleção de apenas um alelo do gene) será mantida para salvaguarda de estudos futuros.		
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>O gene em estudo pertence a uma família com quatro elementos (MEX3A a MEX3D) que codificam para proteínas com elevado grau de homologia. Os diferentes membros podem ter funções específicas e/ou redundantes, cuja clarificação depende do estabelecimento de modelos animais.</p>
<p>2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>O número indicado tem por base a utilização de animais de genótipo idêntico por cada tempo de desenvolvimento a analisar e por procedimento a realizar. Assim, constitui o limite mínimo de animais de forma a minimizar a variabilidade biológica inerente aos fenótipos observados e compreender a evolução destes com o tempo de desenvolvimento.</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>Uma vez que a alteração genética em causa nunca foi estudada, este é o primeiro modelo animal com mutação dirigida do gene <i>Mex3a</i> e como tal de elevado valor científico. Após realização de rastreios fenotípicos em ninhadas resultantes de cruzamentos entre animais heterozigóticos, verificou-se que os murganhos mutantes homozigóticos exibem mortalidade pós-natal (penetrância superior a 50%) acompanhada de redução gradual de peso corporal, que decorre numa janela temporal variável. Como tal, o bem-estar dos animais será avaliado continuamente durante as primeiras semanas de desenvolvimento pós natal. De forma a identificar o mais rapidamente possível a presença de neonatos mutantes homozigóticos, os animais serão genotipados em P2 com recurso a tatuagem e recolha de uma porção mínima de cauda. O peso dos animais será monitorizado, estabelecendo-se como limites críticos de sofrimento para recurso à eutanásia a ocorrência de três pesagens consecutivas com diminuição contínua de peso, ausência de movimento, letargia e relutância em mover-se se estimulado.</p>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva no final da sua realização.</p>	

<p>Título do projeto</p>	<p>Modelação do desenvolvimento e progressão do cancro gástrico</p>
<p>Duração do projeto</p>	<p>60 meses</p>
<p>Palavras-chave (máx. 5)</p>	<p><i>Helicobacter pylori</i>; microbiota gástrica; cancro gástrico; vesículas extracelulares;</p>

	resposta imunológica		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) (1)	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)	<p>Os objectivos deste projecto são:</p> <p>A. Estudo do efeito da infecção por <i>Helicobacter</i> e por outras bactérias da microbiota gástrica no desenvolvimento de cancro gástrico.</p> <p>A.1. Avaliar as alterações histopatológicas da mucosa gástrica induzidas por <i>Helicobacter</i> e por microorganismos da microbiota gástrica.</p> <p>A.2 Caracterizar as alterações moleculares, nomeadamente a expressão génica, associadas ao processo inflamatório induzido por <i>Helicobacter</i> e por microorganismos da microbiota gástrica.</p> <p>B. Estudar do efeito das vesículas extracelulares de <i>H. pylori</i> no desenvolvimento de cancro gástrico.</p> <p>B.1. Caracterizar as alterações da mucosa gastrointestinal induzidas pelas vesículas extracelulares de <i>H. pylori</i>, a nível histológico e de expressão génica, por comparação com os animais controlo não infectados e com os animais infectados por <i>H. pylori</i>.</p> <p>B.2. Caracterizar a resposta imunológica induzida por vesículas extracelulares de <i>H. pylori</i> quando comparada com aquela que é induzida pela bactéria, a nível da mucosa gastrointestinal e sistémica.</p>		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia	Com este projecto pretendemos perceber a contribuição da bactéria <i>H. pylori</i> e das suas		

