

## RESUMOS NÃO TÉCNICOS DE PROJETOS CIENTÍFICOS AUTORIZADOS EM 2020

Atualizado a 30/12/2020

<b>Título do projeto</b>	Estratégias inovadoras imunomoduladoras para uma melhor regeneração de tecido e cicatrização de feridas diabéticas	
<b>Duração do projeto</b>	60 Meses	
<b>Palavras-chave</b>	Diabetes; feridas crónicas; infeção; tratamento	
<b>Fim/objetivo do projeto</b> (De acordo com o Artigoº 5º do Decreto-Lei n.º 113/2013)	Investigação fundamental	Sim
	Investigação translacional ou aplicada	Sim
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descrição dos objetivos do projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	As feridas crónicas, especialmente as úlceras do pé diabético, afetam cerca de 15% dos diabéticos e, devido a falta de opções de tratamento eficientes são responsáveis por cerca de 80% das amputações nestes pacientes. O projeto pretende avaliar a atividade antimicrobiana de AMPs e a capacidade de promoção da cicatrização de inibidores de microRNAs, inibidores de PTP1B e aminoácidos essenciais em feridas diabéticas, na procura de novas e mais eficazes opções terapêuticas.	
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)?	Novas terapias para as feridas diabéticas crónicas e potencialmente outras feridas crónicas como úlceras de pressão ou varicosas.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	1348 Murganhos, dos quais 1284 de estirpe selvagem e 64 de estirpes geneticamente alteradas.	
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	Na realização das experiências é expectável um desconforto moderado a severo nos animais. No final dos ensaios, os animais serão eutanasiados, para recolha de tecidos, de modo a extrairmos o máximo de informação de cada experiência.	

aos animais no final da realização do projeto?	
<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<b>1.Replacement (Substituição)</b>  Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Os animais utilizados são os mais adequados aos objetivos do estudo, não podendo ser substituídos por outros métodos, pois os estudos sem animais (culturas de células) não são capazes de reproduzir as alterações encontradas na diabetes.
<b>2.Reduction (Redução)</b>  Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Foi utilizada uma ferramenta de análise de poder estatístico, para determinar o número de animais por ensaio, que mostrou já ser eficaz em ensaios anteriores realizados no grupo, pelo que nos dá a confiança de que utilizaremos o menor número possível de animais para a obtenção de dados estatisticamente significativos. Além disso, previamente aos ensaios <i>in vivo</i> , serão realizados testes <i>in vitro</i> para determinar as concentrações mais eficazes de algum dos compostos teste. Apenas posteriormente a isso serão realizados os ensaios <i>in vivo</i> .
<b>3.Refinement (Refinamento)</b>  Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	Os animais a serem utilizados são aqueles mais adequados aos objetivos do estudo, sendo utilizados em experiências semelhantes por outros grupos de investigação internacionais. Os animais serão adequadamente alojados no biotério da instituição, com adoção de estratégias de enriquecimento ambiental nas gaiolas. Todos os procedimentos cirúrgicos serão realizados sob o melhor protocolo anestésico. Os animais serão eutanasiados caso se atinja algum dos limites críticos humanos definidos no projeto.
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Sim

<b>Título do projeto</b>	Desenvolvimento de inovadoras fontes de proteína e de ómega-3 para alimentação de peixe, valorizando subprodutos locais	
<b>Duração do projeto</b>	24 Meses	
<b>Palavras-chave</b>	Processos biotecnológicos; Subprodutos agroindustriais; Omega3; Qualidade e segurança do pescado	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (De acordo com o Artigoº 5º do Decreto-Lei n.º 113/2013)	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
<b>Descrição dos objetivos do projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	O projeto SPO3 pretende produzir novas matérias-primas de valor acrescentado e ricas em omega3-HUFA, a partir de subprodutos agroindustriais locais, avaliando a sua eficácia para substituir as matérias-primas tradicionais (farinha e óleo de peixe e produtos agrícolas) nas rações de aquicultura e garantir os elevados critérios de qualidade e segurança do peixe.	
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	Este estudo espera desenvolver e potenciar a utilização de novos ingredientes sustentáveis para incorporação em dietas para aquicultura de espécies marinhas e promover o desenvolvimento saudável e sustentável do setor. Os dados provenientes deste projeto poderão ser extrapolados para outras espécies marinhas.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Robalo ( <i>Dicentrarchus labrax</i> ), aproximadamente 500 juvenis.	
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 durante os ensaios em condições consideradas ótimas para a espécie, no de reduzir o stress e maximizar a performance e bem-estar dos animais. Nas amostragens para recolha de material biológico os animais serão previamente mortos com sobredose de anestésico, pelo que se evita o sofrimento dos mesmos.	
<b>Aplicação dos 3Rs</b>		
<b>1.Replacement (Substituição)</b>  Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Sendo este um projeto de nutrição animal, envolve necessariamente a utilização de animais para testar a nível zootécnico a performance dos animais alimentados com as dietas experimentais, bem como a recolha de material biológico que permita avaliar o efeito, no animal, das dietas testadas.	

	<p>As dietas experimentais, têm como base as dietas comerciais atualmente em uso para esta espécie, e que serão fortificadas com ingredientes que visam aumentar a digestibilidade e o bem-estar do animal. Estas dietas têm sido usadas noutros ensaios zootécnicos e os bons resultados zootécnicos atestam a qualidade e adequabilidade das mesmas para esta espécie, garantindo o bem-estar dos peixes.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b></p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Serão realizados dois ensaios Zootécnicos, cada um testando 4 a 6 dietas experimentais, em triplicado. Cada réplica deverá utilizar cerca de 20 animais. O uso de triplicados é considerado o número mínimo pelas revistas da especialidade para o trabalho ter significado estatístico. 4 a 6 dietas é o número mínimo de combinações de fatores a variar que permitem obter informação relevante. 20 a 25 animais é a carga adequada a utilizar em cada tanque, para evitar stress nos peixes e permitir obter amostras necessárias ao estudo.</p> <p>Diferentes órgãos do mesmo animal serão utilizados para obter material biológico necessário ao projeto (fígado, sangue, intestino, musculatura), o que permite desde logo reduzir o número de animais utilizados globalmente e a utilização conjunta dos mesmos por diferentes grupos dentro do laboratório (nutricionistas, fisiologistas, microbiólogos, imunologistas, biólogos moleculares). Será amostrado o no mínimo de animais por tanque (3-6) que o permita.</p>
<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b></p> <p>Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>O robalo é uma espécie importante em aquacultura, pelo que os resultados obtidos no estudo podem ser diretamente transpostos para a indústria, no sentido de melhorar as dietas, saúde e performance dos animais.</p> <p>Os animais serão mantidos durante os ensaios em condições consideradas ótimas para a espécie, no sentido de reduzir o stress e maximizar a performance e bem-estar dos animais.</p>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>	<p>Não.</p>

<b>Título do projeto</b>	Influência das antocianinas extraídas de mirtilos cultivados em Portugal na conexão entre intestino e cérebro nas perturbações do espectro do autismo	
<b>Duração do projeto</b>	3 Anos	
<b>Palavras-chave</b>	espectro do autismo, microbiota intestinal, eixo intestino-cérebro, polifenóis	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (De acordo com o Artigoº 5º do Decreto-Lei n.º 113/2013)	Investigação fundamental	Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descrição dos objetivos do projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Este projeto tem como objetivos principais estudar os mecanismos bioquímicos subjacentes à comunicação “microbiota-intestino-cérebro” no contexto das Perturbações do Espectro do Autismo (PEA) e avaliar o potencial terapêutico de compostos polifenólicos de origem natural, extraídos de mirtilos de origem Portuguesa (mistura de antocianinas), no âmbito destas patologias. Estes compostos, em estudos anteriores, revelaram ser capazes de combater a inflamação intestinal crónica em modelos in vivo, e serão agora investigados em termos do seu potencial regulador do eixo intestino-cérebro.	
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 projeto apresentado pretende investigar os mecanismos associados à comunicação existente entre a microbiota intestinal/inflamação intestinal e o cérebro dos doentes autistas, prevendo-se que o conhecimento adquirido se possa vir a traduzir em novas abordagens clínicas, como a potencial utilização dos polifenóis obtidos a partir de mirtilos Portugueses, e na identificação de novos alvos terapêuticos para a prevenção/tratamento de doenças neurológicas que demonstrem ter correlação com alterações gastrointestinais, como é o caso das PEA.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Serão utilizados cerca de 418 murganhos BALB/c.	
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?	É possível ocorrerem ligeiras perturbações provocadas pela administração do VPA, nomeadamente, decaimento motor e cognitivo, perturbações gastrointestinais e desequilíbrio do sistema imune. Nos descendentes os testes comportamentais escolhidos podem provocar um aumento do stress dos animais por serem aversivos Os procedimentos estão classificados como Grau de severidade moderado. Todos os animais utilizados em procedimentos serão occisados no final. Os machos utilizados nos acasalamentos serão reutilizados ou utilizados para colheita de tecidos.	

<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<p><b>1.Replacement (Substituição)</b></p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Para alcançar os objetivos do projeto, nomeadamente escrutinar o eixo microbiota-intestino-cérebro no âmbito das PEA, é imperativo o uso de um sistema biológico, sendo necessário um organismo com flora intestinal. Os roedores são conhecidos como animais sociais e são muito utilizados para testes comportamentais do ponto de vista social e, de facto, problemas na interação social são a característica mais reconhecida em pessoas que sofrem de PEA, tornando-se assim razoável considerar estas espécies como bons modelos para a avaliação de diferentes características sociais no contexto de autismo.</p> <p>Em conclusão, consideramos não ser possível alcançar os objetivos do projeto através da utilização de métodos alternativos que não utilizem animais.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b></p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>A realização do ensaio preliminar destinado, não só para otimizar as condições experimentais e aferir o modelo PEA, como também para acertar o no de crias descendentes macho com comportamento “autism-like” obtidas neste modelo, permitirá reduzir o no total de fêmeas e machos a utilizar na experiência 2, mas garantindo um no adequado de crias macho para os estudos comportamentais.</p> <p>Nas duas experiências previstas, Experiência 1 e Experiência 2, o no mínimo total de animais requerido para acasalar, após “Redução”, será cerca de 66 [24 (Experiência 1) + 42 (Experiência 2)].</p> <p>O número total de descendentes previstos para as Experiências 1 e 2 é cerca de 176 [64 machos (Experiência 1) + 112 machos (Experiência 2)]. Será expectável obter o mesmo número de fêmeas descendentes.</p>
<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b></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>Irá ser utilizada a estirpe de murganho BALB/c já anteriormente utilizada no âmbito de estudos semelhantes aos que serão realizados no contexto deste projeto, nomeadamente, em estudos focados em alterações gastrointestinais em modelos animais de autismo com a exposição pré-natal a VPA. Este modelo será utilizado como modelo animal único e insubstituível de forma a estudar os efeitos antioxidantes e anti-inflamatórios de um grupo de compostos polifenólicos de origem natural após indução de PEA em recém-nascidos, através da exposição pré-natal a VPA.</p> <p>Em roedores, não está completamente descrita a severidade associada à exposição de VPA, no entanto serão selecionadas as doses experimentais mais utilizadas em estudos anteriores que produzam o efeito desejado (400-500 mg/kg).</p> <p>Após a administração deste composto, será efetuada uma estreita avaliação do bem-estar das fêmeas gestantes, que incluirá a pesagem diária dos animais. Não é esperada uma perda de peso neste modelo de PEA, no entanto, uma eventual perda de peso igual ou superior a 5% levará ao início imediato de contramedidas através da introdução de comida húmida e fluidoterapia. Sinais de dor como compressão da barriga contra o chão e arqueamento da coluna, perda de peso superiores a 10% serão</p>

	<p>considerados limites críticos finais sendo o animal eutanasiado.</p> <p>Alterações do comportamento dos descendentes, tais como comportamento inactivo e não responsivo a estímulos exteriores ou alterações neurológicas não compatíveis com PEA, e perdas de peso entre os 5% e 15% foram definidos como limites-críticos humanos.</p>
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Não

<b>Título do projeto</b>	Avatares de peixe-zebra para uma terapia personalizada	
<b>Duração do projeto</b>	5 Anos	
<b>Palavras-chave</b>	Peixe-zebra; cancro; medicina personalizada; quimioterapia	
<b>Fim/objetivo do projeto</b> (De acordo com o Artigoº 5º do Decreto-Lei n.º 113/2013)	Investigação fundamental	Sim
	Investigação translacional ou aplicada	Sim
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descrição dos objetivos do projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Este projeto tem como objectivo desenvolver/ validar um novo ensaio de medicina personalizada, permitindo determinar qual a terapia (-químio, -radio ou -imunoterapia) mais adequada para o paciente. Mas este ensaio também pode ser aplicado para estratificação de doentes em ensaios clínicos e como ferramenta para estudar mecanismos fundamentais do cancro.	
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>Com exceção de algumas terapias dirigidas com bio- marcadores, atualmente não existem métodos para prever quais os doentes que vão responder a uma determinada terapia anti-tumoral. Estes métodos preditivos são especialmente relevantes nas fases metastáticas, quando os protocolos de oncologia apresentam várias opções terapêuticas igualmente válidas. Como escolher o tratamento mais adequado para cada paciente? É com esta pergunta em mente que propomos este projeto translacional para desenvolver um novo teste para determinar o protocolo de quimio/radioterapia mais adequado a cada paciente. Este é um ensaio in vivo e em tempo útil para cada tumor individual que tem como objetivo ajudar os clínicos a escolher 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>Com exceção de algumas terapias dirigidas com bio- marcadores, atualmente não existem métodos para prever quais os doentes que vão responder a uma determinada terapia anti-tumoral. Estes métodos preditivos são especialmente relevantes nas fases metastáticas, quando os protocolos de oncologia apresentam várias opções terapêuticas igualmente válidas. Como escolher o tratamento mais adequado para cada paciente? É com esta pergunta em mente que propomos este projeto translacional para desenvolver um novo teste para determinar o protocolo de quimio/radioterapia mais adequado a cada paciente. Este é um ensaio in vivo e em tempo útil para cada tumor individual que tem como objetivo ajudar os clínicos a escolher o tratamento mais adequado a cada indivíduo, permitindo uma terapia mais eficaz e evitando a exposição dos doentes a toxicidades desnecessárias. O desenvolvimento de um teste preditivo de</p>	

	<p>químio/radio sensibilidade in vivo será crucial para melhorar as taxas de sucesso dos tratamentos oncológicos, contribuindo não só para uma melhoria real e imediata da qualidade de vida dos doentes, mas também na redução dos enormes custos associados.</p>
<p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p>	<p>O nosso ensaio baseia-se no transplante de células tumorais em larvas de peixe-zebra (<i>Danio rerio</i>) aos 2 dias pós- fertilização.</p> <p>Para avaliar proliferação, apoptose e tamanho tumoral, são precisas cerca de 20 xenógrafos por condição (x3 replicados), de forma a aplicar teste de Man-Whitney. Para experiências de quantificação do potencial astático, ~150 larvas são necessárias por condição, de modo a ter um Teste Fisher com confiança (<math>P &lt; 0.001</math>). Em 5 anos, estimamos usar ~320.000 larvas de alimentação autónoma.</p> <p>Para confirmação de alguns resultados através de xenógrafos de ratinho (<i>Mus musculus</i>), poderemos usar no máximo 192 animais em 5 anos.</p>
<p>No contexto do que é proposto fazer-se aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?</p>	<p>Os procedimentos não deverão causar mais do que stress No contexto do que é proposto fazer ligeiro às larvas de peixe-zebra. No final de realização das experiências, as larvas serão eutanasiadas segundo os métodos aprovados.</p>
<p><b>Aplicação dos 3Rs</b></p>	
<p><b>1.Replacement (Substituição)</b></p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Atualmente é ainda muito difícil cultivar amostras de tumores primários in vitro, tornando esses ensaios pouco informativos acerca do comportamento tumoral in vivo a respetiva sensibilidade a drogas.</p> <p>Os xenógrafos de peixe-zebra e larvas têm grandes vantagens, incluindo: baixo custo; claridade ótica em linhas que não possuem pigmentos (casper) e transgênicos de vasos endoteliais marcados com GFP (tgFl:GFP); possibilidade de seguir proliferação celular, migração, invasão, etc.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b></p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>O projeto utilizará principalmente larvas até 5-6 dias pós- fertilização. Estimamos usar ~ 1000 larvas/semana ao longo de 5 anos.</p> <p>Para caracterizar a progressão do tumor a longo prazo usaremos larvas no máximo até aos 20dpf, por “live imaging” ou imunofluorescência e microscopia confocal. Estimamos usar ~ 20 larvas de peixe-zebra 20dpf/ano.</p> <p>“Live imaging” de órgãos hematopoiéticos dos diferentes transgênicos para estudar o comportamento de células que contribuem para o microambiente tumoral. Estimamos usar ~ 20 larvas de peixe-zebra até aos 14dpf/ano.</p> <p>Também antecipamos o possível uso de xenógrafos de ratinhos para testar a conservação de mecanismos. Esta é uma preocupação atual dos revisores na submissão / revisão de manuscritos em revistas de alto impacto. No entanto, vamos usá-los apenas nas etapas finais de publicação, não como etapas exploratórias, reduzindo assim ao mínimo o número de animais utilizados, ~ 40 animais/ano.</p>

