

Resumo não técnico de projetos experimentais autorizados em 2019

Título do projeto	MEMORYSTIM - Modulação optogenética da sinalização GABAérgica e dopaminérgica do córtex pré-frontal para a reversão de défices cognitivos relacionados com dor crónica		
Duração do projeto	36 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	“Défices cognitivos”; “dor crónica”; optogenética; “córtex pré-frontal”; “reversão de défices”		
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 ⁽²⁾		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	<p>A dor crónica está associada a alterações nos circuitos pré-frontais. A visão atual é de que que a dor pode contribuir para o desequilíbrio da sinalização dopaminérgica no córtex pré-frontal (PFC), introduzindo “ruído” nos circuitos locais e contribuir para um “output” anormal para outras estruturas subcorticais do cérebro. Uma das hipóteses que justifica esse desequilíbrio é o de que a sobrecarga sensorial pode estar associada a uma hipo-atividade das projeções mesocortico-límbicas dopaminérgicas para o PFC, resultando na sua hipo-estimulação e na manifestação de défices cognitivos de forma na lóga ao que acontece em algumas doenças neurológicas e psiquiátricas. Todavia, ainda não são totalmente conhecidos quais os mecanismos neurobiológicos que estão na base desses estados de hipo-sinalização dopaminérgica do PFC, e esse, constitui o objeto principal deste projeto.</p> <p>Sabe-se que a modulação dopaminérgica desempenha um papel importante a nível da transmissão GABAérgica no PFC, colaborando no suporte transiente de representações neuronais</p>		

	<p>de eventos necessários para os processos de decisão e memória. Esse controlo é mediado pela habilidade da dopamina (DA), em determinados contextos, poder amplificar seletivamente a atividade de determinadas populações neuronais. No PFC, a DA está associada à ativação de interneurónios do tipo “fast-spiking”, que são um subgrupo de interneurónios GABAérgicos envolvidos no controlo temporal e seletividade espacial da atividade dos neurónios piramidais. A estimulação da área tegumental ventral resulta na supressão da atividade dos neurónios piramidais do PFC, esta inibição está correlacionada temporalmente com o aumento da excitabilidade local dos interneurónios “Fast-spiking”. Ao nível celular, a ação inibitório da dopamina no PFC é devida a um aumento da atividade local da rede GABAérgica. Os interneurónios GABAérgicos no PFC expressam recetores de dopamina, e a excitabilidade dos interneurónios “fast-spiking” é modulada positivamente por recetores no PFC do tipo D1 e D2. Nesse sentido, a fina sintonia entre a transmissão local GABérgica e a atividade dos interneurónios piramidais regulada pelo DA têm um papel crítico durante os processos de memória e a perturbação destas interações está implicada na fisiopatologia de défices cognitivos.</p> <p>Neste projeto, vamos combinar a extensa experiência em comportamento e avaliação de sinais neurofisiológicos com estimulação optogenética, para modular seletivamente a sinalização dopaminérgica no PFC. Especificament, pretendemos saber se a modulação optogenética pela via mesocortico-límbica dopaminérgica é capaz de restaurar o equilíbrio da função inibitória do PFC, e se a manipulação direta deste circuito produz algum impacto na redução das respostas nociceptivas e na performance cognitiva.</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>As falhas de memória são um dos problemas que frequentemente afeta os doentes com dor crónica são. Estes problemas já estão amplamente descritos na literatura científica e é reconhecido, hoje, que constituem um problema mais centrado nos processos de memória de curto prazo, que requerem um nível significativo de complexidade cognitiva, do que perda generalizada de memória.</p> <p>São diversos os estudos clínicos e pré-clínicos que suportam a ideia de que a dor crónica causa alterações em larga escala do nível de conectividade entre diversas áreas do cérebro; em particular, regiões que não pertencem classicamente à componente definida como sistema somato-sensitivo. Estas alterações surgem em diferentes patologias dolorosas e em diferentes níveis de severidade de dor. No entanto, os mecanismos neuronais subjacentes a estas alterações de atividade, ainda não são totalmente conhecidos. Todavia, sabe-se que a dor crónica conduz a alterações no fluxo de informações entre áreas do cérebro, resultando em alterações no fluxo de informações entre áreas do cérebro, resultando em</p>

	<p>alterações a longo prazo na atividade oscilatória.</p> <p>A identificação destes marcadores e padrões de atividade cerebral são de importância crucial, para o desenvolvimento de intervenções mais seletivas e direcionadas a circuitos específicos do cérebro envolvidos no processamento de informação olfativa e no processo de cronificação da dor, e proporcionar aos doentes em tratamento diferenciado que permita melhorar a qualidade de vida das pessoas e gerir da melhor forma os custos associados a esta doença.</p>
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Neste projeto apenas serão utilizados vertebrados - roedores não transgênicos (Sprague-Dawley e C57 que serão adquiridos a laboratório em França) e roedores transgênicos adquiridos a laboratório dos EUA. Serão utilizados entre 120-150 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?	<p>Os efeitos adversos gerais são moderados, uma vez que não afetam de forma significativa o estado de saúde dos animais. No entanto, estão incluídas medidas que visam reduzir alterações do bem-estar dos animais durante os procedimentos a aplicar durante a execução deste projeto. A maior parte dos procedimentos envolve a avaliação da performance cognitiva em tarefas de memória de curto prazo, nas quais o nível de severidade dos procedimentos é ligeiro ou inexistente. No caso dos procedimentos que envolvem a indução do modelo animal de neuropatia periférica ou implantação intracraniana podem ser considerados severos, por envolverem uma lesão ou alteração permanente, embora tenham um impacto ligeiro ou moderado subsequente no bem-estar animal.</p> <p>No final do projeto os animais serão sacrificados para recolha do cérebro para validação histológica da localização em tecido da estrutura para registo da atividade neuronal e de estrutura para foto-estimulação. Esta recolha é ainda necessária para validar funcionalmente em tecido o nível de expressão das proteínas fotossensíveis.</p>
Aplicação dos 3Rs :	
<p>1.Replacement (Substituição)</p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	O estudo das redes de conectividade cerebral e da sua alteração dinâmica em situações de patologia nervosa, necessitam da utilização de um cérebro inteiro e, naturalmente, modelos animais: a utilização de culturas celulares, tecidos inertes ou modelos computacionais, não permite.
<p>2.Reduction (Redução)</p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	Os nossos métodos experimentais permitem a utilização de um reduzido número de animais, porque cada animal é implantado com sensores crónicos de registo de atividade cerebral, e procedemos à obtenção de sinais por longos períodos de tempo (que podem chegar a meses) durante a atividade diária dos animais. Desta forma, cada grupo experimental (animais tratados e animais controlo) fornece muitos dados, permitindo a execução de trabalhos complexos com um número reduzido de animais por grupo experimental. No total do projeto está

	planeada a utilização de 120-150 animais, no período de duração deste projeto (3 anos). Este número poderá ainda ser reduzido, dependendo da estabilidade das respostas dos 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.	As espécies <i>Rattus norvegicus</i> e <i>Mus músculos</i> são utilizadas universalmente em estudos que envolvem uma forte componente anatómica, para a análise neurofisiológica e avaliação de funções cognitivas complexas em circuitos neurais. Estes modelos animais são de grande importância pois apresentam uma grande homologia anatómica e estrutural ao nível do cérebro, o que permite uma melhor mimetização e translação de resultados. Por outro lado, a variabilidade do padrão genético, entre o homem e os roedores, é reduzida o que também favorece essa translação. O nosso laboratório tem feito um esforço para adotar as recomendações internacionais de forma a minimizar a dor, sofrimento e stress nos modelos animais de dor, melhorar o bem-estar animal e otimizar a qualidade dos estudos nesta área. Essas práticas e orientações incluem o princípio na escolha do modelo, procedimento de indução, procedimentos para a recolha de registos de atividade neural no cérebro, cuidados pós-operatórios. Na componente de bem-estar animal, a inclusão de “endpoints” humanos nos protocolos experimentais, contexto e estrutura social e enriquecimento ambiental no alojamento dos animais. Por fim, outro princípio adotado é a partilha de dados obtidos.		
Para uso oficial			
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Sim		Observações