<p>a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?</p>	<p>vesículas extracelulares, bem como a interação entre a <i>H. pylori</i> e outros agentes da microbiota gástrica, para o desenvolvimento do cancro gástrico. Para além do conhecimento básico gerado, esperamos que os resultados obtidos permitam identificar moléculas ou mecanismos que possam ser alvos terapêuticos, marcadores biológicos de doença ou de prognóstico.</p>
<p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p>	<p>Serão utilizados murganhos da espécie <i>Mus musculus</i>, num total de cerca de 3600 animais (720 por ano).</p>
<p>No contexto do que é proposto fazer-se 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 procedimentos previstos apresentam graus de severidade ligeira ou moderada. Em cada experiência os animais serão eutanasiados no fim. No caso dos murganhos transgênicos INS-GAS os animais desenvolvem tumores gástricos. No entanto, estes tumores apresentam um baixo grau histológico e não é esperado que interfira com o bem-estar do animal. Os animais serão eutanasiados para colheita de material biológico logo após o aparecimento dos tumores.</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>O projecto estuda vários mecanismos desencadeados pela bactéria <i>H. pylori</i> que contribuem para o desenvolvimento de cancro gástrico, após evidências obtidas através de experimentação <i>in vitro</i>. Assim, neste sentido e como prova de conceito, a utilização destes modelos animais é essencial e não substituível por outros modelos celulares disponíveis no momento.</p>
<p>2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Durante o período de execução do projecto, todas as experiências serão cuidadosamente planeadas para que um número mínimo de animais seja utilizado, assegurando, no entanto, a significância estatística dos resultados. Para isso, recorreremos ao cálculo do tamanho da amostra para cada experiência através de programas estatísticos específicos (exemplo, G*Power), com base em dados da literatura sobre os modelos utilizados e em dados experimentais de ensaios piloto (por exemplo, na definição de dose, concentrações e tempo de experiência, etc.).</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 modelos de murganho referidos são amplamente usados em estudos de infecção por <i>H. pylori</i> e em carcinogénese gástrica, havendo vasta literatura sobre os procedimentos propostos e o seu impacto no bem-estar animal, bem como um conhecimento alargado sobre as patologias desencadeadas/desenvolvidas e o momento temporal em que elas ocorrem. Todos os procedimentos serão efectuados num biotério licenciado pela DGAV para criação, manutenção e procedimentos experimentais, com pessoal técnico e investigadores treinados especificamente para o efeito. Os animais serão avaliados diariamente, com registo de observações e “humane endpoints” definidos. Quaisquer desvios das condições normais de bem-estar animal identificados levarão à retirada do animal da experiência e se não for possível a sua recuperação o animal será humanamente eutanasiado.</p>
--	---

Título do projeto	Investigação da dinâmica e estabilidade do “imprinting” parental durante o processo de reprogramação em células estaminais pluripotentes induzidas (iPSCs)		
Duração do projeto	5 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	iPSCs, “imprinting” parental, reprogramação, fibroblastos		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) (1)	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		Não

	alterados		
<p>Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)</p>	<p>A reprogramação em iPSCs tem um grande potencial a nível de investigação e terapêutico. No entanto, a reprogramação é muito ineficiente e conduz à geração de iPSCs com capacidades de pluripotência reduzidas. Associados a estes problemas está o facto das iPSCs terem erros epigenéticos fruto do processo de reprogramação que se manifesta a nível, por exemplo, do fenómeno do “imprinting” parental. O “imprinting” parental é um processo epigenético que resulta na expressão monoalélica de alguns genes de acordo com a sua origem parental; o número e as causas para erros de “imprinting” nas iPSCs não estão, no entanto, ainda suficientemente estudados dado a ausência de um sistema em que a reprogramação possa ser controlada e em que os dois alelos parentais possam ser distinguidos. O nosso desenho experimental cria esse sistema, possibilitando o estudo de todas as regiões genómicas reguladas pelo “imprinting” parental. A preservação do padrão de “imprinting” parental herdado a partir da célula somática original é um requerimento para a utilização segura das iPSCs como modelo para o estudo de doenças <i>in vitro</i> e em medicina regenerativa.</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 nossa estratégia assente no cruzamento do ratinho reprogramável “C57BL6/J i4F-B” com a estirpe Cast/EiJ permitirá, pela primeira vez, a monitorização do “imprinting” parental durante a reprogramação em iPSCs, conhecimento que é importante para a melhoria do processo e da qualidade das iPSCs obtidas e essencial para o seu uso como modelo para o estudo de doenças <i>in vitro</i> e em medicina regenerativa.</p>		
<p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p>	<p>Ratinho: Estirpes: - C57BL6/J i4F-B (Abad et al., 2013) - Mus Musculus Castaneus (Cast/EiJ) Números: - 5 fêmeas Cast/EiJ - 5 fêmeas C57BL6/J i4F-B - 2 macho Cast/EiJ - 2 macho C57BL6/J i4F-B - 6 fêmeas F1 (de um cruzamento entre C57BL6/J i4F-B and Cas/EiJ mice) - 6 machos F1</p>		