<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b></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 é escolhida por causa da possibilidade única de observar, de forma não invasiva, a atividade de células tumorais com alta resolução (single-cell resolution) ao longo do corpo transparente de um vertebrado. O uso de espécies diferentes exigiria o uso de animais adultos para adquirir os mesmos dados, mas não poderíamos alcançar o nosso objetivo final de aconselhar o tratamento, uma vez que a implantação de tumores em ratinhos pode levar vários meses.</p>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>	<p>Não</p>

<b>Título do projeto</b>	Establishment of Innovative Strategies for Central Nervous System Regenerative Medicine	
<b>Duração do projeto</b>	5 Anos	
<b>Palavras-chave</b>	Doença de Parkinson, secretoma, células estaminais mesenquimatosas, células estaminais pluripotente induzíveis, farmacologia	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (De acordo com o Artigoº 5º do Decreto-Lei n.º 113/2013)	Investigação fundamental	Sim
	Investigação translacional ou aplicada	Sim
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descrição dos objetivos do projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Este projeto, para além de poder recriar o modelo de doença de Parkinson em animal, os principais objetivos do presente trabalho visam igualmente 1) analisar e caracterizar molecularmente os mecanismos e as regiões envolvidas na ocorrência da doença de Parkinson na sua condição patológica comparativamente a um controlo saudável; 2) avaliar o efeito da aplicação células estaminais e do seu secretoma em modelo animal da doença de Parkinson no sentido avaliar o efeito desta estratégia como promotor/modulador de regeneração.	
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 projeto proposto visa colmatar uma necessidade clínica, que incide no tratamento da doença de Parkinson. Atualmente, a eficácia das estratégias terapêuticas (principalmente e maioritariamente) farmacológicas, apesar de promoverem melhorias nas dificuldades motoras, não conseguem impedir, contudo, a progressão da doença. Perante este fato, a necessidade no aumento das doses torna-se necessário, levando, na grande maioria dos casos ao aparecimento de efeitos secundários indesejados. Neste sentido, e com base na literatura consultada, o uso de células estaminais e do seu secretoma tem sido apontado como uma estratégia terapêutica promissora no tratamento da doença de Parkinson. Neste sentido, com o presente projeto pretende-se desenvolvimento de estratégias terapêuticas que permitam a reversão da patofisiologia da doença de Parkinson.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Rattus norvegicus, Wistar Han, 210.	
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	Severidade moderada devido à craniotomia necessária, no entanto os animais serão intervencionados sob o efeito de anestesia. No final de cada ensaio, os animais serão eutanasiados e será recolhido material para estudos moleculares e histológicos.	

realização do projeto?	
<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<b>1.Replacement (Substituição)</b> Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	O estudo será complementado com cultura de células no sentido de reduzir o número de animais. As culturas celulares podem dar informação complementar sobre o efeito de estratégias regenerativas a nível celular e molecular. Contudo, o efeito <i>in vivo</i> sobre o tecido só é possível avaliar num modelo animal.
<b>2.Reduction (Redução)</b> Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Toda e possível ação terapêutica da aplicação do secretoma de células estaminais será primeiramente avaliada <i>in vitro</i> em culturas celulares, no sentido de avaliar a sua ação na viabilidade e crescimento celular das mesmas. Só após validação destes dados, ser-nos-á possível passar para estudos <i>in vivo</i> para validar os dados obtidos nos estudos <i>in vitro</i> , o que nos permite reduzir o número de animais necessários para a realização do estudo.
<b>3.Refinement (Refinamento)</b> 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 rato tem vantagens importantes, entre as quais se destacam a semelhança dos mecanismos em relação ao ser humano e facilidade de manuseamento, o que o torna um bom candidato para o estudo de mecanismos pato-anatómicos e para estudar os resultados da intervenção terapêutica nesta patologia. Em adição a isto, os animais serão monitorizados regularmente para assegurar o seu bem-estar, por observação da sua condição física e comportamento. Todos os animais submetidos a cirurgias serão devidamente anestesiados. Analgésico e anti-inflamatório serão fornecidos pós-cirurgicamente. Perda de >15-20% do peso corporal ou outro sinal de mau estar (na aparência do pelo, feridas abertas/infetadas que não recuperam/cicatrizam, tumores), o animal será eutanasiado.
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Sim

<b>Título do projeto</b>	Explorando o interactoma carraça- hospedeiro para o desenvolvimento de vacinas.	
<b>Duração do projeto</b>	3 Anos	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Vacinas, carraças, proteómica, genómica funcional	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  <b>(de acordo com Artº 5º)</b>	Investigação fundamental	Sim
	Investigação translacional ou aplicada	Não
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	O objetivo deste projeto consiste no desenvolvimento de metodologias para a proteção de seres humanos e animais contra carraças e doenças associadas a carraças. O projeto tem como foco a avaliação da expressão diferenciada de proteínas entre duas populações de <i>Rhipicephalus bursa</i> não inoculada e inoculada com <i>Babesia ovis</i> e a análise funcional de genes e proteínas envolvidos na infeção e transmissão.	
<b>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)?</b>	Os resultados deste projeto terão um grande impacto no controlo de infestações de carraças e doenças associadas a carraças através da imunização de reservatórios (mamíferos) reduzindo a transmissão de agentes patogénicos em seres humanos e animais.	
<b>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</b>	<i>Oryctolagus cuniculus</i> : 23-25	
<b>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?</b>	<p>Não se esperam efeitos adversos, e o grau de severidade dos procedimentos é ligeiro.</p> <p>Os animais serão eutanasiados no final do ensaio para colheita de sangue total por punção cardíaca.</p>	

<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<p><b>1.Replacement (Substituição)</b></p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Não existem disponíveis modelos alternativos para produção de antigénios.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b></p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Os animais previstos serão utilizados em função do número antigénios a testar. Por cada antigénio serão usados 3 coelhos num máximo de 6 antigénios (N=18) mais um grupo controlo (N=3) e na manutenção da colónia de carraças (N=2-4).</p>
<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b></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>Serão utilizados métodos que proporcionem que provoquem o mínimo de dor, sofrimento ou angústia ao animal.</p>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>	<p>Não</p>

<b>Título do projeto</b>	Efeitos das alterações globais na ecologia, comportamento e fisiologia de peixes	
<b>Duração do projeto</b>	5 Anos	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Aquecimento dos oceanos; disponibilidade de alimento; microplásticos; plasticidade transgeracional	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  <b>(de acordo com Artº 5º)</b>	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;	Sim
	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
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	<p>Atualmente, os organismos marinhos enfrentam os impactos de numerosos stressores associados a mudanças globais, como aquecimento do oceano, altos níveis de dióxido de carbono, baixos níveis de oxigênio, baixa disponibilidade de alimentos, poluição por plásticos, entre outras formas de poluição que podem afetar a sobrevivência e a persistência de organismos no seu habitat natural. Estudos recentes mostram alguns efeitos dramáticos nas capacidades sensoriais, fisiológicas e comportamentais dos peixes, causados pelos efeitos de diferentes stressores antropogénicos. Os efeitos comportamentais incluem alterações nas respostas antipredador, preferências olfativas e auditivas, níveis de atividade, entre outros, enquanto os efeitos fisiológicos incluem taxas metabólicas alteradas. Essas mudanças podem ter sérias consequências na dinâmica populacional e na função dos ecossistemas marinhos e, portanto, são cruciais para aumentar a nossa compreensão sobre como as espécies marinhas serão afetadas pela pressão humana. Embora o conhecimento sobre os efeitos de vários stressores antropogénicos nos organismos marinhos esteja a aumentar, o potencial de adaptação ou aclimação ainda é amplamente desconhecido. Estudos recentes sugerem que as espécies marinhas podem acompanhar as rápidas mudanças ambientais através da evolução genética e / ou plasticidade fenotípica, sendo a última particularmente importante, pois podem fornecer tempo para a adaptação genética ocorrer a longo prazo. A plasticidade fenotípica pode ocorrer dentro de uma geração - plasticidade reversível e de desenvolvimento - ou através de gerações. O projeto atual visa avaliar a resposta de peixes marinhos a diferentes stressores antropogénicos e se as espécies serão capazes de lidar com esses stressores através da plasticidade do desenvolvimento e / ou transgeracional. A adaptação a ambientes em mudança e como os organismos responderão às mudanças globais são os principais tópicos de discussão na biologia contemporânea e este projeto contribuirá com descobertas novas e originais para o estudo da adaptação biológica e ecológica dos peixes marinhos às mudanças globais. Contaremos com</p>	

	várias espécies, com diferentes características e estratégias de história de vida, pois permitirá uma visão de como as espécies responderão a diferentes stressores, pois algumas podem mostrar alguns sinais de resiliência devido a características biológicas e ecológicas.
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 principais objetivos da investigação sobre mudanças climáticas é determinar como os efeitos individuais e interativos de múltiplos stressores atuam no desempenho / aptidão individual e se populações e comunidades individuais persistirão e serão mantidas em níveis semelhantes ou diferentes dos atuais. Um dos maiores resultados esperados do projeto atual é o conhecimento profundo do potencial dos peixes se adaptarem às rápidas mudanças globais. Compreender se as espécies serão capazes de lidar com as mudanças climáticas a longo prazo permitirá explorar sua resiliência, que é um passo importante para estabelecer limites sustentáveis para os recursos marinhos (por exemplo, produção de alimentos, extração de organismos vivos para aquários, produtos biológicos) e definir estratégias de conservação, a fim de preservar a biodiversidade marinha. Assim, espera-se que os resultados deste projeto melhorem muito a nossa capacidade de fazer previsões sobre os impactos futuros das mudanças globais nas espécies de peixes marinhos.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	<i>Gobiusculus flavescens</i> (256), <i>Pomatoschistus spp.</i> (360), <i>Atherina presbyter</i> (360), <i>Diplodus sargus</i> (183600), <i>Sparus aurata</i> (360), <i>Argyrosomus regius</i> (360), <i>Solea senegalensis</i> (360).
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 esperamos efeitos adversos no bem-estar dos peixes durante os procedimentos. Apenas efeitos leves são esperados. No final dos procedimentos, os peixes serão sacrificados de maneira humana com sobredosagem anestésica.
<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<b>1.Replacement (Substituição)</b> Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	O uso de peixes ao longo deste projeto é justificado pelo facto de não haver alternativas para os estudos funcionais que abordam as consequências desses stressores no desempenho dos peixes. Portanto, não é possível substituir estas experiências por modelos <i>in vitro</i> ou <i>in silico</i> .
<b>2.Reduction (Redução)</b> Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Este é um projeto altamente complexo, pois abordará os impactos de diferentes stressores nos diferentes estágios da vida dos peixes, de diferentes espécies. O uso de várias espécies, com diferentes características e estratégias da história de vida, permitirá uma compreensão de como as espécies responderão a diferentes stressores, pois algumas podem mostrar alguns sinais de resiliência devido a características biológicas e ecológicas. Todas as experiências foram projetadas para garantir que um número mínimo de peixes seja usado para obter resultados biologicamente significativos.
<b>3.Refinement (Refinamento)</b> Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o	Este projeto baseia-se em várias espécies, com diferentes características e estratégias de história de vida, o que permitirá uma compreensão de como as espécies responderão a diferentes stressores, pois algumas podem

<p>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>mostrar alguns sinais de resiliência devido a características biológicas e ecológicas.</p> <p>Para o procedimento 1 (efeitos dos stressores nos cuidados parentais e no sucesso reprodutivo dos peixes), a espécie <i>Gobiusculus flavescens</i> (caboz de duas pintas) é uma espécie modelo adequada pelos seguintes motivos: - é uma espécie pelágica pequena (3-6 cm), facilmente mantida em condições laboratoriais - é abundante nas nossas áreas costeiras e facilmente recolhida em mergulho - possui dimorfismo sexual, o que significa que podemos atribuir peixes como casais em tratamentos - vive apenas 1 ano, tornando-a uma espécie ideal para estudos transgeracionais - põe ovos bentônicos, com cuidado parental, permitindo determinar o sucesso reprodutivo (podemos contar o número de ovos, a área dos ovos)</p> <p>Para os procedimentos 2-4, larvas e juvenis serão usados: - <i>Atherina presbyter</i> (peixe rei) provou ser uma boa espécie para manter em condições de laboratório. As larvas são abundantes nas nossas áreas costeiras, facilmente recolhidas e facilmente mantidas em aquários, com baixas taxas de mortalidade sob condições de controlo. É uma espécie de alto significado ecológico, pois serve como presa de muitas outras espécies costeiras, incluindo espécies comerciais. - <i>Pomatoschistus spp.</i> (caboz). Também são abundantes nas nossas áreas costeiras, facilmente recolhidas e facilmente mantidas em aquários, com baixas taxas de mortalidade sob condições de controle. É uma espécie de alto significado ecológico, pois serve como presa de muitas outras espécies costeiras, incluindo espécies comerciais. - <i>Diplodus sargus</i> (sargo), <i>Sparus aurata</i> (dourada), <i>Argyrosomus regius</i> (corvina), <i>Solea senegalensis</i> (linguado) são todas as espécies que serão obtidas em instalações de aquicultura e são facilmente mantidas em condições de laboratório.</p> <p>Para garantir o bem-estar dos peixes durante o procedimento, os animais serão monitorizados quanto à angústia, desconforto e dor ao longo dos procedimentos experimentais. Os limites críticos para sinais de angústia e dor em peixes experimentais serão:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Não responder ao alimento por mais de 2 dias</li> <li>• Reduzido movimento opercular</li> <li>• Dificuldades para controlar a flutuabilidade e / ou manter o equilíbrio</li> <li>• Natação sistemática na superfície ou no fundo do tanque</li> <li>• Letárgico, sem reação a estímulos externos</li> <li>• O indivíduo não responde a comportamentos específicos em relação a si próprio</li> </ul>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>	<p>Não</p>

<b>Título do projeto</b>	<i>Unravelling the functional importance of amino acids in the fish neuroendocrine-immune network</i> ou “Desvendando a importância funcional dos aminoácidos na rede imunológica neuroendócrina de peixes”, tradução obtida através de tradutor on line	
<b>Duração do projeto</b>	60 Meses	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Aquacultura; imunomodulação; inflamação; resposta ao stresse; bem-estar de peixes	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (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	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
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	Uma gama de suplementos para a alimentação de peixes, que permita fortificar em AA os alimentos atuais, e que permita uma performance ótima, e a melhor resistência a patógenos, sobretudo em condições de stresse.	
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	Com este projeto pretende-se contribuir para a sustentabilidade económica e ambiental da aquacultura Europeia, através de: 1) Melhorar a eficiência de conversão do alimento 2) Reduzir os custos com a alimentação 3) Reduzir a carga de azoto no efluente da piscicultura 4) Reduzir o risco de ocorrência de patologias; O que irá contribuir para aumentar a eficácia do cultivo com padrões de bem-estar animal elevados não só em peixes como também em outros animais.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	6620 <i>Dicentrarchus labrax</i> 6660 <i>Sparus aurata</i> 3780 <i>Solea senegalensis</i> 3180 <i>Oncorhynchus mykiss</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	No ensaio de crescimento, o grau esperado de severidade será ligeiro. No final, parte serão usados em análises laboratoriais, os restantes serão sacrificados, o que implica um grau de severidade de Não Recuperação.	