Título do projeto	OPTORISK - Codificação de sinais de recompensa em populações neuronais do circuito dopaminérgico: estudo optogenético dos correlatos neuronais de decisão e expectativa.		
Duração do projeto	36 Meses (eventualmente prolongável)		
Palavras-chave (máx. 5)	“Défices cognitivos”; “dor crónica”; optogenética; “córtex pré-frontal”; “imagiologia de cálcio intracraniano”.		
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	Sim	

	homem ou dos animais		
	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 ⁽²⁾		Não
<p>Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)</p>	<p>O nosso comportamento individual está indissociavelmente ligado à forma como respondemos aos eventos positivos e negativos que vivemos, e à forma como aprendemos com esses mesmos eventos. A neurotransmissão dopaminérgica com origem em núcleos mesencefálicos é o principal sistema neuronal de codificação do conteúdo hedónico de eventos relevantes. Curiosamente, a atividade dos neurónios dopaminérgicos não está correlacionada com o valor da recompensa dos eventos, mas sim com o grau de discrepância entre a expectativa da recompensa e o efetivo resultado obtido. Esta codificação neuronal da dopamina é vulgarmente designada como o sinal de Erro na Previsão de Recompensa: um mecanismo crucial para detetar mudanças na causalidade entre estímulos e resultados.</p> <p>Para abordar estes tópicos, este projeto irá executar registos neurofisiológicos e neuroimagiológicos usando miniscópios implantados em diferentes áreas em animais despertos, enquanto simultaneamente estimulamos ou inibimos optogeneticamente os neurónios dopaminérgicos. A estimulação optogenética permite estimular populações específicas de neurónios, mimetizando a transmissão sináptica natural desses neurónios. Este grupo de investigação conseguiu ótimas publicações através da qualidade técnica dos registos neurofisiológicos em animais despertos, e introduzimos recentemente a estimulação optogenética no laboratório; o nosso laboratório possui os recursos técnicos e a capacidade humana para executar as tarefas propostas neste projeto e realizar trabalhos de elevado calibre internacional com imediato impacto no avanço do conhecimento desta área.</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>Um dos problemas que frequentemente afeta os doentes com dor crónica é as falhas de memória. Estes problemas já estão amplamente descritos na literatura científica e é reconhecido hoje que constituem um problema mais centrado nos processos de memória de curto prazo, que requerem um nível significativo de complexidade cognitiva, do que perda generalizada de memória.</p> <p>São diversos os estudos clínicos e pré-clínicos que suportam a ideia de que a dor crónica causa alterações em larga escala do</p>		

	<p>nível de conectividade entre diversas áreas do cérebro; em particular, regiões que não pertencem classicamente à componente definida como sistema somato-sensitivo. Estas alterações surgem em diferentes patologias dolorosas e em diferentes níveis de severidade da dor. No entanto, os mecanismos neuronais subjacentes a estas alterações de atividade, ainda não são totalmente conhecidos. Todavia, sabe-se que a dor crónica alterações no fluxo de informações entre áreas do cérebro, resultando em alterações a longo prazo na atividade oscilatória.</p> <p>A identificação destes marcadores e padrões de atividade cerebral são de crucial importância, para o desenvolvimento de intervenções mais seletivas e direcionadas a circuitos específicos do cérebro envolvidos no processamento de informação dolorosa e no processo de cronificação da dor, e proporcionar aos doentes um tratamento diferenciado que permita melhorar a qualidade de vida das pessoas e gerir da melhor forma os custos associados a esta doença.</p>
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Ratos da estirpe Sprague-Dawley. Serão utilizados entre 120-200 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?	<p>Os efeitos adversos são moderados, uma vez que são prolongados no tempo, mas não afetam de forma significativa o estado de saúde do animal.</p> <p>Aliás, a manutenção do bom estado geral do animal (avaliado pela não alteração de parâmetros biológicos de peso, sono, stress crónico, movimento, hierarquia social, "grooming" e de acasalamento) é fundamental para o sucesso das experiências; qualquer animal que demonstre uma diminuição severa destes parâmetros será retirado do grupo experimental.</p> <p>No final do projeto os animais serão occidados.</p>
Aplicação dos 3Rs	
<p>1.Replacement (Substituição)</p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	O estudo das redes de conectividade cerebral e da sua alteração dinâmica em situações de patologia nervosa, necessitam da utilização de um cérebro inteiro e, naturalmente, modelos animais: a utilização de culturas celulares, tecidos inertes ou modelos computacionais, não permite essa avaliação.
<p>2.Reduction (Redução)</p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	As metodologias muito complexas de registo neurofisiológico em animais em movimento que desenvolvemos no nosso laboratório ao longo dos últimos 15 anos, permitiram uma enorme redução do número de animais utilizados neste tipo de experiências. Os nossos métodos experimentais permitem a utilização de um reduzido número de animais, porque cada animal é implantado com sensores crónicos de registo da atividade cerebral, e

	<p>procedemos à obtenção de sinais por longos períodos de tempo (que podem chegar a meses) durante a atividade diária dos animais. Desta forma, cada grupo experimental (animais tratados e animais controlo) fornece muitos dados, permitindo a execução de trabalhos complexos com um número reduzida animais por grupo experimental. No total do projeto está planeada a utilização de cerca de 120-200 animais, no período de duração deste projeto (3 anos). Este número poderá ainda ser reduzido, dependendo da estabilidade das respostas dos grupos experimentais.</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>As espécies <i>Rattus norvegicus</i> e <i>Mus musculus</i> são utilizadas universalmente em estudos que envolvem uma forte componente anatómica, para a análise neurofisiológica e avaliação de funções cognitivas complexas em circuitos neurais. Estes modelos animais são de grande importância pois apresentam uma grande homologia anatómica e estrutural ao nível do cérebro, o que permite uma melhor mimetização e translação de resultados. Por outro lado, a variabilidade do padrão genético, entre o homem e roedores, é reduzida o que razão porque o modelo (s) animal também favorece essa translação.</p> <p>O nosso laboratório tem feito um esforço para adotar as recomendações internacionais de forma a minimizar a dor, sofrimento e stress nos modelos de animais de dor, minimizar os custos de bem-estar melhorar o bem-estar animal e otimizar a qualidade dos estudos nesta área. Essas práticas e orientações incluem o princípio na escolha do modelo, procedimentos de indução, procedimentos para a recolha de registos da atividade neuronal no cérebro, cuidados pré e pós-operatórios. Na componente de bem-estar animal, a inclusão de "endpoints" humanos nos protocolos experimentais, contexto e estrutura social e enriquecimento ambiental no alojamento dos animais. Por fim, outro princípio adotado é a partilha de dados obtidos.</p>		
Para uso oficial			
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Sim		Observações

Título do projeto	Avaliação da infecciosidade de estirpes de <i>Leishmania infantum</i> isoladas de gatos
Duração do projeto	5 anos
Palavras-chave (máx. 5)	Gato, <i>Leishmania</i> , reservatórios, "modelo murino", patogénese

Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	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 ⁽²⁾		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	O objetivo deste projeto será avaliar a patogénese das estirpes de Leishmania, isoladas de gatos, no modelo murino		
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 dados obtidos contribuirão para o conhecimento da patogénese, nos vertebrados (modelo murino), de estirpes de Leishmania isoladas de gatos. Pretende-se esclarecer as semelhanças/disselhanças que as estirpes isoladas de gatos apresentam em comparação com as isoladas de cães e de humanos, contribuindo, desta forma, para um melhor esclarecimento do papel dos gatos enquanto putativos reservatórios destes parasitas.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Mus musculus - BalbC 120 animais Mesocricetus auratus 6 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?	Efeitos adversos: Não é expectável a ocorrência de adversos, embora ocorra visceralização da infeção. Tipicamente o modelo murino não desenvolve sinais clínicos associados à infeção por Leishmania. Os animais serão occidados e posteriormente incinerados no fim		

	do estudo.		
Aplicação dos 3Rs:			
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	O objetivo do estudo é caracterizar <i>in vivo</i> a dinâmica infeção por estirpes de <i>Leishmania</i> isoladas de gatos, inviabilizando a aplicação de métodos alternativos que não utilizem animais.		
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	O número de animais necessário para o estudo, foi aferido e acordo com Festing & Weigle (2003). Desta forma, será utilizado o número mínimo de animais, tendo por base 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.	A espécie escolhida (<i>Mus musculus</i>) é o modelo mais utilizado nos ensaios <i>in vivo</i> da leishmaniose. As principais vantagens deste modelo são: (1) Suscetibilidade à infeção que serão usados são os mais por <i>Leishmania infantum</i> ; (2) permitir uma fácil manipulação refinados, tendo em conta os e acomodação dos animais; (3) permitir trabalhar com estirpes "inbred", reduzindo as variações genéticas entre animais do mesmo grupo experimental. O hamster (<i>Mesocricetus auratus</i>) é um modelo animal bastante suscetível à infeção por <i>L. infantum</i> permitindo a isolamento de elevado número de parasitas. O bem-estar dos animais será garantido através de uma vigilância adequada dos mesmos, da realização adequada dos procedimentos e cumprimento dos requisitos éticos e legais vigentes. Nas caixas de alojamento são colocados tubos e material de entretenimento que lhes permite efetuarem exercício físico e se esconderem, durante o período de manutenção, de forma a promover o bem-estar dos animais.		
Para uso oficial			
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?		Não	Observações