<p>No contexto do que é proposto fazer-se 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>No final da realização do projeto, os animais serão eutanasiados.</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>Para a execução deste projeto é necessário o recurso a fibroblastos primários embrionários e adultos, sem a qual a reprogramação em iPSCs não é possível. Além disso, não existe na literatura (fonte pubmed) nenhum modelo animal (ou células derivadas dele(s)) com as características que são imprescindíveis a este projecto: a existência de um modelo animal ou celular com a existência de uma casete induzível para expressar os fatores de transcrição pluripotentes de forma controlada e com polimorfismos a nível do DNA que permitam a distinção entre os dois alelos parentais.</p>
<p>2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Iremos usar o mínimo de animais necessários à colheita de fibroblastos embrionários e adultos. Por exemplo, no caso dos animais de três meses a usar, a biópsia de orelha necessária à genotipagem do animal pode ser primeiro colocada em cultura para gerar fibroblastos adultos e a genotipagem pode ser feita a partir destas células, de forma a maximizar a amostra única colhida do animal.</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>A escolha do modelo de ratinho tem a ver com a existência de modelos transgénicos e de diferentes estirpes que de coadunam com os objetivos deste projeto. O projeto não envolve procedimentos que causem sofrimento aos animais. MEFs serão gerados a partir de embriões E13.5 após o sacrifício da progenitora por deslocação cervical; fibroblastos adultos serão recolhidos a partir de tecido de orelha – que é um procedimento “standard” na genotipagem dos ratinhos que não requer anestesia ou analgésicos. Se algum animal apresentar sintomas de doença ou perda abrupta de peso (mais do que 20% da sua massa) serão sacrificados por deslocação cervical.</p>
<p>Título do projeto</p>	<p>Dissecção genética de mecanismos moleculares envolvidos na sépsis grave</p>

Duração do projeto	Cinco anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Sépsis, tratamento, mecanismos, vias moleculares, tratamento		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) (1)	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)	<p>O objetivo central de nosso programa de pesquisa é identificar e caracterizar novos mecanismos citoprotetores, com foco na resposta ao dano do DNA dependente da proteção ativada por antraciclinas como uma janela para os programas genéticos induzidos pelo stress que conferem tolerância às doenças. Para o efeito, iremos realizar uma combinação de abordagens candidatas e imparciais para a identificação <i>in vivo</i> de dependentes e independentes de ATM de proteção de tecidos. Vamos validar os candidatos líder através da entrega mediada por adenovírus de construções para sobreexpressão (ganho de função) ou shRNA para silenciamento de genes (perda de função) para o pulmão, tirando partido da nossa recente descoberta de que resgatar este órgão é essencial e talvez suficiente na proteção induzida por antraciclina contra sépsis grave.</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>Compreender se os mecanismos moleculares a jusante de uma resposta protectora ao dano do DNA induzida por baixa dose de antraciclinas constitui uma janela sem precedentes na citoproteção, que não é apenas nova e excitante do ponto de vista</p>		