realização do projeto?	
<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<b>1.Replacement (Substituição)</b> 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 em aquacultura.
<b>2.Reduction (Redução)</b> 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.
<b>3.Refinement (Refinamento)</b> 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 serem de fácil manutenção em condições laboratoriais. Estudos anteriores (conhecimento <i>in silico</i> ) demonstraram que todas as espécies são sensíveis aos tratamentos a aplicar.
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Não

<b>Título do projeto</b>	ATENA Ventilador Mecânico: Solução de baixo custo, fácil montagem e produção local para a COVID-19/ <i>ATENA medical Ventilator: A low-cost, easily assembled, locally produced solution for COVID-19</i>	
<b>Duração do projeto</b>	3 Anos	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	ATENA, ventilador, Síndrome Respiratório Agudo (SRA), Covid-19 (SARS-CoV-2)	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	Este projeto Atena - Open Source Medical Ventilator visa contribuir para colmatar a urgente necessidade em sistemas de ventilação invasivos e dessa forma contribuir para a redução significativa da mortalidade dos doentes com COVID-19 em Portugal e no mundo. Este projeto teve uma abordagem baseada na comunidade, visando o desenvolvimento, prototipagem, teste e industrialização descentralizada de um novo ventilador invasivo mecânico de baixo custo, fácil montagem e produção local.	
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 ventilador ATENA irá conferir benefícios terapêuticos a um doente que necessite de ventilação mecânica invasiva devido a insuficiência respiratória causada por SARS-CoV-2. Este equipamento destina-se a ser utilizado no atendimento inicial de doentes que necessitem de ventilação urgente, bem como em doentes com insuficiência respiratória aguda, que exigirão suporte ventilatório mecânico por alguns dias. Este novo equipamento permitirá ainda monitorizar, alertar e controlar todos os parâmetros essenciais que devem ser regulados durante a assistência a estes doentes, além de poder ser integrado na infraestrutura de gás hospitalar e ser compatível com os consumíveis médicos (sistemas respiratórios, filtros, tubos traqueais, etc.) que já estão em uso nos hospitais. O dano infligido aos animais será de grau ligeiro e não recuperação pelo que consideramos que o dano/benefício associado a este projeto justificam o recurso ao modelo animal proposto, sendo os benefícios prováveis resultantes deste projeto como sendo enormes e de grande interesse nacional e internacional perante a pandemia que a Europa e o Mundo atualmente enfrentam.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	<i>Porco (Suis scofa domesticus) 9 animais</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>Todos os procedimentos serão realizados com os animais sob o efeito de anestesia geral e não haverá recuperação da consciência. Não é portanto esperado que os animais tenham percepção de qualquer efeito adverso durante a realização dos procedimentos e não haverá recuperação da consciência após o término dos procedimentos-severidade não recuperação. A occisão será realizada com recurso à administração de <i>overdose</i> de barbitúricos com os animais ainda sob o efeito de anestesia geral.</p>
<p><b>Aplicação dos 3Rs</b></p>	
<p><b>1.Replacement (Substituição)</b></p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Para atingir os objetivos deste projeto, e para fundamentar o posterior progresso para estudos clínicos em humanos, é necessária a validação da adequabilidade, eficácia e segurança do sistema mecânico ATENA para a ventilação de modelos animais saudáveis e em animais que apresentem condições respiratórias que se aproximem o mais possível da patofisiologia respiratória grave desenvolvida em humanos infetados por SARS-CoV-2. Dada a complexa patofisiologia subjacente a esta condição respiratória, esta validação pré-clínica do ATENA apenas será possível com recurso a modelos animais.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b></p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Os animais usados neste projeto permitirão testar os sistemas integrados como um todo, simultaneamente validar individualmente cada elemento que o compõe, e aferir quais as otimizações necessárias para desenvolvimentos de novos protótipos. Ao realizar testes exigentes em animais irá permitir avançar com novas estratégias para o desenvolvimento deste equipamento. Prevemos que a utilização de 3 animais por grupo experimental permitirá aferir estes pontos. Serão utilizados portanto 9 animais em todo o projeto, distribuídos pelos 3 grupos experimentais: (1) animais saudáveis (sem doença respiratória); (2) animais com síndrome respiratória aguda primária (SRA); (3) animais com SRA secundária.</p>
<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b></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>Relativamente à espécie animal, serão utilizados suínos (<i>Sus scrofa domestica</i>) devido à: (a) Similaridade anatómico-fisiológica, incluindo do sistema respiratório e cardiovascular, em relação ao humano; (b) Conhecimento científico relevante sobre o sistema respiratório e cardiovascular desta espécie; (c) Facilidade na aplicação simultânea de diversos consumíveis médicos de monitorização intraoperatória atualmente utilizados em medicina humana no contexto de medicina intensiva; (d) Vasta literatura disponível que descreva e caracterize modelos de doença respiratória aguda nesta espécie; (e) Facilidade na colheita e extrapolação de dados para o contexto de medicina humana, incluindo a extrapolação de medidas corretivas adotadas durante a ventilação. Não será possível tirar partido das vantagens enumeradas utilizando espécies menos desenvolvidas filogeneticamente, pelo que consideramos o suíno como o modelo apropriado para atingir os objetivos deste projeto.</p> <p>Será aplicado o Refinamento adotando as seguintes medidas gerais para minimizar os custos de bem-estar durante anestesia dos animais: (i) Sedação prévia à indução anestésica; (ii) Fornecimento de analgesia intraoperatória; (iii) A temperatura corporal será mantida durante todo o procedimento anestésico com recurso a placa de aquecimento</p>

	específica; (iv) Será fornecida fluidoterapia durante todo o período anestésico; (v) Monitorização de parâmetros ventilatórios (Pressão plateau, pressão de Pico, pressão média na via aérea, compliance pulmonar, curva de fluxo/tempo, curva de volume/tempo, curva de pressão/tempo); (vi) Monitorização de parâmetros ventilatórios e realização de análises sanguíneas para avaliação de diversos parâmetros relevantes durante todo o período anestésico, incluindo indução do modelo SRA e utilização do ventilador; (vii) Avaliação cardiovascular durante todo o período anestésico, incluindo indução do modelo SRA e teste de ventilador; (viii) Os procedimentos serão realizados com os animais no plano anestésico adequado e não recuperarão da anestesia, sendo submetidos a occisão com <i>overdose</i> de barbitúricos ainda sob o efeito de anestesia geral.
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Não

<b>Título do projeto</b>	Identificação de novos tratamentos antimaláricos através de uma abordagem de "reposicionamento de fármacos" centrada no alvo	
<b>Duração do projeto</b>	36 Meses	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Malária, Descoberta de fármacos, Reposicionamento	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (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	Sim
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	<p>1. Avaliar a eficácia biológica e a segurança de anti maláricos contra estágios sanguíneos de <i>P. falciparum</i> e <i>P. vivax</i>, previamente identificados pelo nosso grupo através do reposicionamento</p> <p>2- Realizar um novo estudo de reposicionamento de fármacos para identificar anti maláricos bloqueadores de transmissão contra ambos parasitas.</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 evolução de parasitas de malária resistentes a fármacos e a escassez de novos tratamentos, salientam a necessidade de novos anti maláricos. No entanto, o desenvolvimento de um novo fármaco é um processo longo e dispendioso, devido aos gargalos nas fases de descoberta e desenvolvimento terapêutico. "Reposicionamento de fármacos", é a aplicação de compostos conhecidos e aprovados que são redirecionados para o tratamento de novas indicações e representa a transição mais rápida da bancada para o paciente, dado que o fármaco está prontamente disponível para ensaios clínicos. O nosso grupo usará este paradigma os seres humanos ou outros animais para identificar novos tratamentos contra a malária. Todos os compostos que demonstrarem ser seguros e eficazes, estarão prontamente disponíveis para ensaios clínicos em seres humanos. O projeto fará uso de investigação fundamental, combinada com investigação aplicada, com o intuito principal de sugerir novas terapias contra parasitas de malária, permitindo potencialmente a melhoria da saúde das populações afligidas pela doença.</p>	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Serão utilizados aproximadamente 600 indivíduos da espécie <i>Mus musculus</i>	
No contexto do que é proposto fazer-se aos animais, quais são	Os potenciais efeitos adversos estão relacionados com o desenvolvimento da infeção por <i>Plasmodium</i> , nomeadamente a perda	

<p>os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?</p>	<p>de peso, prostração e anemia. Os quais foram ponderados na avaliação dos limites críticos. O grau de severidade esperado é moderado. No final do projeto, os animais serão eutanasiados.</p>
<p><b>Aplicação dos 3Rs</b></p>	
<p><b>1.Replacement (Substituição)</b> Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Uma das fases cruciais e obrigatórias na descoberta de fármacos anti maláricos envolve a avaliação da sua eficácia biológica in vivo em testes pré-clínicos, que são obrigatoriamente levados a cabo em modelos animais, não existindo alternativas.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b> Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Foi calculado o número mínimo de animais a serem utilizados, tendo em conta valores padrão previamente publicados. Adicionalmente, os procedimentos experimentais propostos estão bem estabelecidos e serão levados a cabo por técnicos experientes da instituição de acolhimentos, permitindo assim reduzir a frequência de erros experimentais que poderiam conduzir a repetições desnecessárias.</p>
<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b> 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 escolhida (<i>Mus musculus</i>) é a espécie padrão tradicional para testes de atividade de compostos anti maláricos, dado não existirem ainda alternativas <i>in vitro</i> ou <i>ex-vivo</i> que permitam replicar os parâmetros de absorção, distribuição, metabolismo e excreção e eficácia de fármacos em malária. 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 e da redução de procedimentos experimentais para os mínimos possíveis.</p>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>	<p>Sim</p>

<b>Título do projeto</b>	WEAR – Fenotipagem de comportamento utilizando sensores de inércia	
<b>Duração do projeto</b>	60 Meses	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Sensores de inércia, Fenotipagem, Doença de Parkinson	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim
	Investigação translacional ou aplicada	Sim
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não	
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	Este estudo tem como objetivo estudar a utilização de sensores de inércia como ferramentas automáticas para classificação de comportamentos e distinção entre modelos animais de Doença de Parkinson e animais saudáveis.	
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	Este estudo procura estabelecer um método automático e fácil de implementar que permita classificar e quantificar o comportamento de animais que padecem de uma perturbação do movimento, mesmo nas fases mais precoces da doença. Este método tem o potencial de ser utilizado para promover novas descobertas relacionadas com a fisiopatologia das doenças do movimento e também para uma melhor quantificação do movimento e das suas alterações. Estes dois aspetos trariam uma importante inovação para as fases pré-clínicas do processo de descoberta de novos medicamentos para o tratamento das doenças de movimento, como por exemplo a doença de Parkinson.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Serão utilizados 180 ratinhos de laboratório ( <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?	<p>Trinta dos ratinhos utilizados têm uma mutação num gene que determina a perda progressiva de neurónios produtores de dopamina e por isso desenvolvem um quadro progressivo semelhante à doença de Parkinson em humanos. A severidade deste quadro progride ao longo do tempo de vida dos ratinhos. Neste estudo os ratinhos serão mantidos vivos até à 34ª semana. A partir da 30ª semana é expectável que apresentem um fenótipo motor severo com lentidão nos movimentos e menor frequência de movimentos, mas sem perda de peso significativa mantendo ainda uma boa condição geral.</p> <p>Trinta outros ratinhos vão ser submetidos a uma lesão num dos lados do cérebro, numa região chamada estriado. Essa lesão é provocada por uma toxina (6-OHDA) que provoca uma perda seletiva dos terminais de dopamina no estriado, determinando um fenótipo semelhante à doença</p>	

	de Parkinson nos humanos. Durante um período de 1-2 semanas após a injeção desta toxina os animais passam por um período com maiores efeitos adversos que podem ir de moderados a severos, dependendo do volume de toxina injetada. Ao fim deste período, os animais recuperam mantendo algumas deficiências motoras unilaterais, menos severas, que dependem da dose de toxina que foi injetada e que não progridem.
<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<b>1.Replacement (Substituição)</b>  Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Este projeto visa desenvolver ferramentas novas e sofisticadas para avaliar o comportamento animal e alterações produzidas por doenças que afetam os movimentos. Os ratinhos são mamíferos cujo sistema motor é semelhante aos humanos. Este tipo de questão não pode ser estudado <i>in vitro</i> ou em organismos mais simples. Uma das aplicações com maior potencial dos sensores de inércia é numa melhor quantificação do movimento que possa ser utilizada nas fases pré-clínicas do desenvolvimento de novos medicamentos. Este estudo utiliza uma das espécies animais que é utilizada mais frequentemente nas fases pré-clínicas.
<b>2.Reduction (Redução)</b>  Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	A nossa equipa reúne um grupo de pessoas experientes em experimentação animal o que nos permitirá minimizar erros que se possam traduzir na necessidade da utilização de mais animais. Por outro lado as medições dos sensores de inércia têm uma elevada resolução permitindo uma análise mais detalhada do comportamento o que poderá resultar num número menor de animais, por facilitar a deteção das diferenças entre os grupos em estudo (animais modelos de doença de Parkinson e animais controlo).
<b>3.Refinement (Refinamento)</b>  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.	Utilizamos neste projeto dois modelos animais de doença de Parkinson. Optámos por modelos de roedores pois pensamos que a tecnologia que está a ser aplicada neste estudo tem o potencial de inovar as fases pré-clínicas dos processos de descoberta de novos fármacos, e os ratinhos continuam a ser o mamífero mais utilizados nestas fases. Utilizamos dois modelos de doença de Parkinson que nos proporcionam vantagens diferentes, ambas necessárias para os objetivos do estudo. O modelo Mitopark apresenta uma perda progressiva dos neurónios que também se perdem na Doença de Parkinson, oferecendo um modelo mais semelhante ao humano. O modelo de lesão por 6- OHDA permite-nos controlar a quantidade de neurónios que degeneram de forma a podermos correlacionar a quantidade de neurónios perdidos com os dados colhidos pelos sensores de inércia. Os custos de bem-estar vão ser minimizados por uma vigilância frequente do bem-estar dos animais, com um controlo pós-cirúrgico muito apertado com medidas especiais para os ratinhos MitoPark (e.g. comida e gel de hidratação colocados ao nível do chão da gaiola) e para os ratinhos expostos a 6-OHDA (hidratação por via subcutânea, alimentação assistida e climatização com temperatura mais elevada para evitar hipotermia pós-cirurgia).
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Sim

<b>Título do projeto</b>	Nutrição e alimentação de peixes com interesse para a aquacultura: Valorização de ingredientes alternativos e alimentos funcionais	
<b>Duração do projeto</b>	60 Meses	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Aquacultura; Nutrição animal; ingredientes alternativos; ingredientes funcionais; estado imunológico; resistência a doenças	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim
	Investigação translacional ou aplicada	Sim
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	<p>Este projeto tem como objetivo a alimentação sustentável de peixes de aquacultura com recurso a alimentos alternativos aos subprodutos da pesca e a melhoria da saúde e bem-estar animal em relação com a utilização dos alimentos alternativos e as situações de stress em aquacultura intensiva.</p> <p>O projeto pretende ainda desenvolver uma nova plataforma de vacinação baseada no uso de vesículas de membrana externa de cianobactérias ou esporos de <i>Bacillus subtilis</i>.</p>	
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	Os potenciais benefícios deste projeto consistem em promover a aquacultura sustentável e a redução dos custos da produção de peixes, através da valorização de subprodutos agroindustriais, o uso de novos ingredientes (como a farinha e óleo de insetos) em dietas para aquacultura de espécies marinhas, a aplicação de processos biotecnológicos na valorização de ingredientes, o uso de alimentos funcionais que promovam a saúde e bem-estar dos animais, e potenciar o estado imunitário dos peixes, de modo a promover a sua saúde e resistência a doenças	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	<p>Dourada, Sparus aurata Robalo, Dicentrarchus labrax Corvina Argyrosomus regius Tilápia do Nilo, Oreochromis niloticus Peixe zebra, Danio rerio</p> <p>Prevê-se a realização de 5 ensaios por ano, envolvendo aproximadamente 2500 animais</p>	