Título do projeto	Imuno-Regulação em saúde e doenças		
Duração do projeto	5 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Autoimunidade, cancro		
Fim/objetivo do projeto	Investigação fundamental	Sim	

(de acordo com 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 ⁽²⁾		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	<p>Neste projeto iremos estudar as propriedades do sistema imunológico que garantem a integridade dos tecidos, assim como a tolerância a antigénios comensais e alimentares, enquanto mantêm a capacidade de montar repostas eficazes contra agentes infecciosos e biológica deste equilíbrio paradoxal ainda não se encontra completamente compreendida, e esta falta de conhecimento impede o avanço no desenvolvimento de curas para doenças autoimunes e cancro. Assim, os maiores efeitos secundários das terapêuticas contra as doenças autoimunes são infeções e cancros, e os maiores efeitos secundários das terapêuticas imunológicas contra o cancro são o desenvolvimento de doenças autoimunes e de inflamação exacerbada.</p> <p>Há uma necessidade urgente de descodificar as regras biológicas que levam ao desenvolvimento de tolerância imunológica benéfica ou prejudicial. O timo é um órgão do sistema imunológico que tem como principais funções a produção de (I) linfócitos T que defendem o nosso organismo de agentes patogénicos e de células cancerígenas, mas que também podem causar autoimunidade, e de (II) células T reguladoras (Treg) que previnem manifestações autoimunes, mas também podem prevenir a rejeição de tumores. Assim, ao testarmos formalmente o papel da atividade contínua do timo na tolerância imunológica dos adultos nos órgãos desenvolvidos durante a vida embrionária, nos microrganismos comensais adquiridos durante o nascimento e nos tumores desenvolvidos na idade adulta, esperamos contribuir com a descoberta de novos alvos para o desenvolvimento terapêutico.</p> <p>O projeto representa a atividade global do laboratório para os próximos cinco anos. Propomos implementar a validação do conceito, em ratinhos - de que a ontogenia, a atividade tímica e o historial fisiológico dos tecidos alvo contribuem para o</p>		

	<p>estabelecimento da doença - em modelos de cancro, infeções bacterianas e autoimunidade específica de órgãos.</p> <p>O presente estudo tem como objetivo definir o papel da atividade tímica continua na manutenção e indução de tolerância imunológica, assunto fundamentado nas publicações prévias do nosso laboratório e nunca estudada por outros investigadores. Uma vez que os linfócitos T, em recém-nascidos, são todos recentemente exportados do timo, temos também questões importantes relacionadas com a ontogenia e tolerância imunológica. Devido ao fato de que deficiências em genes reguladores da resposta imunológica resultar no estabelecimento de doenças autoimunes que afetam vários órgãos, colocamos a hipótese do historial fisiológico do órgão (1.e. infeções, inflamação ou formação de cicatrizes) poder torná-lo mais suscetível ao ataque autoimune, antes da desregulação imunológica.</p> <p>De uma forma geral, temos 3 objetivos para fundamentar as questões acima referidas. No primeiro, pretendemos dissecar o papel das células hematopoiéticas versus tecidos na doença autoimune e na transplantação de órgãos. Neste ponto esperamos estabelecer se o historial patofisiológico do tecido/órgão tem influência na suscetibilidade ao ataque imunológico e, conseqüentemente, no estabelecimento da doença autoimune. Esperamos também definir o papel das células epiteliais (não hematopoiéticas) ou das células dendríticas (hematopoiéticas) na modelação do sistema imunológico no que respeita à promoção da tolerância a órgãos (saudável versus autoimunidade versus rejeição a transplante).</p> <p>Como segundo objetivo, pretendemos perceber o papel da atividade tímica na doença autoimune, na imunidade anti tumoral e nas infeções bacterianas; estabelecendo como e quando a atividade tímica reduz a suscetibilidade a doenças autoimunes, limita a imuno-sobrevivência de tumores e favorece a tolerância a patobiontes, patógenos oportunistas e/ou comensais.</p> <p>O terceiro objetivo é a identificação de células do sistema imunológico modeladoras e específicas da doença autoimune. As células T reguladoras (Treg) são uma peça chave no controlo de manifestações autoimunes assim, neste último ponto pretendemos identificar quais as subpopulações de células T são precursoras de células Treg e em que condições elas se diferenciam em Treg. Pretendemos também perceber o que favorece a manutenção de subpopulações específicas de células Treg e quais são os tipos de células, tecidos e órgãos regulados pelas subpopulações específicas de células Treg.</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</p>	<p>Este projeto pretende contribuir para a identificação de parâmetros biológicos para explicar ataque aos nossos órgãos por células ou moléculas do sistema imune, levando à sua</p>

beneficiar com o projeto)?	disfunção.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Ratinhos no total de 9680 animais, ao longo de cinco anos.	
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>O grau de desconforto espectável para animais sujeitos a procedimentos neste projeto é considerado ligeiro a moderado.</p> <p>Todos os animais experimentais serão observados pelo menos duas vezes por semana. Animais que desenvolvam doenças ou que atinjam alteração de estado geral compatível com limites críticos serão imediatamente retirados da experiência e eutanasiados.</p> <p>No final dos procedimentos, os animais serão eutanasiados. Aplicação dos 3Rs</p>	
Aplicação dos 3Rs:		
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Uma vez que apenas em animais experimentais é reproduzida a complexidade dos processos biológicos e das interações celulares presentes no sistema imune de humanos, este projeto só poderá ser executado com recurso a ratinhos.	
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	O número de animais experimentais será reduzido pela otimização do número de parâmetros a ser analisado em utilizados os números mínimos de cada amostra e pela utilização, sempre que possível, de grupos de animais controlo comuns a várias experiências.	
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>Para atingir os objetivos deste projeto é necessário analisar o desenvolvimento de doenças autoimunes, e a rejeição de transplantes e tumores.</p> <p>Serão tomadas as seguintes medidas para minimizar os custos de bem-estar aos animais: todos os animais experimentais serão observados duas vezes por semana.</p> <p>Animais que desenvolvam doença ou que atinjam alteração de estado geral compatível com limites críticos internacionalmente aceites serão imediatamente retirados da experiência e eutanasiados.</p>	
Para uso oficial		
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Sim	Observações

Título do projeto	Procedimentos de rotina para manutenção de colónias de mosquitos <i>Anophelineos</i> e infeção experimental dos mesmos com parasitas do género <i>Plasmodium</i>		
Duração do projeto	5 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	“Produção de mosquitos vetores”, “Malária murina”		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim	
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina	Sim	
	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 ⁽²⁾	Sim	
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	<p>Produzir mosquitos e infeções experimentais de malária murina para o estudo de interações parasita-vetor.</p> <p>Desenvolvimento de dietas artificiais que substituam o sangue na produção de mosquitos.</p> <p>Obtenção de marcadores celulares e moleculares, fármacos e vacinas para o bloqueio de transmissão.</p> <p>Testes de suscetibilidade/resistência de mosquitos a inseticidas e larvicidas.</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 manutenção de colónias de vetores que transmitem a malária permite a realização de inúmeros estudos em diferentes fases do ciclo de desenvolvimento do parasita permitindo a busca de novos métodos e ferramentas para o controlo da malária e outras doenças transmitidas por vetores. Paralelamente a investigação de alternativas à utilização de animais na refeição sanguínea dos mosquitos vetores permitirá reduzir o número de animais a utilizar no futuro em investigação e intervenção que necessitem mosquitos em larga escala.</p>		