	<p>biológico, mas é provável que inspire o projeto de terapias transformadoras para a sépsis e outras condições devastadoras que continuam a constituir necessidades médicas não atendidas. Usando as antraciclinas em baixas doses é muito eficaz na proteção contra a sépsis, mas estas drogas são bem conhecidas pelos seus efeitos colaterais, incluindo cardiotoxicidade e mielotoxicidade (levando à diminuição dos glóbulos brancos necessários, por exemplo, para combater infecções). Compreendendo os mecanismos moleculares que medeiam os efeitos protectores das antraciclinas, podemos esperar descobrir mais efetores, que podem constituir novos alvos levando à citoproteção sem a necessidade de induzir danos ao DNA para ativá-los e, portanto, sem os efeitos colaterais associados a danos no DNA. A outra vantagem, além da exploração de uma questão científica, é que poderíamos expandir a janela terapêutica e ativar esses mecanismos em fases posteriores da doença e, portanto, possivelmente ajudando muitos mais pacientes que chegam aos cuidados médicos quando a doença foi progredindo por vários dias, porque as antraciclinas são provavelmente eficazes apenas quando usadas nas primeiras 24 horas após a causa inicial da sépsis.</p>
<p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p>	<p>1. Animais usados para experiências: com base em nosso trabalho anterior e objetivo, prevemos a necessidade de usar 1.090 ratos por ano durante os próximos 5 anos. Isso inclui animais de tipo selvagem, estirpes transgênicas (KI e KO), bem como animais geneticamente modificados, na esmagadora maioria dos casos no pulmão, usando vetores adenovirais para sobre expressão, silêncio ou KO de genes de interesse neste órgão:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Experiências tipo 1: testar o efeito de diferentes drogas e respectivos regimes de doses - total de 480 animais: <ul style="list-style-type: none"> a. testar 30 medicamentos em diferentes condições. Cada vez, podemos testar 3 condições usando um grupo controlo.

	<p>Usaremos 10 animais por grupo. Um total de 40 animais em cada sessão. 10 sessões necessárias. Total de 400 animais necessários.</p> <p>b. Validação. Vamos repetir duas vezes os 3 melhores fenótipos usando grupos de 10 animais. Máximo de 40 animais por sessão. Total de 80 animais necessários.</p> <p>- Experiências do tipo 2: testar o efeito de 21 origens genéticas diferentes – total 360 animais:</p> <p>a. Semelhante à configuração acima. 280 animais necessários.</p> <p>b. Duas repetições dos 3 melhores fenótipos obtidos usando grupos de 10 animais. Total de 80 animais necessários. – Experiências tipo 3: otimização CRISPR - 250 animais necessários:</p> <p>a. testar a dose: 10 animais controle e 4 condições diferentes usando 10 animais -50 animais necessários.</p> <p>b. Tempo necessário para esperar após o procedimento: 10 animais controlo e 4 pontos de tempo diferentes pontos usando 10 animais - 50 animais necessários.</p> <p>c. Teste de taxa de infecção por citometria de fluxo, WB e imunocoloração no pulmão, fígado e rim. 50 animais necessários.</p> <p>d. Teste de eficácia das modificações genéticas e efeitos fora do alvo por RT-PCR e RNAseq - 100 animais necessários.</p> <p>2. Animais usados como reprodutores: 115 animais (cinco estirpes, 3 reprodutores e 20 murganhos para cada ponto de tempo). Claro que esta é uma estimativa.</p>
<p>No contexto do que é proposto fazer-se 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 animais terão uma forma grave de peritonite que levará à morte em 48 horas ou menos, no caso de animais controlo. Os animais serão sacrificados imediatamente após realização das experiências: 6, 12, 24, 48 e 72h no caso de colheitas de amostras, e no dia 7 após procedimento no caso de experiências de sobrevivência. Nenhuma intervenção medicamentosa pode ser usada para diminuir o sofrimento causado pelo procedimento, pois isso interferiria diretamente com o modelo de sépsis. Por exemplo, analgésicos têm efeitos anti-inflamatórios, que perturbam diretamente a</p>

	sépsis mecanicamente e o modelo de choque séptico. Essas drogas iriam tornar-se elas próprias parte 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	Não é possível modelar sépsis e choque séptico <i>in vitro</i> ou num modelo mais simples, tais como, usando organismos como <i>D. melanogaster</i> ou <i>C. elegans</i> .
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Usaremos o número mínimo de animais necessário para alcançar significância estatística nos resultados das experiências realizadas.
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 de murganho CLP é considerado o modelo padrão ouro para estudar todos os aspectos da sépsis em humanos, que vai desde o estudo de suas causas mecanicistas até ao seu tratamento, e é de longe o mais usado. Modelos de murganho <i>in vivo</i> são absolutamente necessários para capturar a complexidade da sépsis em níveis mínimos aceitáveis de significância para a saúde humana; caso contrário, o porco ou mesmo os primatas não humanos teriam que ser usados. Serão colocados alimentos húmidos dentro da gaiola, e as pipetas dos bebedouros serão mãos compridas. Os animais serão monitorados pela nossa equipa do biotério pelo menos uma vez a cada 12 horas após início da realização do procedimento. As gaiolas serão limpas ou trocadas, sempre que necessário.
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva no final da sua realização.	