<p>No contexto do que é proposto fazer-se aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?</p>	<p>Os animais serão mantidos durante os ensaios em condições consideradas ótimas para a espécie, no sentido de reduzir o stress e maximizar a performance e bem-estar dos animais. Nas amostragens para recolha de material biológico os animais serão previamente eutanasiados com sobredose de anestésico, pelo que se evita o sofrimento dos mesmos.</p> <p>Serão realizados ensaios de desafio bacteriano, que poderão infligir uma severidade moderada aos animais, pelo que se aplicará uma tabela com escala de observação de bem-estar animal. A sua realização justifica-se pela necessidade de aferir se os tratamentos nutricionais aplicados melhoram a resistência a doença ou a inflamação intestinal.</p>
<p><b>Aplicação dos 3Rs</b></p>	
<p><b>1.Replacement (Substituição)</b></p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Sendo este um projeto de nutrição animal, envolve necessariamente a utilização de animais para testar a nível zotécnico a performance dos animais alimentados com as dietas experimentais, bem como a recolha de material biológico que permita avaliar o efeito, no animal, das dietas testadas.</p> <p>Sempre que possível, contudo, serão realizados ensaios <i>in vitro</i> (de cultura de células), de modo a reduzir a utilização de animais.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b></p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Serão realizados ensaios zotécnicos, cada um testando 8 dietas experimentais, em triplicado. Cada réplica deverá utilizar cerca de 20 animais.</p> <p>O uso de triplicados é considerado o no mínimo pelas revistas da especialidade e pela nossa vasta experiência em experimentação com peixes, para o trabalho ter significado estatístico.</p> <p>Oito dietas é o no mínimo de combinações de fatores a variar que permitem obter informação relevante. A carga de 20-30 animais é a adequada a utilizar em cada tanque, para evitar stress nos peixes e permitir obter amostras necessárias ao estudo.</p> <p>Diferentes órgãos do mesmo animal serão utilizados para obter o material biológico necessário ao projeto (fígado, sangue, intestino, musculatura), o que permite desde logo reduzir o no de animais utilizados globalmente e a utilização conjunta dos mesmos por diferentes grupos dentro do laboratório (nutricionistas, fisiologistas, microbiologistas, imunologistas, biólogos moleculares). Será amostrado o no mínimo de animais por tanque (3-6) que permita a obtenção de quantidade suficiente de amostra para as diferentes análises.</p> <p>A utilização de duplicados com poucos peixes nos ensaios de <i>challenge</i> bacteriano permite também reduzir ao máximo o no de animais a utilizar.</p>
<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b></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 alvo são espécies importantes em aquacultura mediterrânica, pelo que os resultados obtidos no estudo podem ser diretamente transpostos para a indústria, no sentido de melhorar as dietas, saúde e performance dos animais.</p> <p>Os animais serão mantidos durante os ensaios em condições consideradas ótimas para as espécies, no sentido de reduzir o stress e maximizar a performance e bem-estar dos animais.</p>

O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Sim	
<b>Título do projeto</b>	Estudos de farmacocinética na descoberta e desenvolvimento de novos fármacos	
<b>Duração do projeto</b>	5 Anos	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Farmacocinética, absorção, distribuição, metabolismo, eliminação	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	O presente projeto pretende realizar estudos de farmacocinética de novas entidades químicas (NEQs).	
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)?	Estudos farmacocinéticos são importantes para avaliar o comportamento de NEQs após a sua administração, como por exemplo a extensão da sua absorção, distribuição, metabolismo e eliminação. Todos estes parâmetros são essenciais para a tomada de decisões no avanço do desenvolvimento de novos fármacos.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	É estimada a utilização de 500 animais (250 ratos e 250 murganhos) no decurso dos 5 anos deste projeto.	
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?	Espera-se que os procedimentos a efetuar neste projeto produzam poucos efeitos adversos no bem-estar animal. Na eventualidade de ocorrência de situações que comprometam o bem-estar dos animais, serão aplicados os critérios de limites críticos que levam à retirada do animal do estudo e à sua occisão imediata.	

<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<p><b>1.Replacement (Substituição)</b></p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Não é possível alcançar os objetivos do projeto através da utilização de métodos alternativos devido ao facto de ser necessário avaliar o comportamento de NEQs num sistema biológico complexo, nomeadamente através da utilização de animais para fins científicos.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b></p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>De salientar que apenas NEQs, com claros efeitos nos ensaios <i>in vitro</i> de metabolismo e farmacologia primária serão testados em experimentação animal. Nesta fase de investigação, contamos com o apoio no desenho experimental de um grupo de análise estatística (Gabinete de Bioinformática e Farmacometria) por forma a utilizar o menor número de animais possível. Apenas NEQs com propriedades farmacocinéticas / farmacodinâmicas favoráveis e claros efeitos biológicos em animais tipo selvagem serão utilizados neste projeto. A utilização de animais geneticamente alterados permite a obtenção de resultados científicos de elevada especificidade reduzindo em simultâneo os animais utilizados neste e noutros projetos.</p>
<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b></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 e os limites críticos definidos são os mais refinados no âmbito do presente projeto. Exemplos de refinamento incluem a utilização de enriquecimento ambiental no alojamento dos animais bem como a utilização dos devidos cuidados de maneio peri e pós-operatório que garantam o bem-estar animal, nomeadamente através das boas práticas de assepsia cirúrgica, anestésicas e analgésicas. De salientar, ainda, que o nosso laboratório segue procedimentos específicos para a experimentação animal. Estes procedimentos são executados por investigador autorizado pela DGAV e muito experiente na realização de procedimentos. Na eventualidade da ocorrência de situações que comprometam o bem-estar dos animais, foram estabelecidos limites críticos que levam à retirada do animal do estudo e à sua ocisão imediata. A fim de minimizar ao máximo os danos infringidos aos animais serão postos em prática todos os nossos conhecimentos relativos ao bem-estar animal. No âmbito dos modelos animais de que temos vindo a realizar ao longo dos últimos 20 anos, e para cada modelo, temos posto em prática a aplicação de uma listagem de <i>humane endpoints</i>, que tem vindo gradualmente a ser melhorada. Os investigadores tiveram em consideração a seleção e utilização de animais geneticamente alterados de linhagens existentes e sem problemas de bem-estar/sem fenótipo nocivo.</p>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>	<p>Sim</p>

<b>Título do projeto</b>	Descoberta e desenvolvimento de novos fármacos no tratamento da hipertensão arterial pulmonar	
<b>Duração do projeto</b>	5 Anos	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Hipertensão pulmonar	
<b>Fim/objetivo do projeto</b> (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	O presente projeto pretende desenvolver novas soluções terapêuticas no tratamento da hipertensão arterial pulmonar.	
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	A hipertensão arterial pulmonar (HP) é uma doença rara, crónica e progressiva caracterizada por um aumento da pressão arterial pulmonar. A progressão da HP resulta no comprometimento do funcionamento do ventrículo direito, que é ineficaz a bombear o sangue de forma adequada para a circulação pulmonar. Esta doença é definida por critérios hemodinâmicos e é uma disfunção comum a outras patologias, que em diversos casos é fatal (Rev Port Pneumol. 2010;16 Suppl 4:S7-S85). A HP afeta 15-50 indivíduos por cada milhão, sendo mais comum em mulheres do que em homens. Em Portugal, estima-se que mais de 300 doentes estejam atualmente em tratamento médico para esta patologia (www.aphp.pt, data de acesso: 2019.12.18).	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	É estimada a utilização de 320 animais (ratos) no decurso dos 5 anos deste projeto.	
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?	Por ser uma doença grave e, frequentemente, fatal, os procedimentos utilizados terão um impacto severo no bem-estar animal, tais como perda de peso, diminuição da mobilidade e morte. No final do projeto os animais serão occidados.	

<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<p><b>1.Replacement (Substituição)</b></p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Não é possível alcançar os objetivos do projeto através da utilização de métodos alternativos devido ao facto de ser necessário avaliar a eficácia e propriedades terapêuticas das novas entidades químicas num sistema biológico complexo, nomeadamente através da utilização de modelos de doença em animais. Os estudos em modelos animais de doença apenas serão considerados após o desenvolvimento de estudos <i>in vitro</i> e em linhas celulares relevantes para a avaliação do metabolismo e eficácia (farmacologia primária) das novas entidades químicas.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b></p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>De salientar que apenas novas entidades químicas (novas moléculas) com claros efeitos nos ensaios de metabolismo e farmacologia primária (<i>in vitro</i> e <i>in vivo</i>) serão testados em experimentação animal. A aplicação de técnicas de telemetria, permite uma redução muito significativa do número de animais a utilizar. Nesta fase de investigação, o projeto conta no apoio do desenho experimental de um grupo de análise estatística (Gabinete de Bioinformática e Farmacométrie) por forma a utilizar o menor número de animais possível.</p>
<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b></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 e os limites críticos definidos são os mais refinados no âmbito do presente projeto. Exemplos de refinamento incluem a utilização de enriquecimento ambiental no alojamento dos animais bem como a utilização dos devidos cuidados de manejo peri e pós-operatório que garantam o bem-estar animal, nomeadamente através das boas práticas de assepsia cirúrgica, anestésicas e analgésicas. A aplicação de técnicas de telemetria permite a captação de informação clínica em contínuo dos animais. De salientar, ainda, que o nosso laboratório segue procedimentos específicos para a experimentação animal. Estes procedimentos são executados por um investigador acreditado pela DGAV e muito experiente na realização do procedimento. Na eventualidade de serem atingidos os limites críticos estabelecidos, o animal é imediatamente retirado do estudo e occisado. A fim de minimizar ao máximo os danos infringidos aos animais serão postos em prática todos os nossos conhecimentos relativos ao bem-estar animal.</p>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>	<p>Sim</p>

<b>Título do projeto</b>	Avaliação de atividade antimalárica de compostos <i>in vivo</i>	
<b>Duração do projeto</b>	4 Anos	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Malária murina, atividade antimalárica	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	Obtenção de fármacos para tratamento da malária e o bloqueio de sua transmissão.	
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	A eliminação/erradicação da malária é um objetivo global subscrito pelas principais instituições internacionais como por exemplo a OMS. Com o presente projeto esperamos contribuir para identificar novas moléculas, que possam ser usados para controlo e eliminação da malária (objetivos a) e b)). Bem como aumentar o conhecimento do ciclo de vida do parasita, o que tem implicações positivas para além dos objetivos deste projeto.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	450 Murganhos ( <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?	<p>Infeções experimentais de murganhos com malária murina para estudos de transmissão do parasita: os modelos de malária murina utilizados são letais. No entanto o desenvolvimento da infeção é interrompido com a eutanásia dos animais para limitar o sofrimento:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>Por perda relevante de peso, apatia, incapacidade de se deslocar e pelo eriçado;</li> <li>Quando se atinge 5-10% de parasitémia</li> </ol>	

<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<p><b>1.Replacement (Substituição)</b></p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</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, e a única solução para ensaios in vivo de novas moléculas.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b></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><b>3.Refinement (Refinamento)</b></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 ser suscetível ao desenvolvimento e tolerar as infeções por malária murina.                      Os compostos a estudar resultam da seleção prévia in vitro de moléculas ativas contra parasitas da malária bem como de estudos de citotoxicidade in vitro em linhas celulares de mamífero.                      Apenas compostos com elevada atividade antimalárica (in vitro) e baixa ou negligenciável citotoxicidade in vitro contra células de mamífero são testados nos animais.                      O modelo está bem estabelecido de um modo global, estando os protocolos altamente testados e otimizados.                      A sua escolha para o estudo de novos fármacos antimaláricos resulta da impossibilidade de recorrer a outro modelo.</p>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>	<p>Sim</p>

<b>Título do projeto</b>	Novas formulações para edição genética no cérebro.	
<b>Duração do projeto</b>	5 Anos	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Nanoformulações; cérebro; edição genética; doenças neurológicas	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim
	Investigação translacional ou aplicada	Sim
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	<p>Uma das maiores limitações na indústria farmacêutica diz respeito a medicamentos para o tratamento de doenças do sistema nervoso central (SNC). A grande maioria dos fármacos não consegue ultrapassar a barreira hematoencefálica (pois funciona como interface dinâmica que permite controlar o fluxo de substâncias entre o sangue e o sistema nervoso central) e assim, exercer a sua atividade. O uso de nanoformulações tem surgido recentemente como uma alternativa eficaz e versátil para a entrega de biomoléculas no cérebro. A experimentação animal englobada neste estudo pretende avaliar plataformas baseadas em nanoformulações com diferentes propriedades físico-químicas para a entrega de compostos no cérebro. O objetivo final é identificar formulações que consigam atravessar mais facilmente a barreira hematoencefálica e libertar fármacos para o tratamento de doenças neurológicas. Outro desafio na entrega de fármacos no SNC prende-se com a capacidade de entender as funções celulares no sistema nervoso. Por esta razão, será necessário realizar investigação que permita estudar a entrega de nanoformulações acopladas de sistemas para edição genética. É também relevante o uso de animais transgénicos para a expressão de proteínas fluorescentes que reportem estes processos de edição genética e permitam identificar o tropismo destes processos mediante o tipo e função celular.</p> <p>Com base no acima exposto, é importante investigar nanoformulações carregadas de sistemas de edição genética. O objetivo final é induzir um processo de edição genética, alcançado pela administração destas nanoformulações que consigam atravessar mais facilmente a barreira hematoencefálica e libertar cargas com potencial terapêutico para e tratamento de doenças do SNC.</p> <p>Os objetivos que se pretendem atingir são: i) avaliar a funcionalidade das nossas plataformas como sistemas de entrega; ii) avaliar as principais diferenças dos diferentes tipos de nanoformulações (sintéticas e biológicas) como sistemas de entrega; iii) avaliar o potencial da penetração da luz na ativação das nanoformulações no cérebro dos animais; iv) discriminar o impacto das diferentes</p>	