<p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p>	<p><i>Mus musculus</i> (180/ano) e <i>Rattus norvegicus</i> (8/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>Produção de mosquitos para o estudo do parasita da malária no mosquito vetor: com severidade ligeira (procedimento com anestesia). No final da alimentação os animais serão eutanasiados ou recuperação vigiada.</p> <p>Infeções experimentais de murganhos com malária murina para estudos de transmissão e ciclo de vida do parasita no vetor: os modelos de malária murina utilizados são letais, no entanto o desenvolvimento da infeção é interrompido com a eutanásia dos animais. Até ao momento em que os animais são mantidos, cerca de 5-10% de parasitemia, a severidade é ligeira.</p>
<p>Aplicação dos 3Rs:</p>	
<p>1.Replacement (Substituição)</p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Para manter uma colónia de mosquitos e produzir mosquitos vetores de doenças para experimentação é necessário sangue. A alimentação direta dos mosquitos em animais é, no momento a forma mais eficaz e segura de obter descendência em mosquitos. As fêmeas de mosquito necessitam um repasto sanguíneo para produzirem ovos.</p> <p>Os modelos murinos são a forma mais segura e eficaz para estudos que envolvam o ciclo de vida do parasita no mosquito e a transmissão vetorial.</p>
<p>2.Reduction (Redução)</p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Os protocolos são otimizados para a utilização do menor número de animais possível.</p> <p>A gestão das colónias de mosquitos é efetuada de modo a produzir o mínimo de mosquitos necessários para as experiências em curso. Deste modo minimizando o número de animais utilizados.</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>A espécie <i>Mus musculus</i> foi escolhida por ser suscetível ao desenvolvimento e tolerar as infeções por malária murina. O modelo está bem estabelecido de um modo global, estando os protocolos altamente testados, padronizados e otimizados. A sua escolha para a manutenção da colónia de <i>Anopheles gambiae</i>, prende-se com a maior eficiência da refeição sanguínea e consequentemente maior eficácia na produção de ovos. <i>Rattus norvegicus</i> são utilizados para a manutenção da colónia de <i>Anopheles stephensi</i>, devido à dimensão desta colónia é necessário um animal de maiores dimensões para todos os mosquitos poderem efetuar a sua refeição sanguínea o mais rapidamente possível, tornando a refeição mais eficiente e resultando em posturas de ovos mais mais eficazes.</p>

Para uso oficial			
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?		Não	Observações

Título do projeto	Performance <i>in vivo</i> de cola de fibrina e hidrogel STM-148B com cartilagem picada para reparação de cartilagem		
Duração do projeto	3 Meses		
Palavras-chave (máx. 5)	"Reparação de cartilagem"; biomateriais e "cartilagem picada"		
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 ⁽²⁾		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Os principais objetivos deste estudo PoC estão listados abaixo: <ul style="list-style-type: none"> • avaliar o desempenho da cola de fibrina e do hidrogel STM-148B com pedaços de cartilagem para reparação de cartilagem; • avaliar o desempenho de cola de fibrina e hidrogel STM-148B com pedaços de cartilagem em combinação com microfratura para reparação de cartilagem. 		
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 uso de cartilagem autóloga fragmentada no contexto de reparação de cartilagem é excetuado para entregar localmente células que têm o potencial para promover a regeneração da cartilagem. O uso de uma matriz capaz de fornecer fixação após um procedimento de reparo de cartilagem de passo único evita a necessidade de outros procedimentos de fixação que possam danificar a cartilagem articular adjacente. Os resultados deste estudo POC podem levar a estudos fundamentais e de desenvolvimento. Animals will be humanely killed.		

Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	15 <i>Oryctolagus cuniculus</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?	Dor e infeção, mitigadas com medicação analgésica adequada. No final do projeto e antes disso caso os animais atinjam os limites críticos considerados, os animais serão occidados de forma humana.		
Aplicação dos 3Rs:			
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Não é tecnicamente possível avaliar a regeneração de tecidos como a cartilagem através de métodos não animais, e o modelo proposto é indicado pelas diretrizes do ICRS como o ideal para estudos de PoC neste campo. Experimentos <i>in vitro</i> realizados pela Stematters mostraram excelente biocompatibilidade do STM-148B e o potencial de suporte da cartilagem.		
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Grupos de animais usados em um estudo anterior também servirão como um grupo de controlo, ou seja, lesões vazias e referência ou tratamento padrão (microfratura). A análise de potência é baseada nesses resultados anteriores em linha e no estudo de PoC.		
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 uso do modelo coelho como PoC para reparação de cartilagem está de acordo com as diretrizes do ICRS. Todos os procedimentos serão realizados por um cirurgião ortopédico com vasta experiência neste tipo de modelos animais. Todas as cirurgias devem ser realizadas sob anestesia geral com uma mistura de cloridrato de cetamina (25 mg / kg) e cloridrato de medetomidina (0,3 mg / kg). Buprenorfina 0,03 mg / kg IM 12 12h, mantido durante as primeiras 72 horas de pós-operatório e continuado, se necessário, de acordo com a avaliação clínica. Os anti-inflamatórios não-esteroides (AINE's) podem ser administrados em caso de dor aguda. Após a recuperação da cirurgia, os animais serão colocados em gaiolas individuais e alimentados <i>ad libitum</i> , permitindo livre movimentação e contato visual entre si.		
Para uso oficial			
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?		Não	Observações

Título do projeto	GAIN - Green Aquaculture Intensification (Intensificação da Aquacultura “Verde”)		
Duração do projeto	2 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Aquicultura;” Rações sustentáveis;” Requisitos nutricionais”; Crescimento; “Economia circular”.		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim	
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina	Sim	
	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 ⁽²⁾		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	O projeto GAIN visa melhorar a produção aquícola de douradas , produzindo peixes mais saudáveis e com índices de conversão alimentar mais eficientes.		
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)?	Um dos potenciais benefícios que podem derivar do projeto GAIN é o desenvolvimento de formulações melhoradas e que possam derivar deste projeto mais sustentáveis, baseadas nos princípios da economia circular. Melhorar a compreensão das necessidades nutricionais, da previsão do crescimento e dos indicadores de saúde e o bem-estar dos animais em aquicultura.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	1760 <i>Sparus aurata</i>		

<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>Neste projeto e tendo em consideração o ensaio de crescimento delineado o grau provável de severidade será ligeiro.</p> <p>No final da realização do projeto os animais serão utilizados em análises laboratoriais, caso sobre animais estes serão sacrificados (grau de severidade - Não recuperação).</p>		
<p>Aplicação dos 3Rs:</p>			
<p>1.Replacement (Substituição)</p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>O projeto implica a utilização de animais 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.</p>		
<p>2.Reduction (Redução)</p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>No planeamento deste ensaio de crescimento foram levados a cabo um desenho experimental e estatístico cuidados, no sentido de reduzir ao máximo o número de animais a utilizar.</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>A espécie utilizada foi escolhida por ser uma espécie relevante a nível económico produzida em aquicultura, bem como, por ser de fácil manutenção em condições laboratoriais. Estudos anteriores (conhecimento <i>in silico</i>) demonstraram que a espécie é sensível aos tratamentos a aplicar.</p>		
<p>Para uso oficial</p>			
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>		<p>Não</p>	<p>Observações</p>

<p>Título do projeto</p>	<p>Estudo das moléculas NT3 e do seu recetor TrkC na regulação da memória de medo</p>		
<p>Duração do projeto</p>	<p>5 anos</p>		
<p>Palavras-chave (máx. 5)</p>	<p>“Condicionamento de medo”, “Extinção de medo”, “Medo contextual”, Ansiedade</p>		

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 ⁽²⁾		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	<p>O objetivo deste projeto é estudar o papel de duas moléculas, a neurotrofina 3 e o seu recetor TrkC, na formação e extinção da memória de medo contextual, em indivíduos saudáveis, e investigar os mecanismos celulares e moleculares envolvidos. Para isso, propomos os seguintes objetivos específicos:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Quantificar os níveis de NT3 e TrkC nas regiões cerebrais envolvidas na regulação do medo (hipocampo, amígdala e córtex pré-frontal) antes e em diferentes fases da formação da memória de medo. Os animais vão ser treinados usando o paradigma de condicionamento e extinção de medo; 2. Combinar comportamento animal com os mais modernos instrumentos genéticos para identificar a região cerebral de onde vem a NT3 necessária no processamento da memória de medo e provar que TrkC é necessário neste processo; 3. Estudar a cascata intracelular MAPK como a via de sinalização NT3-TrkC na formação da memória de medo contextual. Confirmar <i>in vivo</i> as moléculas encontradas alteradas e assim estabelecer uma relação direta com a aprendizagem/memória de medo. 4. Investigar o mecanismo de ação sináptica das moléculas NT3 e TrkC, fazendo registros eletrofisiológicos <i>ex vivo</i> em fatias cerebrais (hipocampo e córtex pré-frontal). 5. Caracterizar os efeitos da NT3 na distribuição sináptica dos recetores glutamatérgicos AMPA e NMDA em culturas de neurónios do hipocampo, e os mecanismos de sinalização envolvidos. As alterações na síntese proteica sináptica depois da ativação do recetor TrkC será também investigada. 6. Investigar os efeitos da sinalização NT3-TrkC na dinâmica das espinhas dendríticas em culturas organotípicas do hipocampo. 		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como	Os resultados deste projeto vão esclarecer o papel da NT3 e do seu recetor TrkC na regulação da memória de medo, num		