Título do projeto	i-ThermoANIMAL – avaliação não-invasiva e automatizada de bem-estar animal por termografia de infravermelhos		
Duração do projeto	5 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Bem-estar animal, etologia,		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) (1)	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)	Este projecto propõe-se a testar termografia de infravermelhos para medição não-invasiva da temperatura de animais de laboratório, permitindo avaliar a sua saúde e bem-estar. Será desenvolvido, testado e validado um protocolo para medição sem-contacto de animais com recurso a câmaras térmicas digitais. Isto incluirá elaborar e testar algoritmos que integrem a informação das câmaras de modo a identificar e acompanhar animais em movimento e que identifiquem variações na sua temperatura interna e periférica.		
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>Dado a temperatura corporal (quer interna quer periférica) ser um indicador universal do estado de saúde e bem-estar de todos os animais homeotérmicos, quaisquer desenvolvimentos na monitorização, registo e avaliação do perfil térmico de animais de laboratório e de produção têm elevado potencial translacional. Já há algum trabalho realizado com termografia em humanos para aferir quer estados de saúde (infecção, inflamação, detecção de tumores), quer emocionais (assentes da reacção hipertérmica ao stress, observável num grande número de espécies, inclusive humanos), mas não se tem realizado esforços no sentido de desenvolver meios que permitam um uso mais específico da termografia para avaliação de saúde e bem-estar.</p> <p>O desenvolvimento de ferramentas, software e métodos para monitorização remota, não invasiva e automatizada de animais – e potencialmente humanos - poderá contribuir para uma mais ampla aplicação da termografia em áreas emergentes como a telemedicina, o diagnóstico precoce, ou a medicina</p>		

	desportiva, entre outras.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Serão utilizados 180 animais, da espécie <i>Mus musculus</i> (murganhos)
No contexto do que é proposto fazer-se 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?	A severidade é ligeira. Os animais serão eutanasiados de acordo com boas práticas, no final do procedimento.
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Sendo um projecto que visa desenvolver novos métodos para avaliar a temperatura corporal de murganhos (procedimento 1) e a sua aplicação para avaliação de bem-estar, não é possível levar o mesmo a cabo sem a utilização efectiva de animais.
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	O número de animais necessários para o procedimento 1 tem por base recomendações dos biomatemáticos que desenvolveram o método através do qual a concordância entre os métodos será aferida. O número de animais necessários para o procedimento 2 foi calculado através de uma “power analysis”, um método através do qual é determinado o número mínimo de animais necessários para detectar os efeitos que se esperam observar – para um conjunto de pressupostos de delineamento experimental e análise estatística previamente definidos – se os mesmos de facto ocorrerem. Ou seja, de forma a evitar erros estatísticos de tipo II.
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.	Todo o projecto se foca no refinamento dos métodos actuais para medição de temperatura de animais (procedimento 1) e na aplicação dessa metodologia para aferição do estado emocional dos animais, o que permitirá inferir o impacto de técnicas recorrentes em experimentação animal.

Título do projeto	HECOLCAP - Biomaterial para tratamento de infeções ósseas		
Duração do projeto	4 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	infeção óssea, regeneração óssea, biomateriais, libertação controlada de antibiótico		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) (1)	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e		Não