	<p>nanoformulações administradas através de diferentes vias de administração (nasal, intra-arterial, intravenosa e estereotáxica); v) compreender o impacto das nanoformulações na entrega de biomoléculas para edição genética em modelo animal transgénico; Vi) validar o impacto funcional da edição genética no cérebro.</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>Nos últimos anos, doenças do foro neurológico têm aumentado consideravelmente, muito devido ao envelhecimento da população. Doenças como a Alzheimer, Parkinson e AVC têm uma elevada prevalência na população representando um custo anual superior a 50 mil milhões de dólares, criando a necessidade de desenvolver terapias que possam melhorar a patologia ou até levar à recuperação total do paciente. Na literatura, tem sido demonstrado que nanoformulações, tais como nanopartículas inorgânicas ou nanopartículas biológicas/naturais são capazes de entregar bio-moléculas com potencial terapêutico.</p> <p>Os principais benefícios com este trabalho são:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Desenvolvimento de nanoformulações capazes de atravessar a barreira hematoencefálica, que tenham uma maior acumulação no cérebro, e sejam capazes de libertar biomoléculas ao nível do SNC capazes de exercer um efeito terapêutico;</li> <li>- Desenvolvimento de nanoformulações que atravessem a barreira hematoencefálica e libertem biomoléculas por ação da luz;</li> <li>- Desenvolvimento de nanoformulações capazes de libertar biomoléculas em regiões específicas do cérebro recorrendo a diferentes vias de administração, e promovam uma maior edição genética através do aparecimento de células cerebrais fluorescentes.</li> </ul>
<p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p>	<p>Os animais a serem utilizados são 180 murganhos com fenótipo selvagem e 444 murganhos geneticamente alterados sem fenótipo nocivo.</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>Dor/Desconforto originado pelos procedimentos cirúrgicos. Os testes de comportamento podem causar um ligeiro aumento de stress nos animais. A separação dos animais após cirurgia pode afetar o bem-estar pelo que será reduzida ao máximo. Todos animais serão occidados no término da experiência.</p>
<p><b>Aplicação dos 3Rs</b></p>	
<p><b>1.Replacement (Substituição)</b></p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Todas as formulações que serão testadas <i>in vivo</i> serão avaliadas em modelos <i>in vitro</i>. Numa primeira fase as formulações serão avaliadas em culturas primárias e posteriormente num modelo de barreira desenvolvido no grupo. Apenas as formulações com melhores resultados serão avaliadas <i>in vivo</i>. O modelo animal será necessário para: (i) validar os resultados <i>in vitro</i> obtidos (ii) monitorizar a distribuição das nanoformulações pelos vários órgãos do animal e (iii) avaliar o efeito terapêutico das bio-moléculas entregues usando as nanoformulações.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b></p>	<p>Embora tenhamos testado várias concentrações de nanoformulações <i>in vitro</i>, será necessário fazer o respetivo acerto ao sistema <i>in vivo</i>.</p>

<p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Para isso utilizamos um conjunto de animais em ensaios preliminares para avaliar que concentrações iniciais serão necessárias para que se ultrapasse o limiar de deteção dos equipamentos (ICP-MS e IVIS), já que esperamos que a quantidade de nanoformulações a atingir o cérebro dos animais seja baixa, estando muito próximo do nível mínimo de deteção.</p> <p>Assim reduziremos o número de animais por grupo experimental posterior.</p> <p>Dos animais utilizados, iremos recolher todos os órgãos para podermos fazer a caracterização, no mesmo animal, do targeting para o cérebro, bem com a biodistribuição das nanoformulações.</p>
<p><b>3. Refinement (Refinamento)</b></p> <p>Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>Para minimizar o stress de manuseamento dos animais, a administração das nanoformulações será feita sob anestesia volátil, baseada em protocolos já descritos na literatura. Os procedimentos cirúrgicos serão precedidos pela administração de analgésicos e anti-inflamatórios que permitirão um recobro com um menor grau de alteração do animal.</p> <p>Será administrada comida húmida e fluidoterapia sempre que o animal apresente perda de peso de 5-10% e nas 48h a seguir às cirurgias.</p>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>	<p>Sim</p>

<b>Título do projeto</b>	Estudo do padrão de degradação do ARN e das alterações de parâmetros bioquímicos para a estimativa do intervalo <i>postmortem</i> . Influência da idade e da temperatura.	
<b>Duração do projeto</b>	5 Anos	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Intervalo <i>postmortem</i> ; degradação bioquímica; temperatura ambiental; degradação de ARN	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (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	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	<p>Com este projeto pretende-se:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Explorar a influência de alguns parâmetros como a causa da morte, a idade no momento da morte e as condições de armazenamento do corpo na estimativa do intervalo <i>postmortem</i>;</li> <li>- Desenvolver leis matemáticas descritivas para serem rotineiramente usadas por especialistas forenses em estimativas válidas e confiáveis do intervalo <i>postmortem</i>;</li> <li>- Aplicar representativamente a amostragem e os testes definidos a distintos tecidos humanos considerando várias causas de morte.</li> </ul> <p>No geral, esta proposta permitirá o desenvolvimento de uma ferramenta alternativa para a determinação precisa do intervalo <i>postmortem</i>.</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)?	O progresso científico que pretendemos alcançar nesta área da medicina implica que se recorra a procedimentos de manuseamento animal que não induzem qualquer sofrimento, dor ou angústia aos animais usados.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Ratazanas Wistar Han (90 animais/ano).	

<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>Não são esperados efeitos adversos. Os animais são apenas sujeitos a uma anestesia profunda para que o sofrimento ou angústia sejam mínimos no momento da colheita terminal de sangue e posterior morte. As carcaças dos animais serão entregues a uma empresa responsável pela sua eliminação.</p>
<p><b>Aplicação dos 3Rs</b></p>	
<p><b>1.Replacement (Substituição)</b></p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Com o presente trabalho pretende-se observar e relacionar a variação das concentrações de compostos orgânicos, proteínas e enzimas em diferentes órgãos e tecidos e a degradação do ARN nos mesmos com o intervalo postmortem. A mimetização, sujeita ao mínimo de <i>bias</i> possível, das condições a que se encontram os órgãos na hora da morte só é possível com a aplicação de técnicas de eutanásia e colheita dos mesmos, programadas no tempo e no espaço. Por <i>bias</i> entenda-se todos os métodos de conservação e armazenamentos a que as técnicas <i>in vitro</i> sujeitam as amostras em estudo. Por outro lado, este projeto tem como base fulcral a dependência da variação dos tempos postmortem para a obtenção de resultados, o que exige o total controlo do momento em que os órgãos deixam de pertencer a um organismo vivo. O estudo exploratório dos parâmetros bioquímicos e de degradação do RNA num contexto postmortem requer a utilização de um modelo animal que permita a sua observação física e que seja extrapolável para a espécie humana.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b></p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>A esquematização das variáveis que se pretende estudar será cautelosa de forma a ser utilizado o menor número possível de animais que garanta a significância estatística dos resultados. A utilização de ratos Wistar Han possibilita também a redução do número de animais dada a dimensão das amostras biológicas que se consegue extrair dos mesmos. Os ratos Wistar Han usados nos grupos controlo de outras experiências associadas ao biotério do ICBAS animais UP, cujas características morfológicas e fisiológicas sejam idênticas às dos animais deste estudo, poderão ser também uma fonte de obtenção de material biológico para o fim a que nos propomos, de forma a reduzir o número de animais a serem usados.</p>
<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b></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 dimensão das amostras provenientes de ratos Wistar Han possibilita a redução do número de animais utilizados e prevê-se que permita a extrapolação dos resultados para o ser humano. Os ratos estarão em quarentena durante 7 dias no biotério, que possui ambiente climatizado, com temperatura, humidade relativa, renovação de ar e pressão controladas e a técnica de eutanásia prevista foi selecionada no sentido de causar o menor sofrimento possível ao animal: todos os animais serão profundamente anestesiados com uma mistura de cetamina/xilazina (i.p.) antes da abertura da cavidade abdominal.</p>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>	<p>Não</p>

<b>Título do projeto</b>	SYSVENT: um protótipo para ventilar doentes em Cuidados Intensivos	
<b>Duração do projeto</b>	1 Ano	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Ventilador, UCI, teste animal	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Não
	Investigação translacional ou aplicada	Não
	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	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	<p>1. Avaliação da resposta fisiológica à ventilação com o equipamento em causa nos modos Volume-Controlado, Pressão-Controlada e Pressão-Assistida.</p> <p>2. Avaliação da segurança do equipamento.</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)?	O desenvolvimento de um equipamento de conceção e produção nacional, e a demonstração da sua segurança e eficácia no suporte ventilatório de doentes críticos, constitui um avanço inestimável no tratamento de situações de insuficiência respiratória, nomeadamente em períodos de pandemia em que os equipamentos escasseiam. Os testes animais são fundamentais como investigação prévia a um ensaio clínico em humanos.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Até 5 animais da espécie suína.	
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 será ligeiro a moderado e os efeitos adversos no bem-estar animal serão reduzidos, estando o animal sob anestesia geral durante todo o período de experimentação. Após a realização do projeto o animal será sujeito a occisão sob anestesia geral, com administração intravenosa de pentobarbital de sódio.	

Aplicação dos 3Rs		
<p><b>1.Replacement (Substituição)</b></p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>A oportunidade de, através destes ensaios em animais, garantir eficácia fisiológica e segurança garante 2 objetivos fundamentais:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Facilita o processo de autorização de ensaios clínicos em humanos pelas entidades competentes</li> <li>2. Minimiza o risco de efeitos adversos associado à utilização do ventilador em contexto clínico</li> </ol>	
<p><b>2.Reduction (Redução)</b></p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Serão apenas utilizados os animais estritamente necessários (até 5) para que sejam atingidos os objetivos do estudo.</p>	
<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b></p> <p>Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>O porco é considerado modelo do sistema respiratório humano. Durante o período de 10 dias prévio ao estudo, o animal será adaptado às condições do local e aos investigadores, o ritmo circadiano será mantido fazendo uso de ciclos escuros e claros alternados de 12h de duração cada. O animal terá livre acesso à água e será alimentado duas vezes por dia com uma dieta padrão. Durante todo o período de experimentação será submetido a anestesia geral com sedação e analgesia considerada adequada para garantir o seu bem estar.</p>	
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Não	
Título do projeto	Descoberta e desenvolvimento de novos fármacos no tratamento de doenças cardiovasculares.	
Duração do projeto	5 Anos	
Palavras-chave (máx. 5)	Hipertensão arterial, Insuficiência cardíaca, Hipertensão pulmonar	
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não

	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	As doenças cardiovasculares são responsáveis por cerca de 17 milhões de mortes por ano em todo o mundo, o que representa aproximadamente um terço do número total de óbitos (Lancet 2012;380:2224-60). As doenças cardiovasculares são a principal causa de mortalidade em Portugal, tal como se verifica em muitos países ocidentais, sendo considerada, no entanto, das mais elevadas da Europa e do mundo (Programa nacional de prevenção e controlo das doenças cardiovasculares, Direção Geral da Saúde, 2006).	
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 presente projeto pretende desenvolver novas soluções terapêuticas no tratamento das doenças cardiovasculares, nomeadamente na insuficiência cardíaca, hipertensão arterial e humanos ou outros animais hipertensão pulmonar.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	É estimada a utilização de 2500 animais (2100 números aproximados de ratos e 400 murganhos) no decurso dos 5 anos deste projeto.	
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?	Espera-se que os procedimentos a efetuar neste projeto produzam poucos efeitos adversos no bem-estar animal. Na eventualidade de ocorrência de situações que comprometam o bem-estar dos animais, serão aplicados os critérios de limites críticos (human endpoints) que levam à retirada do animal do estudo e à sua occisão imediata.	
<b>Aplicação dos 3Rs</b>		
<b>1.Replacement (Substituição)</b> Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Não é possível alcançar os objetivos do projeto através da utilização de métodos alternativos devido ao facto de ser necessário avaliar a eficácia, metabolismo, toxicidade e propriedades terapêuticas das novas entidades químicas num sistema biológico complexo, nomeadamente através da utilização de animais para fins científicos. Os estudos em animais apenas serão considerados após o desenvolvimento de estudos animais in vitro e em linhas celulares relevantes para a avaliação do metabolismo e eficácia (farmacologia primária) das novas entidades químicas.	
<b>2.Reduction (Redução)</b> Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	De salientar que apenas novas entidades químicas (novas moléculas) com claros efeitos nos ensaios in vitro de metabolismo e farmacologia primária serão testados em experimentação animal. Nesta fase de investigação, o projeto conta no apoio do desenho experimental de um grupo de análise estatística (Gabinete de Bioinformática e	

	Farmacometria) por forma a utilizar o menor numero de animais possível.
<p><b>3. Refinement (Refinamento)</b></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 e os limites críticos definidos são os mais refinados no âmbito do presente projeto. Exemplos de refinamento incluem a utilização de enriquecimento ambiental no alojamento dos animais bem como a utilização dos devidos cuidados de manejo peri e pós-operatório que garantam o bem-estar animal, nomeadamente através das boas práticas de assepsia cirúrgica, anestésicas e analgésicas. De salientar, ainda, que o nosso laboratório segue procedimentos específicos para a espécie e a experimentação animal. Estes procedimentos são executados por um investigador acreditado pela DGAV e muito experiente na realização do procedimento. Na eventualidade da ocorrência de situações que comprometam o bem-estar dos animais foram estabelecidos limites críticos que levam à retirada do animal do estudo e à sua occisão imediata. A fim de minimizar ao máximo os danos infringidos aos animais serão postos em prática todos os nossos conhecimentos relativos ao bem-estar animal. No âmbito dos modelos animais de que temos vindo a ealizar ao longo dos últimos 20 anos, e para cada modelo, temos posto em prática a aplicação de uma listagem de human endpoints, que tem vindo gradualmente a ser melhorada.</p>
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Sim

<b>Título do projeto</b>	Desenvolvimento de um nanocomplexo de ácido hialurónico-Anfotericina B para o direcionamento e tratamento de Leishmaniose	
<b>Duração do projeto</b>	2 Anos	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Leishmaniose, nanocomplexo de Ácido Hialurónico, anfotericina B, toxicidade sistémica, tratamento de leishmaniose visceral e/ou cutânea	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim
	Investigação translacional ou aplicada	Sim
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	Avaliar a resposta biológica do organismo vivo ao material em investigação (nanocomplexo de ácido hialurónico – anfotericina B) e a sua eficácia no tratamento da leishmaniose (visceral ou cutânea).	
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	Este projeto permitirá aferir quanto à segurança e confiabilidade do material testado, dado que está a ser desenvolvido para aplicação em humanos. Permitirá ainda confirmar o potencial desse mesmo material no tratamento da leishmaniose de um modo eficaz/rápido/económico levando assim a uma melhoria da qualidade de vida.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Ratinhos C57BL/6. Considerando que os ensaios serão para ser realizados em duplicado, serão usados aproximadamente 114 animais da espécie <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?	Nos ensaios de toxicidade sistémica é aceite a hipótese de existir toxicidade na dose mais elevada que possa comprometer o bem-estar animal. Nos restantes ensaios não são esperadas alterações bioquímicas e fisiológicas significativas nos animais. -No final do projeto os animais serão occisados.	