<p>poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?</p>	<p>indivíduo saudável. A confirmar-se o envolvimento destas moléculas, elas poderão ser usadas como alvo em tratamentos (farmacológicos e não-farmacológicos) para a recuperação do medo patológico que afecta muitos indivíduos com doenças de ansiedade. Por conseguinte, terá um impacto na prevenção e/ou tratamento de todo um leque de doenças de ansiedade com medo alterado, como por exemplo o transtorno de pânico ou transtorno de stress pós-traumático.</p>
<p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p>	<p>- <i>Mus musculus</i> C57BL/6: estimamos que serão usados um total de 584 machos e 304 fêmeas ao longo de 5 anos.</p> <p>Animais a utilizar para recolha de tecidos após eutanásia (não abrangidos pelo Decreto-Lei 113/2013):</p> <p>- <i>Mus musculus</i> C57BL/6: 384 machos e 256 fêmeas</p> <p>- <i>Rattus norvegicus</i>: estimamos que serão usadas um total de 200 fêmeas grávidas em E18 e 200 animais (machos ou fêmeas) com 4 dias.</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 usados animais <i>sem alterações</i> e apenas se esperam alterações moderadas de curta duração resultantes da cirurgia (grau de severidade moderado).</p> <p>No final do projeto os animais serão humanamente eutanasiados seguindo a regulamentação da ORBEA/DGAV.</p>
<p>Aplicação dos 3Rs</p>	
<p>1.Replacement (Substituição)</p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>O medo é uma emoção presente em todos os organismos vertebrados que é essencial para a sobrevivência. Infelizmente, o uso de animais vivos é necessário para estudar esta emoção, o comportamento dos animais face a uma situação de medo e os seus componentes moleculares e celulares. Vamos usar murganhos (espécie <i>Mus musculus</i>) pela 1) pela relevância etológica da resposta comportamental, 2) pela proximidade genética com o Humano e 3) pelo uso alargado nesta área científica o que vai permitir comparações com outras experiências.</p> <p>Uma parte do trabalho será realizada com culturas celulares. Os animais são modelos únicos e insubstituíveis para a realização destes estudos já que não existem outros modelos celulares válidos. Linhas celulares de neurónios não podem ser usadas neste tipo de estudos já que não formam sinapses e, como tal, não é possível estudar os mecanismos de regulação sináptica a este nível. Será utilizado o número mínimo de animais que permita efetuar análise estatística dos resultados.</p>
<p>2.Reduction (Redução)</p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de</p>	<p>As experiências com os animais foram planeadas cautelosamente com base na minha vasta experiência profissional (em comportamento de ratinhos e com estes testes comportamentais, em particular), na revisão da literatura e no uso de métodos estatísticos apropriados, para garantir que o uso</p>

animais	<p>de um número mínimo de animais é suficiente para obter dados significativos estatisticamente.</p> <p>As culturas de neurónios (em monocamada e organotípicas) serão preparadas por investigadores treinados para o efeito de modo a assegurar a sua qualidade e reprodutibilidade e, consequentemente assegurar a utilização de um número mínimo de 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>Espécie animal: Neste projeto vamos usar animais <i>wild type</i> da espécie <i>Mus musculus</i>, machos e fêmeas, jovens adultos. O medo é uma emoção presente em todos os organismos vertebrados que é essencial para a sobrevivência. Assim, o uso da espécie <i>Mus musculus</i> é justificado 1) pela relevância etológica da resposta comportamental, 2) pela proximidade genética com o Humano e 3) pelo seu uso alargado na área científica desta questão, permitindo comparações com a literatura.</p> <p>Os animais serão sujeitos a um período de aclimatização de 10 dias antes do início do procedimento experimental, sendo feito o manuseamento dos animais de forma a reduzir o stress/desconforto durante o teste comportamental nos 3 últimos dias deste período.</p> <p>A cirurgia estereotáxica será realizada sob anestesia profunda e analgésico administrado 30 min antes da anestesia. Para controlar qualquer desconforto apresentado pelos animais após a cirurgia será administrada analgesia e fornecida comida húmida na cama para estimular a ingestão de alimento.</p> <p>Todos os animais serão vigiados regularmente (técnico do biotério e investigador). Caso os animais mostrem sinais evidentes de desconforto que não são aliviados com a administração de analgésicos ou outras técnicas de manejo, os animais serão humanamente eutanasiados seguindo a regulamentação da ORBEA/DGAV.</p>		
Para uso oficial			
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?		Não	Observações

Título do projeto	Manutenção de linhas de helmintas para diagnóstico e ensino
Duração do projeto	5 anos
Palavras-chave (máx. 5)	Schistosoma sp; cercária; diagnóstico; investigação; parasitologia

Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim	
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina	Sim	
	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	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)	Manter o ciclo de vida dos parasitas <i>Schistosoma sp</i> em laboratório, para obtenção de formas parasitárias usadas nas técnicas de rotina de diagnóstico laboratorial da schistosomose humana, ensino e investigação.		
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)?	Além de ser essencial para a rotina laboratorial no diagnóstico da schistosomose humana, o facto de manter o ciclo de vida do parasita em laboratório permite aumentar o conhecimento dos mecanismos desenvolvidos pelo parasita na infeção do hospedeiro, assim como a resposta do próprio hospedeiro, ao nível imunológico, celular. Por outro lado, torna-se possível o desenvolvimento de novos compostos envolvidos no controlo da parasitose quer nos humanos, quer nos animais.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	150 <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 severidade é ligeiro No final do projeto os animais serão eutanasiados.		
Aplicação dos 3Rs:			

1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Para manutenção do ciclo de vida do parasita, são sempre necessários 2 hospedeiros: um mamífero e um molusco de água doce. Não há outra forma alternativa para manter os parasitas em laboratório.		
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	O projeto é uma continuação de outro projeto que vem sendo desenvolvido no nosso laboratório há algumas décadas, e o número de animais utilizados resulta do mínimo indispensável para assegurar a manutenção do parasita.		
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 tem-se mostrado um bom modelo,) uma vez que apresenta uma boa suscetibilidade à infeção, fácil manuseamento e sem efeitos severos. A forma de infeção é bem tolerada pelos animais, sem causar stress ou dor. No final do projeto, os animais são eutanasiados com uma dose letal de uma substância anestésica, para diminuir o sofrimento do animal.		
Para uso oficial			
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?		Não	Observações

Título do projeto	ALISSA - Bases para uma alimentação saudável e sustentável para peixes de aquacultura		
Duração do projeto	3 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Sustentabilidade; Aminoácidos; Crescimento; Aquacultura.		
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)	1. Uma gama de suplementos para a alimentação de peixes, que permita fortificar os alimentos actuais, e que permitam uma performance optima. 2. Uma aplicação informática para simular o desempenho de peixes alimentados com diferentes formulações		
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) Melhora da eficiência de conversão do alimento 2) Redução de custos com a alimentação 3) Redução da carga azoto no efluente da piscicultura.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	3475 <i>Sparus aurata</i> e 3475 <i>Dicentrarchus labrax</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 dos animais será usada 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 utilizar 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	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 animais utilizar.		