	produção de 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	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)	Modelo de tratamento de osteomielites		
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)?	Tratamento de infeções ósseas recorrendo apenas a uma cirurgia com administração local e controlada de antibiótico, material implantado com capacidade de consecutivamente libertar fármaco e regenerar tecido ósseo, diminuição tempo de internamento do doente, menor sofrimento para doente e menor custo.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Nesta fase (estudo preliminar) 3 ovelhas		
No contexto do que é proposto fazer-se 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?	Indução de infeção óssea seguida de tratamento. No final eutanásia dos animais.		
Aplicação dos 3Rs			
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	O material destina-se a ser, no futuro, implantável em humanos pelo que, a prova de conceito terá de ser feita em modelo animal de grande porte.		
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Em cada animal serão implantados 2+2 dispositivos de modo a sacrificar o número mínimo de animais sem comprometer o bem-estar destes.		
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	Tendo em conta os objetivos pretendidos em termos de remodelação óssea, o modelo ovino esqueleticamente maduro é considerado um modelo animal adequado e largamente validado. Por outro lado, em		

serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	termos de manejo trata-se de um animal de fácil manipulação e manutenção. O bem-estar está devidamente salvaguardado em termos de instalações e também de controlo de dor peri operatório.
--	--

Título do projeto	MIRACLES - Biorrefinaria integrada de algas de vários produtos: do dióxido de carbono e energia luminosa a especialidades de alto valor		
Duração do projeto	48 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	Sustentabilidade; Nutrição; Crescimento; Aquacultura; Bem-estar animal.		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) (1)	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)	O objectivo central do projecto MIRACLES é criar as bases tecnológicas para disponibilizar a biomassa de microalgas a custos aceitáveis, através do desenvolvimento de tecnologias apropriadas de bio-refinaria. Um dos objectivos específicos é desenvolver formulações para uma alimentação que promova uma condição nutricional óptima, e dentro de parâmetros de sustentabilidade económica e ambiental, em peixes de aquacultura, utilizando biomassas de microalgas.		
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 a sustentabilidade económica e ambiental da aquacultura Europeia, através de: 1) melhorar a eficiência de conversão do alimento 2) reduzir os custos com a alimentação		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	3600 <i>Sparus aurata</i> e 2784 <i>Solea senegalensis</i>		

No contexto do que é proposto fazer-se 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 ensaio de crescimento, o grau esperado de severidade será ligeiro. No final, parte serão usados em análises laboratoriais, os restantes serão sacrificados, o que implica um grau de severidade de Não Recuperação.
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	É fundamental para a viabilidade do projeto o uso de animais vivos uma vez que se pretende obter uma resposta em termos de crescimento em ensaios de nutrição que envolvem a alimentação dos peixes com dietas experimentais, simulando as condições reais de produção.
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	No planeamento deste estudo foram levados a cabo um desenho experimental e planeamento estatístico cuidados, no sentido de reduzir ao máximo o número de animais a utilizar.
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.	As espécies utilizadas serão usadas devido à sua relevância enquanto espécies produzidas em aquacultura e por ser de fácil manutenção em condições laboratoriais. Estudos anteriores (conhecimento <i>in silico</i>) demonstraram que ambas as espécies são sensíveis aos tratamentos a aplicar.

Título do projeto	MatriCard-Dissecção e Reconstrução de Matriz Extracelular: Nicho de Regeneração Cardíaca		
Duração do projeto	5 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Regeneração cardíaca, enfarte do miocárdio, desenvolvimento cardíaco; matriz extracelular		
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		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 central do trabalho é a identificação dos mecanismos que regulam a regeneração vs. reparação cardíaca e sua aplicação no desenvolvimento de novas terapias para tratamento do enfarte do miocárdio		
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 projecto poderá identificar moléculas importantes para o tratamento do enfarte do miocárdio assim como produzir novas terapias para o tratamento da mesma patologia.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Murganho, 200 animais/ano		
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 projecto?	Nos animais utilizados para recolha de tecidos o stress provocado ao animal é mínimo. No entanto nos modelos de lesão cardíaca neonatal e adulto o grau de severidade é moderado e severo, respectivamente. Os animais serão monitorizados com frequência no caso dos adultos está contemplada analgesia nas 72h posteriores à cirurgia.		
Aplicação dos 3Rs			
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Utilização de linhas celulares em todas as experiências em que exista alternativa a culturas primárias ex. progenitores cardíacos e linha HL-1 de cardiomiócitos.		
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Propomos o desenvolvimento de modelos <i>in vitro</i> para manutenção de células cardíacas o que permitirá estender a duração das culturas de células primárias e assim reduzir o número de isolamentos de células necessários cardiomiócitos		
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.	De forma a minimizar a perturbação resultante da experimentação animal contemplamos medidas de refinamento e <i>humane endpoint</i> . Também grupos homogéneos de animais são utilizados (mesma idade e animais singenéticos) de forma a reduzir as diferenças entre animais, resultando num decréscimo do número de animais necessários para obter resultados estatisticamente significativos. Adicionalmente todas as cirurgias serão efectuadas exclusivamente por investigadores acreditados pela DGV.		
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva no final da sua realização.			