Aplicação dos 3Rs	
<p><b>1.Replacement (Substituição)</b></p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Neste projeto, onde se pretende desenvolver uma nova formulação para o tratamento da leishmaniose, foram feitos esforços para se realizar todos os ensaios <i>in vitro</i> disponíveis (culturas axénicas de parasitas, macrófagos infetados com amastigotas, citotoxicidade das formulações em diversas linhas celulares e o potencial hemolítico em amostras de sangue de origem animal). No entanto é preciso ter em conta sempre a ressalva de que na maioria dos casos os resultados obtidos não podem ser transferíveis para uma situação <i>in vivo</i> uma vez que estes tipos de ensaios mimetizam de uma forma mais real possível as características patológicas e respostas imunológicas observadas em humanos quando expostos a uma variedade de estirpes de leishmania. Sendo assim, recorre-se à experimentação animal por não existirem alternativas para os estudos pretendidos.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b></p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>O número de animais que se pretende usar é o mais reduzido possível, no entanto garante a significância dos resultados. A adequação do tamanho da amostra (número de animais) nas experiências foi avaliada pelo método “Resource Equation”.</p>
<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b></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>De acordo com a literatura um bom modelo de ratinho a usar neste tipo de estudos são os da estirpe C57BL/6.</p> <p>De modo a minimizar o sofrimento dos animais, irão ser tidos em conta os “Humane endpoints”, que determinarão o término da experiência tais como:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Decréscimo da temperatura corporal (&gt; 10%)</li> <li>• Perda de peso (&gt; 15 %)</li> <li>• Dificuldade em respirar (<math>\leq</math> 40/minuto)</li> <li>• Postura anormal continuada (decúbito lateral &gt; 48h)</li> <li>• Vocalizações excessivas durante o manuseamento.</li> <li>• Desidratação severa</li> <li>• Pupilas dilatadas</li> </ul> <p>No caso do tratamento da leishmaniose cutânea serão ainda tidos em conta os seguintes limites:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>• Mais do que uma lesão cutânea na região caudal dos animais.</li> <li>• Lesões muito próximas dos 30 mm<sup>2</sup> de área superficial.</li> </ul>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>	<p>Sim</p>

<b>Título do projeto</b>	Descobrir os mecanismos envolvidos na iniciação, progressão e resposta à terapia no Carcinoma Basocelular (CBC)	
<b>Duração do projeto</b>	5 Anos	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Cancro de pele, iniciação do cancro, progressão do cancro e resistência à terapia do cancro	
<b>Fim/objetivo do projeto</b> (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	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	Os principais objetivos deste projeto são compreender os mecanismos moleculares e celulares que levam à progressão do cancro e à resposta à terapia em cancros em adultos e pediátricos. Usaremos o carcinoma basocelular, o cancro mais frequente em humanos como modelo de cancro nos nossos estudos.	
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 cancro é uma doença devastadora e uma das principais causas de mortes em adultos e crianças. Esta proposta aborda uma série de questões-chave não resolvidas na biologia do cancro. Constitui o ponto de partida para um entendimento profundo dos fatores determinantes da heterogeneidade celular e da resistência à terapia no cancro humano mais comum, o carcinoma basocelular. Além de identificar as populações de células tumorais responsáveis pela resistência à terapia, descobriremos os mecanismos que levam à resistência, que podem ser extrapolados para outros tipos de cancro que apresentam hierarquias celulares e paisagens mutacionais semelhantes. O objetivo final deste estudo é projetar novas terapias combinadas destinadas a atingir as populações resistentes e minimizar os efeitos adversos. A conclusão deste estudo e o conhecimento que daí advém, permitirá não só um aprofundamento da compreensão da biologia do cancro, mas também desenhar novos tratamentos eficazes na cura contra esta doença.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Murganhos, n=13.860	
No contexto do que é proposto fazer-se aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de	Os efeitos adversos observados nos animais experimentais têm severidade ligeira a moderada e estão ligados à indução e presença de cancro na pele e à perda de pelo. Num pequeno subgrupo grupo e	

severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	animais, a severidade poderá chegar a severa. No final do projeto, os animais serão eutanasiados.
<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<b>1.Replacement (Substituição)</b> Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Não há possibilidade de recriar o carcinoma basocelular <i>in vitro</i> ou com outro modelo animal diferente do murganho.
<b>2.Reduction (Redução)</b> Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Esperamos usar 13.860 murganhos. O uso da imagem intravital, na qual um animal pode ser analisado em diferentes momentos leva a uma redução substancial dos murganhos necessários para este estudo.
<b>3.Refinement (Refinamento)</b> 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 murganhos são <i>the gold standard</i> modelos para o estudo da biologia do câncer e oferecem ótimas ferramentas genéticas que permitem a manipulação precisa de genes, necessária para o seu estudo. Os animais serão alojados nas caixas normais com comida e água <i>ad libitum</i> e com material de enriquecimento (ninho e tubo de cartão ou casinha). Sempre que se perceber que existe algum sinal de desconforto serão aplicados os limites críticos indicados em cada procedimento.
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Sim

<b>Título do projeto</b>	O papel da microbiota na atividade terapêutica do trastuzumab num modelo de tumor mamário em murganhos	
<b>Duração do projeto</b>	12 Meses	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Trastuzumab, cancro mamário, microbiota	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (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	Sim
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	<p>Este projeto visa confirmar a contribuição da microbiota (conjunto de microrganismos que habitam num organismo, humano neste caso) na eficácia anti tumoral de um fármaco (utilizado na prática clínica humana no tratamento de determinado tipo de cancros mamários), num modelo científicas/clínicas a serem abordadas, etc) murino transgênico de tumores mamários. O gene HER2 é sobre-expresso em quase 20% dos cancros de mama e está associado a uma doença mais agressiva. Este fármaco já é utilizado em vários países para o tratamento de mulheres com cancro da mama HER2 positivo, melhorando significativamente a esperança de vida das pacientes. Embora o fármaco tenha mostrado evidentes benefícios clínicos, cerca de 50% das pacientes não respondem ao tratamento, sendo por isso necessário otimizar a taxa de resposta. No seguimento de estudos preliminares, pensa-se que o microbiota poderá ter um papel fundamental no sucesso deste tratamento. Para testar essa hipótese, irão ser utilizados murganhos transgênicos que desenvolvem tumores mamários espontaneamente, e será testada a resposta anti-tumoral do fármaco. Mais concretamente, a experiência consistirá em comparar o efeito do fármaco em murganhos com microbiota e outro grupo de murganhos sem microbiota.</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)?	A compreensão do impacto da microbiota intestinal na que possam derivar deste projeto eficácia do fármaco poderá ajudar na definição de novas estratégias para otimizar o tratamento em mulheres os seres humanos ou outros animais afetadas pelo cancro de mama HER2 positivo.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão	32 Murganhos transgênicos.	

utilizados?	
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?	As fêmeas da estirpe de murganhos utilizada neste estudo desenvolvem múltiplos tumores mamários assíncronos (4-5 tumores/animal) entre as 12 e as 19 semanas de idade, que serão monitorizados semanalmente. O tamanho máximo de 1000mm <sup>3</sup> foi estabelecido como limite crítico, adversos esperados e o grau representando um grau de severidade ligeiro. Além do desenvolvimento de tumores, nenhum outro efeito adverso acontecerá aos animais durante o tratamento com o fármaco. No final do projeto e antes disso sempre que os animais atinjam os limites críticos estabelecidos, os animais serão occisados de forma humana.
<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<b>1.Replacement (Substituição)</b> Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	A interação complexa entre os microrganismos comensais, o sistema imunológico do hospedeiro e a atividade antitumoral do trastuzumab só pode ser estudada usando modelos de animais vivos, por isso não podemos utilizar animais e por que não pode substituir os estudos em animais por culturas celulares que não reproduzem esta complexidade de interações.
<b>2.Reduction (Redução)</b> Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	O modelo experimental a ser utilizado foi cuidadosamente caracterizado em estudos anteriores e todos os procedimentos aplicados aos animais estão otimizados. Assim, o número de animais será REDUZIDO ao mínimo sem perder informações científicas significativas (8 murganhos /grupo).
<b>3.Refinement (Refinamento)</b> 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.	Faremos todos os esforços para refinar os procedimentos, de modo que apenas experiências relevantes e produtivas sejam realizadas. As experiências <i>in vivo</i> serão realizadas somente após análise consciente dos resultados anteriores. Além disso, a avaliação dos resultados durante o curso das experiências permitirá a redução da duração da experiência, se necessário, sem perder informações cientificamente significativas.
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Não

<b>Título do projeto</b>	Papel da microbiota intestinal humana na resistência à colonização por Enterobacteriaceae resistentes a antibióticos	
<b>Duração do projeto</b>	24 Meses	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Resistência à colonização, Recuperação de infeções.	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (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	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	<p>No âmbito deste projeto, queremos perceber como é que a comunidade de bactérias residentes nos intestinos de mamíferos e alguns dos seus membros em particular conseguem resistir à colonização por bactérias externas, evitando infeções no hospedeiro. Em particular, pretendemos identificar espécies com esta capacidade e os mecanismos usados para este fim. Sabemos que os antibióticos destroem o equilíbrio desta comunidade, com efeitos muito negativos para as propriedades benéficas da microbiota. Nomeadamente, já demonstrámos em estudos anteriores que tratamentos prolongados de antibióticos administrados por via oral causam alterações muito drásticas nesta comunidade bacteriana que quebram a barreira protetora que ela confere contra a invasão de organismos causadores de doenças. Assim sendo, queremos identificar quais as bactérias que possam repor essa capacidade protetora na comunidade, de modo a podermos reforçar, quando necessário, a presença dessas bactérias ou outras que possuam os mesmos mecanismos, evitando infeções ocorridas durante tratamentos com antibióticos.</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>Neste projeto pretendemos encontrar estratégias que nos permitam repor o equilíbrio da comunidade bacteriana intestinal após distúrbios causados por antibióticos, de modo a combater infeções. O uso de antibióticos é essencial no combate de determinado tipo de infeções mas tem efeitos secundários negativos muito fortes por destruir a comunidade da bacteriana intestinal, tal efeito torna o hospedeiro muito mais suscetível a bactérias causadoras de infeções. Deste modo, o nosso trabalho poderá contribuir para um melhor uso de antibióticos e combate a infeções.</p>	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão	A espécie animal utilizada será o <i>Mus musculus</i> . Deveremos usar cerca de 90 animais neste projeto.	

utilizados?	
<p>No contexto do que é proposto fazer-se aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?</p>	<p>O grau provável de severidade esperado em resposta aos procedimentos propostos nunca ultrapassa o grau ligeiro. Ou seja, não são esperados efeitos adversos nos animais que advenham dos procedimentos propostos. De qualquer modo, os animais serão monitorizados diariamente durante todas as experiências.</p> <p>Após o fim de cada experiência, os animais serão occidados de acordo com os métodos definidos legalmente por forma a infligir o mínimo de sofrimento. (SOP#mrE-2)</p>
<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<p><b>1.Replacement (Substituição)</b></p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Neste projeto tivemos que recorrer ao uso de animais por não existirem neste momento outros modelos que reproduzam a complexidade existente no intestino de mamíferos. Queremos identificar bactérias que, no contexto do hospedeiro e do seu ambiente intestinal, contribuam para a resistência à colonização de Enterobacteriaceae resistentes a antibióticos, bem como dos seus mecanismos. Só é possível chegar a este nível de conhecimento usando comunidade bacteriana intestinal humana, uma comunidade bastante complexa, e apenas no contexto do hospedeiro é possível validar os resultados deste projeto.</p> <p>Todos os estudos serão feitos tendo em conta o princípio dos 3Rs e o número de animais será mantido o menor possível em todas as ocasiões.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b></p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>O número de animais será mantido o menor possível que permita obter significância estatística entre as diferentes condições experimentais a serem testadas. Estes estudos foram começados há dois anos e as experiências feitas até agora permitem-nos poder propor com confiança os números mínimos de animais por condição experimental.</p>
<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b></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>Utilizaremos sempre que possível refinamento da metodologia aplicada nas diferentes experiências descritas, de modo a minimizar o sofrimento animal. Estes incluem o uso de habitação de alta qualidade e condições de criação com técnicas adicionais, fornecendo enriquecimento ambiental sempre que necessário. Todo o trabalho experimental é realizado por pessoal altamente treinado e qualificado. Estes modelos experimentais baseiam-se no uso de ratinhos como um sistema modelo.</p> <p>Os modelos experimentais a serem utilizados dependem da colonização do intestino do ratinho com bactérias comensais (por técnica de gavagem). Não há nenhuma exigência esperada de cuidados especiais para minimizar qualquer dor ou sofrimento. As pessoas envolvidas no projeto irão seguir os animais diariamente e avaliarão o bem-estar e a saúde geral dos animais.</p>
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Não

<b>Título do projeto</b>	Combinação de Terapia Fotodinâmica com Imunoterapia para o tratamento de cancro	
<b>Duração do projeto</b>	5 Anos	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Oncologia, Terapia Fotodinâmica, Imunoterapia, Metástases	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim
	Investigação translacional ou aplicada	Sim
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	O presente projeto pretende estudar os mecanismos que desencadeiam a resposta imunitária antitumoral desencadeada pela redaporfin-PDT bem como comprovar que a combinação desta com imunoterapia resulta num melhor controlo da doença oncológica, incluindo quando há metástases.	
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	A validação das hipóteses colocadas poderá servir como a base científica para estabelecer novas <i>guidelines</i> na aplicação clínica da Terapia Fotodinâmica nomeadamente no que diz respeito à utilização de antibióticos e probióticos bem como para o desenho de novos ensaios clínicos para a combinação de Terapia Fotodinâmica, utilizando o fotossensibilizador português (redaporfin), com imunoterapia. Espera-se que esta combinação permite obter efeitos terapêuticos que permitirão um melhor controlo da doença oncológica e consequentemente o aumento da taxa de sobrevivência e da qualidade de vida dos doentes oncológicos.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	1100 Balb/c 406 C57/BL16	
No contexto do que é proposto fazer-se aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	A maioria dos procedimentos (colheita de fezes, administração oral de antibióticos, administrações intravenosa, subcutânea, intraperitoneal, medição de tumores e aquisição de imagens de luminescência) apresenta um grau de severidade ligeiro. O procedimento de Terapia Fotodinâmica apresenta um grau de severidade moderado o qual será minimizado com o recurso a analgésicos, nomeadamente buprenorfina. Os animais serão occidados no final das experiências.	

<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<p><b>1.Replacement (Substituição)</b></p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Para o estudo do sistema imunitário numa dada terapia direcionada ao tratamento de cancro é absolutamente necessário recorrer a modelos animais da doença com um sistema imunitário funcional. Ao momento, não existem modelos alternativos.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b></p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Os estudos serão organizados de modo a que experiências diferentes possam acomodar os mesmos grupos controlo de animais. Modelos pseudo-metastáticos apenas serão utilizados caso as hipóteses apresentadas sejam validadas nos modelos tumorais subcutâneos. Técnicas de imagiologia não invasivas serão utilizadas o que permitirá fazer o seguimento do desenvolvimento metastático sem necessidade de sacrifício dos animais a diferentes tempos do protocolo experimental.</p>
<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b></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 e C57/BL6 encontram-se amplamente descritos na literatura como modelo animal a utilizar em estudos cujo objetivo é o estudo da imunidade antitumoral e eficácia de diferentes protocolos de Terapia Fotodinâmica. A maioria dos procedimentos apresenta um grau de severidade ligeiro. Os animais serão anestesiados aquando os procedimentos de aquisição de imagem e analgesia será aplicado nos dias do protocolo de Terapia Fotodinâmica. As gaiolas terão enriquecimento ambiental de modo a permitir o comportamento normal dos murganhos.</p>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>	<p>Sim</p>

<b>Título do projeto</b>	Fenotipagem comportamental, farmacológica e eletrofisiológica de ratinhos geneticamente modificados.	
<b>Duração do projeto</b>	5 Anos	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Neurónios, circuitos, ações.	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (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	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	<p>A aprendizagem de muitas das ações executadas diariamente é feita por associação de um estímulo a uma determinada resposta. Deste modo, são construídos repertórios de ações, em que um estímulo conduz à execução de uma dada ação, de modo automático.</p> <p>Existem outros tipos de ações, não automáticas, designadas como ações autogeridas ou intencionais. A aprendizagem destas ações depende das consequências resultantes. Assim, uma ação é inicialmente executada espontaneamente e, se a consequência for positiva/desejável, a execução desta ação é reforçada.</p> <p>A aquisição e aprendizagem das ações intencionais podem ser realizadas através de um processo que integra circuitos sensoriais e motores, circuitos estes que podem estar danificados, como no caso da doença de Parkinson (que afeta a produção destas ações) ou na desordem obsessiva-compulsiva (que afeta o controlo destas ações). Assim, o nosso objetivo global é compreender os circuitos e mecanismos envolvidos na produção de ações novas, intencionais, e como estas ações, com base nas suas consequências, evoluem e são modificadas de modo a criar conjuntos de ações eficazes, orientadas para atingir determinadas metas.</p> <p>Os quatro objetivos deste projeto são:</p> <p>1. Início/produção de ações: Quais são os mecanismos subjacentes ao iniciar de ações intencionais e à produção destas ações, num determinado contexto?</p>	