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.	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.		
Para uso oficial			
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?		Não	Observações
Título do projeto	WELFISH - "Estabelecimento de biomarcadores de bem estar em peixe de aquacultura através de uma abordagem proteómica"		
Duração do projeto	3 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	"Bem-estar animal", "Biomarcadores de stress" e Aquacultura		
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 ⁽²⁾		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Identificação e caracterização de marcadores biológicos de bem-estar em dourada e robalo. Avaliar o efeito do stress na qualidade e segurança do produto na ótica do consumidor. Produção de um teste, com os marcadores biológicos validados, que permita a avaliação rápida e fiável do bem-estar dos peixes		

	de uma unidade de produção de pescado em cativeiro.
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 inferir sobre os indicadores de stress no pescado produzido em aquacultura. Garantir o bem-estar dos peixes de aquacultura é de extrema importância para a indústria aquícola e para a aceitação dos consumidores. O interesse dos consumidores relativamente à saúde e ao bem-estar de animais produzidos para alimentação humana tem vindo a crescer, associado ao estabelecimento de boas práticas de cultivo e redução da dependência do uso de medicamentos veterinários nas aquaculturas. Ao se identificarem marcadores de stress podem-se tomar medidas preventivas para salvaguardar o bem-estar dos indivíduos e evitar perdas de produção com repercussões na sustentabilidade socioeconómica da indústria aquícola.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	609 <i>Sparus aurata</i> e 609 <i>Dicentrarchus labrax</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?	Aplica-se um grau de severidade ligeiro aos ensaios de Densidade Alta e Hipoxia (procedimentos n° 2 e 4) uma vez que se utilizam densidades abaixo das densidades críticas para estas espécies (>70kg/m ³) e se utilizam níveis de oxigénio na água acima do P _{crit} . Aplica-se um grau moderado ao manuseamento repetitivo (procedimento n° 3) uma vez que se tenciona inferir sobre diferenças nos marcadores biológicos de stress agudo (exposição ao ar 2 x por semana) e crónico (exposição ao ar 4 e 5x por semana). No final dos ensaios de stress, parte dos indivíduos serão occisados para recolha de amostras para análises laboratoriais, os restantes serão avaliados durante o período de quarentena e recolocados para stock, o que implica um grau de severidade "Ligeira".
Aplicação dos 3Rs:	
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa utilizar 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 fisiológica dos animais em termos de resposta ao stress, simulando condições reais de produção, onde ocorrem frequentemente situações de stress. Ao se sujeitar os indivíduos a fatores de stress comuns nas rotinas de uma aquacultura, poder-se-á identificar marcadores biológicos de stress (proteínas ou genes), possibilitando o desenvolvimento de um teste rápido de deteção de estados de stress (quantidades mais altas de uma proteína específica, por exemplo), visando uma avaliação fiável do bem-estar dos peixes.
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. O design experimental envolve indivíduos colocados em tanques (e replicados) e estes tanques estão nas condições

	<p>experimentais. A unidade de análise são então os tanques "N=3 por ser o mínimo para análise estatística <i>a posteriori</i>". São utilizados o mínimo de peixes por replicado e por tratamento respeitando a densidade média de produção de 10kg/m³ em condições industriais e para respeitar a questão de um grupo social estável e equilibrado visto ambas serem espécies gregárias. Grupos mais reduzidos poderiam conduzir ao estabelecimento de hierarquia dentro do grupo aumentando o bias dos resultados. No caso de haver mortalidade o número de indivíduos utilizados nos ensaios permite também garantir ter o número final de peixes necessários para a recolha de amostras necessárias para os diferentes tipos de análises já referidas. O número de amostras recolhidas é entendido como o mínimo necessário para os diversos procedimentos de análise biológica (proteómica, genómica, FTIR, metabolómica).</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>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 demonstraram que ambas as espécies são sensíveis aos tratamentos a aplicar (Barton et al., 2005; Alves et al., 2010). Os protocolos de proteómica utilizados no nosso grupo de investigação para estas espécies estão também já igualmente otimizados.</p> <p>Os operadores envolvidos têm uma reconhecida experiência na produção destas espécies e cada um destes com currículo reconhecido nas diferentes áreas de investigação envolvidas neste projeto (Bem-estar animal e Proteómica). Todos os envolvidos estão certificados pela FELASA para manipular animais para fins experimentais e com experiência na condução de experiências com fins científicos.</p>		
Para uso oficial			
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?		Não	Observações

Título do projeto	O papel de iTAP, um novo modulador de ADAM17, na regulação da proliferação celular e no cancro		
Duração do projeto	3 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	iTAP, EGFR, cancro, ADAM17, iRhom		
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	Sim	
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados ⁽²⁾		Não
<p>Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)</p>	<p>Num futuro próximo prevê-se que metade da população irá desenvolver cancro. O prognóstico de cancro é frequentemente mau devido a muitos tumores resistirem aos tratamentos convencionais. O cancro pancreático é particularmente preocupante, pois a taxa de sobrevivência de 5 anos a este tipo de cancro é extremamente baixa (isto é, 7%), sendo assim incurável em quase todos os pacientes. Investigação biomédica fundamental que leva a novas descobertas de como o cancro pancreático e de outros tipos se desenvolvem é de extrema importância para o desenvolvimento de novos métodos de diagnóstico e tratamento.</p> <p>O nosso grupo de investigação identificou recentemente uma proteína denominada de iTAP. Os nossos estudos celulares e bioquímicos sugerem que iTAP tem um papel importante nas vias moleculares que levam à excessiva proliferação celular e, assim, ao desenvolvimento de cancro. Nesta proposta gostaríamos de explorar o papel de iTAP nos estádios iniciais do desenvolvimento de cancro pancreático. Propomos realizar estes estudos através do uso de modelos de murganho mutantes, que nos permitirão avaliar a iniciação do desenvolvimento cancerígeno num modelo que é extremamente relevante para a doença humana.</p> <p>Este trabalho irá no fim aumentar o conhecimento de como os cancros se desenvolvem.</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>O objetivo deste projeto de investigação fundamental consiste em melhorar o conhecimento sobre como a inflamação e a proliferação celular estão desreguladas de modo a colaborar para promover o desenvolvimento do cancro, particularmente o cancro pancreático.</p> <p>Esta informação irá contribuir para a nossa capacidade, no futuro, de diagnosticar, estratificar e tratar pacientes com cancro de forma mais efetiva.</p>		
<p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p>	<p>Iremos utilizar murganho de laboratório (<i>Mus musculus</i>) nos nossos modelos experimentais. Estimamos o uso neste projeto de aproximadamente 2040 murganhos.</p>		
<p>No contexto do que é proposto fazer-se aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau</p>	<p>A rederivação de novas linhas de murganho para a nossa colónia e o modelo de metaplasia pancreática mediada por pancreatite irá requerer gravidade moderada. Todos os outros procedimentos irão requerer gravidade ligeira. Os murganhos</p>		

<p>provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?</p>	<p>serão monitorizados diariamente de modo a verificar sinais de sofrimento indevido. Se algum animal for encontrado com sofrimento para além do expectável sob circunstâncias normais, o estudo será interrompido e o animal eutanasiado. No fim das experiências, os animais serão eutanasiados humanamente.</p>
<p>Aplicação dos 3Rs</p>	
<p>1.Replacement (Substituição)</p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Esta proposta advém de estudos celulares e bioquímicos extensivos que sugerem que iTAP é um importante regulador fisiológico da inflamação e proliferação celular <i>in vivo</i>. A próxima fase do projeto é testar se esta hipótese é correta num organismo mamífero como um todo (neste caso o murganho). Não existem abordagens alternativas que possam ser realizadas para entender como iTAP contribui para o desenvolvimento de cancro num organismo como um todo. Em particular, necessitamos de ser capazes de estudar num tecido complexo a interligação entre inflamação crónica e proliferação celular anormal, que têm um papel fulcral no desenvolvimento de tantos cancros mortais, incluindo o cancro pancreático. Os modelos <i>in vivo</i> propostos são essenciais para captar toda a complexidade de condições patológicas em mamíferos vivos. Os modelos de murganho propostos representam estudos amplamente reconhecidos e utilizados que mimetizam, o mais próximo possível, alterações patológicas clinicamente relevantes associadas ao desenvolvimento de cancro derivado de inflamação crónica, uma importante causa de morte por todo o Mundo.</p> <p>Esta fase experimental <i>in vivo</i> é essencial para validar os resultados obtidos nos estudos que realizámos <i>in vitro</i>.</p>
<p>2.Reduction (Redução)</p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Os estudos englobados neste projeto foram delineados e o número de murganhos calculado de modo a que os resultados obtidos possam atingir significância estatística com o uso do mínimo número de murganhos possível. As análises estatísticas, incluindo a análise de potência, irá ser realizada regularmente, para avaliar os resultados obtidos, para tentar minimizar o número de animais a ser usados dentro do possível. Os estudos não irão ser repetidos assim que a significância estatística for obtida. Adicionalmente, o nosso uso prévio extensivo de células assegura que apenas um número mínimo de murganhos irá ser requerido nestas experiências.</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>A utilização de murganhos como modelo para este projeto é um pré-requisito para compreender melhor a progressão da doença inflamatória e patologia associada, num modelo experimental que é o mais próximo possível à doença humana. Os murganhos irão ser sujeitos a um modelo que recapitula os estadios iniciais da tumorigénese pancreática derivada da inflamação crónica.</p> <p>O Instituto Gulbenkian de Ciência tem um Veterinário habilitado, que irá, à medida que for necessário, avaliar o bem-estar animal durante as experiências. Isto inclui o aparecimento de respiração anormal, pêlo áspero, postura encurvada, letargia, exsudados em volta dos olhos e/ou focinho, lesões</p>

	cutâneas, ou qualquer outra condição que interfira com a alimentação ou bebida. Se se verificar que o aparecimento destas alterações está associado a modificações genéticas ou aos modelos de doença propostos e se determinar que irá levar ao sofrimento para além do expectável sob condições normais, o murganho será eutanasiado humanamente.		
Para uso oficial			
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?		Não	Observações

Título do projeto	Teste para validação de um novo sensor de pressão sanguínea para animais de laboratório		
Duração do projeto	12 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	Pressão sanguínea; transdutores de pressão; cateteres de pressão; sensores de pressão; sistemas micro-electromecânico -MEMS		
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 ⁽²⁾		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Avaliação de um novo sensor para a medição da pressão (ex., incógnitas científicas ou necessidades sanguínea em animais de laboratório.		
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 a realização deste projeto, a tecnologia na área das que possam derivar deste projeto ciências cardiovasculares será aperfeiçoada, resultando numa maior qualidade das medições feitas, e por sua vez a uma melhoria dos resultados produzidos.		

Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	25 Rattus norvegicus (Wistar Han) macho.	
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?	Não recuperação No final do projeto os animais serão occidados.	
Aplicação dos 3Rs:		
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	O uso de experimentação animal ainda é imprescindível para o desenvolvimento do conhecimento biomédico, mais especificamente a melhoria de metodologias de avaliação fisiológica. Nesse sentido, propomos o desenvolvimento de um estudo piloto com o objetivo de testar um novo cateter de pressão de alta-fidelidade (equipamento estado-da-arte) para a medição de valores fisiológicos aplicáveis ao estudo da fisiopatologia cardiovascular e novas abordagens terapêuticas.	
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	O mesmo animal será submetido à inserção de um cateter por via artéria carótida, e outro por via artéria femoral, de forma a comparar as medições no mesmo animal, diminuindo assim o número de animais necessários. Após a recolha de dados hemodinâmicos será efetuada a colheita de órgãos para isolamento de cardiomiócitos, técnicas de biologia molecular e histologia.	
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 dados resultantes permitirão aperfeiçoar um novo cateter atualmente em desenvolvimento por empresa especializada para a obtenção de dados mais precisos e reprodutíveis, contribuindo em última instância para o desenvolvimento de protocolos experimentais mais que serão usados são os mais reprodutíveis e padronizados, contribuindo para o refinamento dos mesmos. O procedimento será efetuado sob plano anestésico e minimizar os custos de bem-estar analgésico profundo razão pela qual o animal não sentirá sofrimento, e com acompanhamento de monitorização peri-operatória dos sinais vitais.	
Para uso oficial		
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Não	Observações
Título do projeto	Curso avançado de Laparoscopia Colorretal	
Duração do projeto	12 meses	

Palavras-chave (máx. 5)			
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental		Não
	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	Sim	
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados ⁽²⁾		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Sendo o modelo suíno um dos que melhor simula as condições de anatomia, topografia e dimensões das estruturas a interencionar, torna a prática <i>in vivo</i> e o treino das complexas técnicas cirúrgicas e manuseio de instrumental via laparoscopia muito parecidas com as condições de campo que os cirurgiões gerais vão encontrar na realidade clínica.		
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)?	Redução das complicações cirúrgicas por melhoria do gesto cirúrgico.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Até 4 porcos por curso.		
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 animais serão mantidos num plano anestésico profundo. O procedimento é terminal.		
Aplicação dos 3Rs:			

1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Sendo o modelo suíno um dos que melhor simula as condições de anatomia, topografia e dimensões das estruturas a intervencionar, torna a prática in vivo e o treino das complexas técnicas cirúrgicas e manuseio instrumental via laparoscopia muito parecidas com as condições de campo que os cirurgiões gerais vão encontrar na realidade clínica.		
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Cada participante deve treinar, pelo menos, 1 enterectomia ou colectomia e anastomose intestinal por via laparoscópica.		
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.	Modelo suíno um dos que melhor simula as condições de anatomia, topografia e dimensões das estruturas a intervencionar, torna a prática in vivo e o treino das complexas técnicas cirúrgicas e manuseio de instrumental via laparoscopia muito parecidas com as condições de campo que os cirurgiões gerais vão encontrar na realidade gerais que serão tomadas para clínica.		
Para uso oficial			
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	<input type="checkbox"/> Não	Observações	
Título do projeto	Novo fármaco para Terapia Fotodinâmica do cancro de pele		
Duração do projeto	12 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	Melanoma; Luz51B; Terapia Fotodinâmica;		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
	Investigação translacional ou aplicada	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
	Uso regulamentar e produção de rotina	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	<input type="checkbox"/> Sim	<input type="checkbox"/> Não

	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados ⁽²⁾		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Identificação da dose eficaz de um novo fotossensibilizador, através de tempos de contacto ascendentes e escalonamento de dose, em terapia fotodinâmica do cancro de pele por administração tópica e por administração i.v. respetivamente. Será também estudada a sua biodistribuição e farmacocinética, fotossensibilidade cutânea e permeação transdérmica.		
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 sucesso do projeto levará a uma translação do conhecimento para os ensaios clínicos de uma nova molécula com um excelente índice fototerapêutico, e propriedades de lipofilicidade e peso molecular interessantes para o tratamento de lesões dermatológicas.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	<i>Mus musculus</i> , Murganhos C57BL/6J - 132 animais + <i>Swiss nude</i> - 18 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?	Inflamação local do membro posterior direito devido a necrose do tumor. Esta pode originar dor e dificuldade de locomoção nos 2 primeiros dias a seguir ao tratamento. O procedimento 1 está classificado como moderado, o procedimento 2 como ligeiro e o procedimento 3 como severo. Os animais serão occidados no final do projeto.		
Aplicação dos 3Rs:			
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Estudos <i>in vitro</i> e <i>ex vivo</i> foram previamente realizados para testar a eficácia deste fotossensibilizador, nos quais se observou que apresentava as características desejadas para ser utilizado em terapia fotodinâmica e na permeação através da pele. A caracterização deste composto só pode ser aprofundada recorrendo a um sistema multifuncional como os modelos animais de modo a perceber de forma integrada quais as melhores hipóteses para uma cura total em modelos com tumores.		
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Durante este estudo serão utilizados 8 animais por grupo nos ensaios de escalamento de doses por administração <i>i.v.</i> e 4 animais por grupo nos estudos de bio distribuição e farmacocinética, sendo este o número mínimo de animais que mantém uma diferença estatística significativa entre os diferentes grupos. Para os estudos de aplicação tópica serão utilizados 8 animais para garantir suficiente robustez estatística aos resultados alcançados. Nos procedimentos 4 e 5 será utilizada imagiologia de fluorescência que permita que o mesmo animal seja seguido durante diversos <i>timepoints</i> , diminuindo o número de animais a ser utilizado.		
3.Refinement (Refinamento)	Os murganhos C57BL/6J encontram-se amplamente descritos na literatura como os animais a utilizar para estudos de eficácia in		

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.	vivo de melanomas derivados de células B16F10. O procedimento é minimamente invasivo, no entanto a resposta ao tratamento poderá ser dolorosa, sendo aliviado através da administração de analgésico. Os animais serão seguidos diariamente e avaliado o seu bem-estar geral. Para os procedimentos 4 e 5 serão utilizados murganhos <i>Nude/Swiss</i> . Uma vez que o pelo confere um grau de “background” inespecífico, a falta de pelo característica desta estirpe torna estes animais mais adequados a procedimentos de imagiologia por fluorescência		
Para uso oficial			
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Sim		Observações

Título do projeto	Estudo do efeito protetor e da resposta imunológica contra a toxoplasmose murina conferido pela imunização intranasal com antígenos de <i>Toxoplasma gondii</i>		
Duração do projeto	5 anos; vacinação; mucosa; gravidez Investigação fundamental		
Palavras-chave (máx. 5)	<i>Toxoplasma gondii</i> ; vacinação; mucosa; gravidez		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim	
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
			Não
			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 ⁽²⁾		Não