Título do projeto	COMBINE –Estratégia pró-regenerativa combinatória para potenciar a regeneração axonal e melhorar a recuperação funcional
-------------------	---

		após lesão medular	
Duração do projeto	5 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Lesão medular; regeneração neuronal; reabilitação		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) (1)	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>Irá ser testada uma nova estratégia terapêutica combinatorial para as lesões medulares com os seguintes objectivos:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Aumentar a capacidade intrínseca dos axónios do sistema nervoso central regenerarem após lesão, por inibição de dois inibidores de regeneração. - Diminuir as características inibitórias da cicatriz glial, por utilização de um hidrogel baseado em fibrina. <p>Esta abordagem pró-regenerativa será combinada com um programa de reabilitação, concebido para se assemelhar a programas actualmente realizados na prática clínica.</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)?	Este projeto poderá contribuir para a identificação de alternativas terapêuticas para lesões do sistema nervoso, e como tal ter um impacto significativo na qualidade de vida dos doentes afetados.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Rato- 120 animais		
No contexto do que é proposto fazer-se aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos	A lesão medular é um procedimento moderado. Os ratos lesionados ficarão logo após a lesão paraplégicos e apresentarão perda do controle urinário. É no entanto esperado que no decurso		

animais no final da realização do projeto?	do projeto, os animais recuperem progressivamente alguma das suas funções locomotoras bem como o controlo urinário.
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>Não é para já possível recriar <i>in vitro</i> o ambiente de uma medula espinal lesionada. Como tal, após testes em cultura celular, é necessário testar em animais novas opções terapêuticas. Adicionalmente neste projeto iremos avaliar os benefícios de um protocolo de reabilitação em ratos lesionados. Este tipo de estudo só é possível <i>in vivo</i>.</p>
<p>2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Todas as drogas e nanomateriais utilizados em animais serão previamente testados em culturas celulares. Apenas os que apresentarem resultados positivos passarão a testes <i>in vivo</i>.</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 serão efetuados por investigadores experientes em cirurgia experimental. Cuidados de <i>refinement</i> serão tomados na manutenção dos animais em que fôr provocada lesão da espinal medula. Todos os animais serão anestesiados e será providenciada analgesia, fluidoterapia durante 72 horas após cirurgia. No período de recobro os ratos serão vigiados, mantidos aquecidos, com os seguintes cuidados de refinement:</p> <ul style="list-style-type: none"> - Presença de comida húmida (<i>soft food</i>) na cama e observação do <i>intake</i> nutricional; - Fornecimento de Nutela para alimentar os animais durante as 9 semanas de duração da experiência; - Uso de biberons de tetina longa, 6cm, de forma a facilitar o acesso à água; - Água fornecida com antibiótico para prevenção de infeções urinárias. <p>Baytril injectável administrado por via subcutânea dosagem 10 mg/kg durante as primeiras 72 horas, e baytril 10% suspensão oral dosagem 25 mg/kg de PV na água de bebida.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Esvaziamento manual da bexiga (duas vezes ao dia) seguido de cuidados de desinfeção. <p>Todos os animais submetidos a lesão serão monitorizados 2 vezes/dia durante o pós-operatório de forma a que seja possível tomar atempadamente as medidas necessárias para evitar sofrimento. No pós-cirúrgico e até à data de eutanásia será oferecido enriquecimento ambiental (rolos e papel), brindes (chocolate) e muito afeto humano.</p>

O projeto será submetido a avaliação retrospectiva no final da sua realização.