	<p>2. Modificação e automatização de ações: Quais são os mecanismos por trás das alterações no modo como as ações intencionais são executadas (através de repetições da ação/consequência (tentativa/feedback))?</p> <p>3. Seleção de ações: Quais são as bases neurais subjacentes à escolha de quais as ações intencionais a executar num dado contexto (e quando as executar), tendo em conta as consequências anteriores dessas ações?</p> <p>4. Controlo de ações: Quais são os mecanismos que determinam porque é que são executadas ações intencionais/orientadas por um objetivo e ações automáticas, desencadeadas apenas pelo contexto?</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)?	O conhecimento adicional obtido com as experiências propostas para atingir os objetivos de investigação descritos acima (de compreender como as ações intencionais são produzidas e organizadas em reportórios motores eficazes) será instrumental para identificar novas relações anatómicas/funcionais entre os diferentes circuitos cerebrais e o controlo da atividade motora. A compreensão destes aspetos é um passo fundamental para o tratamento de desordens motoras que refletem disfunções destes mesmos circuitos motores.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	<p><i>Mus musculus</i>. (3940/ano).</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?	Antecipa-se que o impacto na saúde e bem-estar dos animais decorrente dos procedimentos experimentais propostos seja ligeiro a moderado. No final das experiências, os animais serão eutanasiados.
<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<p><b>1.Replacement (Substituição)</b></p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>O cérebro dos vertebrados é único do ponto de vista evolutivo e o seu estudo é fundamental para compreender aspetos neuroanatómicos humanos e as funções cognitivas que resultam das conexões anatómicas.</p> <p>Vários circuitos neurais são conservados em vertebrados e estão presentes, em formas simplificadas, em vertebrados mais primitivos. Contudo, as ações motoras produzidas por estes vertebrados mais simples são muito limitadas quando comparadas com as que ocorrem em mamíferos.</p> <p>Temos como objetivo global a compreensão da relação funcional entre a atividade neuronal e o comportamento motor, ambos estes aspetos manifestados apenas em animais vivos e ativos. A utilização de um modelo invertebrado, um vertebrado mais primitivo, cultura celular ou</p>

	<p>simulação não forneceria os dados fisiológicos e comportamentais relevantes para esta investigação.</p> <p>A escolha do ratinho como modelo animal deve-se ao facto de serem mamíferos de manipulação e manutenção fácil e geneticamente acessíveis.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b></p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>O objetivo deste projeto é o estudo do papel de diferentes circuitos neuroanatómicos na produção de ações motoras intencionais. O comportamento de roedores apresenta uma quantidade significativa de variabilidade entre animais e necessita de repetição de modo a avaliar a eficiência dos testes. Com base na extensa experiência do nosso laboratório no estudo do comportamento motor em ratinhos, calculou-se cuidadosamente o número apropriado de animais necessário para as experiências, que segue o mínimo requerido em experiências semelhantes descritas na literatura.</p>
<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b></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>Atualmente, os roedores constituem o principal organismo modelo em mamíferos para o estudo das bases neurais do comportamento motor. A utilização de ratinhos permitirá uma interpretação dos resultados mais rápida por comparação com a literatura existente. Animais mais simples não são adequados para este propósito pois são incapazes de executar as tarefas motoras complexas que são o objeto do nosso estudo. Adicionalmente, este tipo de investigação assenta em estratégias genéticas, que não se encontram disponíveis noutras espécies. Em particular, com recurso a este modelo são possíveis combinações genéticas que nos permitem a identificação, visualização e manipulação de circuitos neuronais específicos durante a execução de comportamentos, e a análise da estrutura e função desses circuitos com um elevado grau de precisão. Adicionalmente, algumas experiências envolvem a fixação da cabeça do animal. A fixação da cabeça é muito mais simples em ratinhos, que conseguem mais facilmente habituar-se a esta manipulação do que outros animais. Compostos anestésicos e analgésicos pós-operatórios serão administrados durante e após os procedimentos cirúrgicos executados (implantes, gravações fisiológicas, etc.). O bem-estar de cada animal será monitorizado antes, durante e após a execução dos paradigmas comportamentais e estes níveis de bem-estar devem estar num intervalo de valores comparáveis. No entanto, no caso de problemas não antecipados, serão implementados pontos terminais.</p>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>	<p>Sim</p>

<b>Título do projeto</b>	Mecanismos de início de doença durante o desenvolvimento in útero num modelo de ratinho para distrofia muscular congénita merosina negativa (MDC1A).	
<b>Duração do projeto</b>	4,5 Anos	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Distrofia muscular, miogénese, células estaminais musculares, laminina, LAMA2, MDC1A	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (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	Sim
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Sim
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	<p>Este projeto procura utilizar um modelo de ratinho para a distrofia muscular congénita merosina negativa (MDC1A) ou LAMA2- negativa (LAMA2-CMD) para determinar quando e como a doença começa durante o desenvolvimento do músculo-esquelético.</p> <p>Procuraremos responder as seguintes questões:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. Qual é a distribuição normal da laminina 211, a proteína mutada no MDC1A, durante o desenvolvimento embrionário de ratinho.</li> <li>2. Quando é como é que o desenvolvimento do músculo-esquelético se torna deficiente em fetos de ratinhos modelo para a doença comparado com fetos de ratinhos normais.</li> <li>3. Quais são os mecanismos moleculares subjacente a deficiência do desenvolvimento muscular em fetos ratinhos modelo para a doença comparado com fetos controlos.</li> </ol>	
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	<p>A distrofia muscular congénita merosina negativa (MDC1A) é uma doença muscular incapacitante em que as crianças manifestam uma acentuada fraqueza muscular desde a nascença, sendo raramente capazes de andar e necessitando frequentemente de alimentação e/ou respiração assistidas. Não existindo cura nem tratamento para a MDC1A, é urgente desenvolver estratégias terapêuticas, inexistentes até à data. Os nossos dados preliminares num modelo de ratinho (dyW) para a doença sugerem que o desenvolvimento do músculo-esquelético em útero não é normal. Sendo assim, ao invés de atribuir a primeira fase da doença a uma deterioração da saúde da fibra muscular, sugere que possa haver um defeito no desenvolvimento do músculo. Uma abordagem terapêutica promissora para a MDC1A seria alvejar esse</p>	

	primeiro defeito, imediatamente na origem da doença. Neste projeto pretendemos determinar precisamente quando a doença começa a manifestar-se no modelo de ratinho e determinar os mecanismos celulares e moleculares por detrás do início da doença. Com estes dados irá no futuro ser possível desenvolver terapias específicas que atuam no início da doença.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	<i>Mus musculus</i> (234 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?	Este projeto inclui o seguinte procedimento com grau de severidade ligeiro:  1. Administração de EdU por injeção intraperitoneal (12 fêmeas grávidas). Os animais serão occisados para obtenção de fetos que serão imediatamente occisados para recolha de tecidos. As fêmeas grávidas irão ser anestesiadas em isoflurano e occisadas. Os fetos são removidos, colocados em gelo e imediatamente decapitados.  De seguida procede-se ao isolamento e processamento dos tecidos fetais de interesse.
<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<b>1.Replacement (Substituição)</b>  Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Neste projeto pretende-se entender os mecanismos subjacentes ao início da MDC1A num modelo de ratinho da doença. Para este fim é essencial estudar o tecido como um todo durante as suas fases normais de desenvolvimento.
<b>2.Reduction (Redução)</b>  Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	O objetivo 1 do projeto é um estudo descritivo e utilizará até n=4 animais por estádio, genótipo e técnica. Nos objetivos 2 e 3, iremos realizar quantificações e os cálculos (power calculation) com base em dados preliminares apontam para que precisemos um n=6 (quantificação em cortes ou Western blot) ou n=8 (RT-qPCR) para cada estádio e genótipo.
<b>3.Refinement (Refinamento)</b>  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 desenvolvimento muscular do <i>Mus musculus</i> têm muito em comum com o que se pensa ser o desenvolvimento muscular no ser humano. Certamente é muito mais próximo do que o desenvolvimento muscular no peixe zebra ou da mosca do vinagre. Existe um modelo para a MDC1A, que tal como no caso da doença humana, tem uma mutação no gene LAMA2.  Este projeto não inclui procedimentos de severidade moderada ou alta.
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Não

<b>Título do projeto</b>	Genética e epigenética das Células Hematopoiéticas Estaminais	
<b>Duração do projeto</b>	2 Anos	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Genética, Epigenética, Células Hematopoiéticas Estaminais (ou células -tronco hematopoiéticas)	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (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	Sim
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	<p>Todas as células do sangue, como os glóbulos vermelhos e os diferentes tipos de glóbulos brancos, são produzidas a partir de uma população de células tronco que reside na medula óssea. Estas células são muito raras e, por isso, difíceis de estudar. Dado o seu potencial de diferenciação, é muito importante conhecer as propriedades das células tronco. Em particular, estamos interessados em saber se todas estas células têm um potencial de diferenciação idêntico ou se existem diferenças entre elas. A nossa abordagem consiste em isolar células tronco de ratinhos e reintroduzir apenas uma célula tronco por animal irradiado. A célula irá então reconstituir as populações hematopoiéticas do animal e o sistema resultante diz-se monoclonal, isto é, proveniente de apenas uma célula. Num ratinho normal, várias células tronco estão a contribuir para cada população diferenciada. Assim é possível comparar populações diferenciadas de 2 ou mais sistemas monoclonais para inferir as propriedades das células tronco que os originaram.</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>Diferenças na capacidade de diferenciação das células tronco podem ter uma base genética (rearranjo de ADN) ou epigenética, marcas químicas como a metilação do ADN ou a metilação e acetilação das histonas, proteínas intimamente ligadas ao ADN. A descoberta de heterogeneidade (epi)genética nas células tronco hematopoiéticas de base genética ou epigenética permitir-nos-ia interpretar melhor fenómenos com grande relevância para o cancro, como a perda de heterozigotia e desenvolver metodologias para descrever a estrutura clonal de diferentes populações sanguíneas com base na avaliação das regiões genómicas que apresentam marcas epigenéticas distintas nas células-tronco hematopoiéticas.</p>	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	<p>Apenas uma espécie animal: <i>Mus musculus</i> (murganhos ou ratinhos)</p> <p>Cerca de 660 animais.</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>Não são esperados efeitos adversos e o grau de severidade é moderado. Existe apenas um risco baixo de o animal vir a morrer durante a injeção das células-tronco hematopoiéticas. Todos os animais serão eutanasiados: os machos resultantes dos cruzamentos são eutanasiados aos 7-10 dias de idade, os animais dadores na altura de obter as células HSCs, os animais recipientes injetados mas que não foram reconstituídos após a recolha da terceira amostra de sangue, os animais recipientes reconstituídos 1-4 meses após a reconstituição ( válido para as reconstituições primárias e secundárias).</p>
<p><b>Aplicação dos 3Rs</b></p>	
<p><b>1.Replacement (Substituição)</b></p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Neste projeto pretendemos testar se as células-tronco hematopoiéticas têm marcas epigenéticas estáveis que são transmitidas à progenia da célula, estabelecendo uma estrutura clonal nas populações de células sanguíneas maduras; ou seja, se dentro dessas populações aparentemente homogêneas de células sanguíneas podemos identificar populações com marcas epigenéticas distintas, já presentes nas células-tronco hematopoiéticas.</p> <p>Embora seja possível diferenciar HSCs em diferentes células sanguíneas <i>in vitro</i>, o significado fisiológico de tais resultados <i>in vitro</i> seria sempre questionado. Além disso, já foram realizadas várias experiências <i>in vitro</i> avaliando marcas epigenéticas por meio de expressão monoalélica. Assim, para preservar a relevância e originalidade do nosso trabalho, decidimos realizar este trabalho <i>in vivo</i> e não há melhor modelo animal do que o ratinho, tendo em conta o nosso conhecimento sobre este animal, as ferramentas genéticas e os paralelos que se podem estabelecer entre a fisiologia do ratinho e dos seres humanos.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b></p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Com base em estudos prévios, calculámos o número mínimo de experiências e o tamanho dos grupos experimentais e de controlo de cada experiência que garantam a reprodutibilidade e a significância estatística dos resultados. A nossa prática deste tipo de protocolos foi determinante para calcular o número de animais a injetar para assegurar dois animais “controlo” e 3 animais “monoclonais” por experiência.</p> <p>No total, incluindo as experiências de otimização e as repetições, contamos utilizar cerca de 660 animais.</p>
<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b></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</p>	<p>Decidimos usar ratinhos por causa da sofisticação do conhecimento sobre a genética destes animais e das ferramentas disponíveis. Não existem outros modelos animais convencionais mais simples para realizar este estudo.</p> <p>Para os irradiar, os animais são colocados dentro dum cilindro de metal. Como se trata de um cilindro de pequenas dimensões, não colocamos mais de 6 animais de cada vez, para evitar stressá-los ou causar falta de oxigénio. Como cada experiência requer 40-50 animais,</p>

<p>(danos) aos animais.</p>	<p>a irradiação implica repetir este procedimento 7-9 vezes.</p> <p>Logo depois da irradiação, os animais regressam às gaiolas e esperamos pelo menos uma hora antes de voltarmos a manipulá-los.</p> <p>Em experiências piloto, a anestesia foi usada, mas percebemos que não houve ganho real e que o procedimento era contraproducente, dado o risco de morte como consequência da anestesia, que tinha que ser feita em série, em grupos de 2-3 animais e requeria muita coordenação. Sem anestesia, o procedimento pode ser feito de forma muito mais rápida, mais segura e sem sofrimento para os animais, particularmente quando realizado por dois experimentadores, um administrando as injeções e outro auxiliando na preparação das amostras.</p>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>	<p>Sim</p>

<b>Título do projeto</b>	SiRNAGLAU - NOVEL siRNA THERAPIES AGAINST GLAUCOMA	
<b>Duração do projeto</b>	5 anos	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Glaucoma, Retina, SiRNA, Pressão Intraocular, Aplicação tópica	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	O glaucoma é uma doença que provoca morte das células da retina e uma das principais causas de perda de visão no mundo, caracterizada pela perda de células ganglionares da retina (CGR). A pressão intraocular (PIO) elevada é um importante fator de risco e principal alvo da terapêutica, contudo alguns doentes continuam a perder a visão, apesar do controlo eficiente da PIO. Considerando que as opções medicamentosas atuais são limitadas e pouco eficazes no glaucoma, o projeto tem como objetivo último o desenvolvimento de terapias para o glaucoma mais eficazes, através do controlo da PIO. Assim, pretende-se testar diferentes abordagens farmacológicas produzidas pela Phyzat e a validação da sua eficácia na redução da PIO, e em analisar efeitos protetores em culturas organotípicas de retina.	
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 glaucoma é uma das principais causas de cegueira a nível mundial. A terapêutica foca-se na diminuição da pressão intraocular, o principal fator de risco. No entanto, muitos doentes continuam a perder visão mesmo após controlo dos valores da PIO, sugerindo que a proteção das células ganglionares é uma estratégia com potencial no tratamento do glaucoma. Com o presente projeto pretende-se comprovar que as moléculas patenteadas pela Phyzat conseguem efetivamente controlar a PIO de modo mais prolongado no tempo em animais de laboratório através de uma aplicação tópica e que desse modo se apresentam como candidatos ao desenvolvimento de medicamentos para tratamento do glaucoma e outras patologias para as quais o controlo da PIO é relevante.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Serão utilizados 702 ratos.	