<p>Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)</p>	<p>As experiências previstas neste projeto têm como objetivo:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Estabelecer e refinar uma estratégia de vacinação na mucosa capaz de induzir proteção contra a toxoplasmose murina; 2. Estudar a resposta imune celular e serológica associada a esta imunização; 3. Testar uma nova formulação de nano partículas na estratégia de imunização estabelecida em 1; 4. Testar a estratégia de vacinação previamente estabelecida na mucosa utilizando um modelo de estudo de gravidez.
<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>O principal benefício deste projeto seria a obtenção de uma forma patenteável e potencialmente comercializável de uma vacina que fosse eficaz na proteção contra a infeção causada por <i>T. gondii</i>. Uma vez que este parasita para além de infetar a população humana, constituindo uma zoonose prevalente em todo o mundo, também afeta porcos, ovelhas e cabras e é uma causa frequente de aborto em ovinos e caprinos. Há ainda que considerar a ausência atual de alternativas seguras e eficazes e a oportunidade de mercado para uma vacina contra a doença. O desenvolvimento de uma vacina é de extrema importância reduzindo o risco de desenvolvimento da patologia decorrente desta infeção não só a nível humano, mas também veterinário. Os resultados obtidos neste projeto serão determinantes na perspetiva clínica, nomeadamente no desenvolvimento de novas estratégias preventivas evitando o aborto e a transmissão congénita causados pela infeção com <i>T. gondii</i>.</p>
<p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p>	<p>506 Murganhos (<i>Mus musculus</i>)</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 incluem a aplicação na mucosa nasal de substâncias, cuja segurança foi já testada, sem que sejam esperados efeitos adversos. Também não se antevêm efeitos adversos detetáveis clinicamente da administração das nano partículas lipídicas (NLC) por via intranasal.</p> <p>Embora não se antecipando a necessidade de recurso a limites críticos (<i>humane endpoints</i>) para a maioria dos procedimentos, estes serão implementados como descrito que acontecerá aos animais no final na secção 5.</p> <p>O destino dos animais será a occisão por overdose de anestesia (isoflurano administrado por inalação), seguido de deslocamento cervical.</p>
<p>Aplicação dos 3Rs:</p>	

<p>1.Replacement (Substituição)</p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Não é possível testar a eficácia de uma vacina e caracterizar os mecanismos protetores que ela induz sem recorrer a experimentação in vivo. No entanto, estão previstos vários estudos in vitro que permitirão esclarecer alguns dos mecanismos de proteção e que resultarão na redução global do número de estudos in vivo.</p>		
<p>2.Reduction (Redução)</p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Estão previstos estudos <i>in vitro</i> na caracterização de efeitos imunológicos específicos da vacina que permitirão reduzir o número de estudos in vivo. Nomeadamente, o estudo das funções de linfócitos T e das funções dos anticorpos gerados pela vacinação recorrendo a culturas de macrófagos, células dendríticas e a linhas celulares. Dada a natureza dos estudos <i>in vitro</i>, a variabilidade pode ser reduzida, reduzindo consequentemente o número de animais a utilizar para obter resultados estatisticamente significativos. Além disso, o desenho experimental foi otimizado de forma a reduzir o número de animais em cada procedimento</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 murganhos Balb/c são um modelo utilizado para o estudo da toxoplasmose amplamente descrito na literatura internacional, no qual é possível reproduzir as características patológicas essenciais da infeção que ocorrem em humanos e ovinos. Não se prevêem danos significativos nos animais. No sentido de garantir o bem-estar do animal, os procedimentos serão efetuados por pessoal autorizado pela DGAV e as gaiolas terão enriquecimento ambiental. Embora não se prevendo a necessidade de recurso a <i>human endpoints</i> estes estão devidamente estabelecidos e determinarão o término das experiências. Para tal os animais serão devidamente monitorizados e ser-lhes-á fornecida fluido terapia sempre que percam 10% do seu peso corporal, ou serão eutanasiados se perderem mais do que 15% do peso corporal.</p>		
<p>Para uso oficial</p>			
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>		<p>Não</p>	<p>Observações</p>

Título do projeto	Doenças cognitivas como sinaptopatias: impacto de mutações humanas no gene CACNG2		
Duração do projeto	60meses		
Palavras-chave (máx. 5)	Esquizofrenia, stargazina, défice intelectual, CACNG2, mutação		
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
			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 ⁽²⁾	Sim	Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	<p>As doenças neuropsiquiátricas representam um dos maiores desafios médicos e sociais do século XXI, e são a principal causa mundial de anos de vida ajustados por incapacitação. As doenças mentais, associadas a baixa mortalidade mas alta morbidade, contribuem para uma larga fatia custo mundial de doença, o que é agravado pelo facto de não se conhecerem tratamentos eficazes para os principais sintomas de doença. Os avanços na prevenção e tratamento efetivos das doenças psiquiátricas têm sido dificultados pela elevada heterogeneidade entre indivíduos afetados, e pela compreensão ainda limitada da etiologia e patogénese destas doenças. No entanto, estudos recentes levaram a uma expansão na descoberta de genes de suscetibilidade associados a doenças mentais, e revelaram algumas vias biológicas envolvidas na patogénese destas doenças, nomeadamente vias associadas à regulação do desenvolvimento e da plasticidade das sinapses.</p> <p>Variantes genéticas de genes codificantes de proteínas sinápticas têm sido associadas a doenças neuropsiquiátricas, o que motiva o passo seguinte: a determinação do impacto biológico destas variantes, e da sua contribuição para os fenótipos de doença aos níveis molecular, celular, dos circuitos neuronais e do comportamento. Esta abordagem vai certamente</p>		

	facilitar o desenvolvimento de melhores terapias.
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)?	Propomos focar-nos em duas mutações humanas no gene CACNG2, uma identificada num doente não síndromico de défice intelectual, a outra recentemente encontrada por nós numa família com doentes esquizofrénicos. As nossas análises in vitro mostraram que estas mutações afetam a mobilidade superficial da stargazina, o tráfego de receptores do glutamato e a plasticidade sináptica. Estamos a gerar murganhos que expressam as variantes humanas de stargazina associadas a défice intelectual e esquizofrenia. Propomos determinar se estes murganhos apresentam fenótipos comportamentais, nos circuitos neuronais, morfológicos e sinápticos específicos para cada uma das patologias. Pretendemos ainda estudar de que modo o stress contribui para ou acelera o aparecimento de sintomas associados a estas doenças. Finalmente, propomos explorar uma nova estratégia terapêutica, que modula a função da stargazina, como potencial tratamento para aliviar os sintomas destas doenças cognitivas. Estes estudos contribuirão para compreender os mecanismos de doença associados a alterações na stargazina, elucidarão alterações comportamentais e funcionais associadas a défice intelectual e esquizofrenia, e prepararão o caminho para o desenvolvimento de novas estratégias terapêuticas.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	<ul style="list-style-type: none"> - Murganhos de colónias geneticamente alteradas - No: 1200 de acordo com o seguinte plano - Murganhos geneticamente alterados fêmeas Que espécies animais e números gestantes (E16-18)- 500 - Ratos Wistar adultos - 530 animais - Ratos Fêmeas Wistar, 16-18 dias de gestação: 500
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>Procedimento 1, 2 e 8 - procedimentos ligeiros.</p> <p>Procedimento 3 - moderado devido à realização de alguns testes comportamentais aversivos.</p> <p>Procedimento 4, 9 e 10 - severo devido à indução de stress imprevisível.</p> <p>Procedimento 5 - moderado devido à realização de alguns testes comportamentais aversivos e realização de múltiplas injeções intraperitoneais, também elas aversivas.</p> <p>Procedimento 6 - severo devido ao isolamento prolongado dos animais após cirurgia. O isolamento dos animais é necessário para evitar a perda do equipamento pela sua manipulação pelos companheiros da caixa. O isolamento social provoca stress elevado e pode despoletar sinais de depressão como</p>

	<p>estereotípias.</p> <p>Procedimento 7- moderado. O murganho poderá experienciar ansiedade severa durante a fase de indução do status epilepticus.</p>	
Aplicação dos 3Rs:		
<p>1.Replacement (Substituição)</p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>O estudo dos com comportamentos em causa, nomeadamente comportamentos sociais, só é passível de ser efetuado em espécies animais que exibam este tipo de comportamento, e.g. murganhos. Não existe atualmente nenhum sistema que permita a simulação destes comportamentos, não sendo portanto possível contornar o uso de animais para adereçar questões do foro comportamental e do funcionamento dos circuitos neuronais.</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 este estudo foi calculado através da utilização de "power analysis" tendo em conta a necessidade de significância estatística e outros estudos semelhantes realizados anteriormente.</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 procedimentos com intervenção animal moderada e severa encontram-se otimizados para minimizar o sofrimento animal. As esterotaxias e procedimentos invasivos serão efetuados sob anestesia profunda. Será administrada analgesia aos animais nas 48h do período pós-operatório sendo tido cuidados pós gerais que serão tomadas para cirúrgico como a colocação de comida húmida, monitorização de peso corporal e fluidoterapia sempre que necessário.</p>	
Para uso oficial		
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Sim	Observações