<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>O grau de severidade será ligeiro, todos os animais serão occisados com uma sobredose anestésica. Não estão previstos efeitos adversos.</p>
<p><b>Aplicação dos 3Rs</b></p>	
<p><b>1.Replacement (Substituição)</b></p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>A utilização de animais (ratos e murganhos) é de extrema importância para atingir o objetivo estabelecido no projeto, uma vez que se pretende estudar os possíveis efeitos benéficos das diferentes moléculas patenteadas pela Phyzat no controlo duradouro da PIO num modelo animal de glaucoma, e também analisar efeitos protetores na retina utilizando culturas celulares de retina. Desta forma, a avaliação da eficácia destes fármacos poderá posteriormente permitir a translação para a prática clínica.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b></p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Serão utilizados 522 ratos e 276 murganhos. Este número foi calculado recorrendo a métodos estatísticos com recurso a ferramentas que permitiram aferir o número mínimo de animais alocado a cada grupo experimental. Todos os procedimentos serão realizados por investigadores experientes. Além disso, toda a equipa se compromete a cumprir todas as regras de boas práticas laboratoriais de forma a evitar a repetição desnecessária de experiências, reduzindo assim o número de animais utilizado.</p>
<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b></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 escolha das espécies animais deve-se ao facto de o rato e do murganho serem modelos que apresentam grandes semelhanças anatómicas e fisiológicas com o ser humano, para além de diversos trabalhos no nosso laboratório terem sido desenvolvidos com estas espécies e com este sistema. Os animais serão alojados com enriquecimento ambiental e o seu bem-estar será monitorizado diariamente. Os procedimentos serão efetuados por investigadores experientes e as técnicas aplicadas aos animais terão em conta a minimização do seu sofrimento.</p>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>	<p>Não</p>

<b>Título do projeto</b>	Realização de curso/demonstração de especialização em cirurgia robótica e cursos de “Ciências de Animais de Laboratório” de acordo com a estrutura modular presente na Diretiva 2010/63/EU para as funções (a), (b), (c), (d) e módulos extra (20, 21, 22 e 23)	
<b>Duração do projeto</b>	60 Meses	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Animais de laboratório, Cursos, FELASA, Robótica	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (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	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
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	O principal objetivo do projeto é dar formação teórico-prática a profissionais e investigadores que utilizam animais para fins experimentais e outros fins científicos, tal como é exigida por lei (Artigo 31º do Decreto-Lei n.º 113/2013 de 7 de agosto). Além disso, será realizado um curso/demonstração de especialização em cirurgia robótica que tem por objetivo treinar médicos na realização de cirurgias minimamente invasivas utilizando equipamento robótico cirúrgico.	
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	A utilização de animais permite ao investigador treinar os procedimentos nos modelos animais que irá utilizar contribuindo para o refinamento das técnicas utilizadas e para o bem-estar animal. Será dada preferência inicial à utilização de vídeos e treino em cadáver, no entanto nas aulas de ensino de maneio e contenção de animais a utilização dos animais é essencial.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Serão utilizados 10 ratos e 10 murganhos por ano. Além disso serão utilizados 5 suínos.	
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?	Durante os cursos apenas serão realizados procedimentos de severidade ligeira ou de não recuperação. No final os animais serão eutanasiados por sobredose anestésica.	

<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<p><b>1.Replacement (Substituição)</b></p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Nos cursos de ciências de animais de laboratório serão utilizados roedores, ratos e murganhos, pois são as espécies animais utilizadas pelos investigadores. A utilização de animais será reduzida ao mínimo sendo que será dada preferência à visualização de vídeos e utilização de cadáveres. A utilização de alguns animais é essencial pois os cursos envolvem o ensino da sua correta manipulação.</p> <p>A utilização do modelo suíno no curso de cirurgia robótica é essencial devido à semelhança anatômica que esta espécie possui com os humanos. Inicialmente serão utilizados modelo anatómicos das diversas áreas do corpo e só posteriormente serão utilizados os suínos de modo a perfeioar as técnicas cirúrgicas e simular cirurgias em humanos.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b></p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Este projeto envolve a realização anual de cursos de “Ciências de Animais de Laboratório” de acordo com a estrutura modular presente na Diretiva 2010/63/EU para as funções (a), (b), (c), (d) e módulos extra (20, 21, 22 e 23). Os cursos para obtenção das respetivas funções abrirão em simultâneo de modo a reutilizar os animais entre módulos sempre que possível.</p> <p>Em cada ano esperamos que se inscrevam em média 20 alunos por função e respetivos módulos extra. No entanto apenas são utilizados animais nos seguintes módulos:</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>- Função (a): módulos 3.2 e 8</li> <li>- Função (c): módulos 3.2</li> <li>- Função (d): módulos 3.2 e 6.2</li> <li>- Módulo extra 20</li> <li>- Módulo extra 21</li> <li>- Módulo extra 22 (serão utilizados cadáveres de animais cedidos por investigadores e vídeos).</li> </ul> <p>O programa do curso foi desenhado de modo a que os animais utilizados no módulo 3.2 (“Biologia básica e apropriada – Prática”) da Função (a) possam ser utilizadas posteriormente nesse mesmo módulo 3.2 nas Funções (c) e (d) com um mínimo de 24h ed intervalo entre funções. Posteriormente a serem utilizados no módulo 3.2, os animais serão utilizados no módulo 8 (“Procedimentos minimamente invasivos sem anestesia – Espécie-específica”) da Função (a). Passado no mínimo 24h serão reutilizados no módulo 20 – “Anestesia para pequenos procedimentos” ou no módulo 21 “Anestesia avançada para procedimentos prolongados ou cirúrgicos” e eutanasiados no módulo 6.2 (“ Métodos Humanos de Occisão – capacidades”) da Função (d).</p> <p>Será utilizado no máximo 1 animal de cada espécie por cada 2 alunos, o que perfaz 10 murganhos e 10 ratos por ano, contabilizando 20</p>

	<p>alunos inscritos por função e que os animais serão reutilizados como explicitado em cima. O número de animais a utilizar em cada curso foi obtido tendo por base cursos anteriormente realizados com sucesso.</p> <p>Adicionalmente serão utilizados 5 suínos no curso de cirurgia robótica, 1 suíno para 12 cirurgiões, visto que serão cirurgiões de diferente especialidade médicas, sendo possível utilizar o mesmo suíno que irá sempre manter-se em anestesia profunda.</p>
<p><b>3. Refinement (Refinamento)</b></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><u>Curso de Ciências de Animais de Laboratório:</u></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 sendo os modelos mais utilizados nos projetos de investigação a decorrer nesta instituição. Neste projeto, as formas corretas de contenção serão demonstradas nas aulas desde o primeiro dia do curso e a maioria dos procedimentos serão feitas sob anestesia profunda, procedimentos de não recuperação, ou cadáveres de modo a evitar o sofrimento dos animais. Além disso todos os formadores são acreditados pela DGAV como investigadores- coordenadores e possuem uma vasta experiência na área de animais de laboratório. Durante as aulas de “Handling” (manejo) se algum animal for lesionado será imediatamente eutanasiado de modo a evitar o seu sofrimento.</p> <p><u>Curso de Cirurgia Robótica</u></p> <p>A utilização do modelo suíno no curso de cirurgia robótica é essencial devido à semelhança anatómica que esta espécie possui com os humanos. Inicialmente serão utilizados modelos anatómicos das diversas áreas do corpo humano e só posteriormente serão utilizados os suínos de modo a aperfeiçoar as técnicas cirúrgicas e simular cirurgias em humanos. Os suínos serão anestesiados profundamente e não irão recuperar da anestesia de modo a evitar o sofrimento dos mesmos após a cirurgia. Durante a cirurgia será realizada uma monitorização cuidada da profundidade anestésica.</p>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>	<p>Não.</p>

<b>Título do projeto</b>	O tecido adiposo como alvo no tratamento do fígado gordo não alcoólico	
<b>Duração do projeto</b>	5 Anos	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Tecido Adiposo; Fígado Gordo Não Alcoólico; TGR5; microRNAs; Exosomas	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim
	Investigação translacional ou aplicada	Sim
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	<p>A obesidade é o principal fator de risco associado ao desenvolvimento de fígado gordo não alcoólico (FGNA). Como tal, o FGNA é um problema de saúde emergente a nível mundial, afetando mais de um quarto da população. Não existe qualquer tratamento farmacológico aprovado para o FGNA; os candidatos mais promissores incluem agonistas de recetores ativados por ácidos biliares como o INT-777, um agonista específico do recetor TGR5. A ativação do TGR5 no fígado e tecido adiposo (TA) regula a homeostasia da glucose e dos ácidos biliares, assim como o metabolismo energético, ainda que os mecanismos envolvidos não estejam completamente caracterizados. Para além disso, dados recentes indicam que exossomas libertados pelo TA (ad-exos) contêm microRNAs (miRNAs) que parecem atuar no fígado, sugerindo que estas vesículas podem constituir importantes veículos de comunicação entre o TA e o fígado. No seu todo, este projeto foi desenhado para testar a hipótese de que a ativação do TGR5 no TA modula o perfil de expressão dos miRNAs secretados nos exossomas que, por sua vez, irão exercer efeitos funcionais no fígado, melhorando a patogénese do FGNA.</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>Estes estudos irão elucidar o papel de ad-exos-miRNAs dependentes do TGR5 na patogénese do FGNA, identificando uma nova via de sinalização entre TA e fígado, além de expandirem o nosso conhecimento sobre a eficácia, os mecanismos subjacentes e os efeitos secundários do INT-777 agonistas do TGR5, contribuindo para a aceleração de desenvolvimento de fármacos.</p>	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Serão utilizados 84 murganhos C57BL/6	

<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>Em todas as experiências, é expectável que os efeitos adversos sejam de severidade ligeira. No final das experiências os animais serão sujeitos a occisão.</p>
<p><b>Aplicação dos 3Rs</b></p>	
<p><b>1.Replacement (Substituição)</b></p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Neste projeto, fruto de um trabalho de aperfeiçoamento da qualidade técnica dos ensaios, desenvolvido no grupo de investigação onde trabalha o PI deste projeto, tira-se partido de métodos alternativos à experimentação animal. Tais como ensaios <i>in vitro</i>, inclusive com a utilização de células humanas. Estas metodologias são usadas como triagem para identificação do efeito de relevância e serão utilizadas na primeira fase do projeto (células hepáticas humanas e de murganho). É também preocupação da equipa deste projeto, evitar a replicação de estudos conduzidos <i>in vivo</i>, por nós próprios ou por outros e evitar a condução de estudos utilizando modelos irrelevantes na extrapolação de efeitos para a espécie humana. Uma parte importante do projeto, pressupõe o estudo de mecanismos relevantes para doentes com FGNA, nomeadamente a utilização de modelos animais de dieta, na tentativa de identificar novos mecanismos patogénicos, significativos para o desenvolvimento pré-clínico de novos fármacos no tratamento de FGNA. Serão ainda realizados estudos de eficácia de novas moléculas com potencial terapêutico já demonstrado, tendo em vista a obtenção de informação farmacológica em sistemas vivos, necessariamente requerida na extrapolação de efeitos para a espécie humana. Em suma, a utilização de modelos animais de FGNA e progressão para carcinoma hepatocelular, baseados em dieta, é fundamental para a investigação dos mecanismos fisiopatológicos complexos a que nos propomos a estudar. Não existem alternativas validadas para estes estudos animais.</p> <p>O projeto prevê a utilização de amostras biológicas provenientes de estudos animais realizados em projetos anteriores, próprios ou de colaboração, e que se encontram conservadas no nosso biobanco de amostras. Evita-se, assim, a replicação de estudos <i>conduzidos in vivo</i>. Serão também utilizados sistemas de culturas celulares humanas e animais, <i>in vitro</i>. Este tipo de metodologias, anteriormente desenvolvidas, será usado como triagem. Por fim, utilizaremos um modelo animal de doença (dieta) previamente validado, escolhido pela relevância já demonstrada na extrapolação dos efeitos para a espécie humana.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b></p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Em projetos anteriores desenvolvemos novos protocolos com a utilização de menor número de animais por experiência, sempre tentando obter o maior número possível de informação relevante num pequeno número de animais. Nesses estudos prévios, obtiveram-se</p>

	diferenças superiores a 30% nestas experiências e o coeficiente de variação foi de aproximadamente 15%. Assim, considera-se que um número de 6 murganhos por grupo irá fornecer dados estatisticamente significativos (potência 90%, $\alpha = 0,05$ ). “Principles of Laboratory animal Science”, Revised Edition, by LFM Van Zutphen, V Baumans, AC Beynen; Elsevier. ISBN 13: 978-0-444-50612-2.
<p><b>3. Refinement (Refinamento)</b></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>Estudos anteriores, realizados por nós e por outros grupos, publicados em revistas de circulação internacional com arbitragem científica, permitem-nos hoje utilizar novas metodologias a partir do avanço técnico e científico e da investigação direcionada para os endpoints humanos. Por esta razão utilizaremos elementos qualitativos, para além da preocupação constante com a qualidade de vida do animal durante os procedimentos e a necessidade de reduzir o risco e o grau de sofrimento dos mesmos. Os estudos referidos anteriormente também comprovaram a escolha e validade de murganhos C57BL/6 e demonstraram a extrapolação para humanos dos resultados obtidos nesta espécie/estirpe.</p> <p>Neste projeto proceder-se-á ao estudo de toxicidade/eficácia de candidatos a fármacos, com recurso à alimentação dos animais com dieta especial, tendo em vista modelar NAFLD. Os testes específicos para avaliação da toxicidade/eficácia, com ênfase no estudo da função hepática, serão realizados post-mortem. Não é espetável, nem está descrito que os animais sintam dor. Mais ainda, ao longo das semanas de experimentação animal, para além do controlo rigoroso de temperatura, luz, ventilação, humidade, ruído e qualidade do ar no biotério do Campus do Lumiar em que os animais estarão alojados, também serão realizados procedimentos para reduzir o stress dos murganhos e contribuir para o bem-estar animal. Serão fornecidos objetos inanimados nas gaiolas para contribuir para o enriquecimento ambiental e reduzir o stress dos animais durante a experimentação. Serão também avaliados auto-grooming (comportamento de auto limpeza) e allogrooming (comportamento social onde animais executam limpeza em outros indivíduos do seu grupo), grau de agilidade do grupo e interesse pelo enriquecimento ambiental. Por fim, serão também observados rigorosamente o consumo de ração e água, assim como o ganho/perda de peso e bem-estar geral dos animais de cada grupo.</p>
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Não.

<b>Título do projeto</b>	Estudos farmacológicos de novos compostos terapêuticos	
<b>Duração do projeto</b>	5 Anos	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Farmacocinética, farmacodinâmica, segurança e toxicidade	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (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	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	O objetivo principal deste projeto é a validação in vivo de novas moléculas e potenciais medicamentos para tratamento de doenças humanas. Este projeto visa a realização de testes regulamentares de farmacocinética, farmacodinâmica e de toxicidade exigidos pelas autoridades competentes para a aprovação da progressão destes compostos para ensaios clínicos em humanos.	
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 estes ensaios, novos tratamentos para patologias humanas podem ser validados e introduzidos com segurança no mercado e utilizados em medicina humana. É um passo obrigatório e necessário no processo de desenvolvimento de novos tratamentos.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	No âmbito deste projeto serão utilizados pequenos roedores (ratos e ratinhos): 750 ratinhos e 750 ratos.	
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?	Alguns compostos podem induzir sinais de toxicidade, tais como perda de peso, sinais de dor ou alterações de comportamento. Contudo os animais são diariamente monitorizados, os sinais clínicos registados e os animais avaliados do ponto de vista do bem-estar através do uso de uma tabela de pontuação, a qual determinará de forma mensurável o momento no qual o animal será humanamente eutanasiado. Assim, o grau de severidade deste projeto é considerado Moderado.  No final deste projeto todos os animais terão sido eutanasiados.	
<b>Aplicação dos 3Rs</b>		

<p><b>1.Replacement (Substituição)</b></p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Objetivo destes testes é avaliar as alterações fisiológicas, causadas pelo composto em estudo no animal. Pretende-se também avaliar o comportamento do composto no organismo, tal como a sua distribuição, a taxa de absorção, metabolismo e eventuais efeitos tóxicos. Sem a utilização de um organismo biológico como um animal estas respostas não seriam possíveis.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b></p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Todos os compostos que chegarem a esta fase de testes já terão passado por testes in vitro e por modelações computacionais que permitem fazer estimativas muito próximas das doses a utilizar e do comportamento esperado da molécula, reduzindo ao máximo o número de animais necessário.</p>
<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b></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>Ratinhos e ratos são, tal como os humanos mamíferos, partilhando grandes semelhanças fisiológicas e permitindo assim uma translação dos resultados para o humano. Estes pequenos roedores apresentam também a vantagem de serem fáceis de alojar e de terem tempos de vida muito curtos o que agiliza a realização de estudos. Os animais serão alojados com todas as condições de bem-estar animal e serão monitorizados diariamente. Os animais serão eutanasiados logo que surjam quaisquer efeitos adversos ou que ponham em causa o bem estar do animal.</p>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>	<p>Sim</p>

<b>Título do projeto</b>	Achieving new frontiers through trypanosomatid exosomes (TEX)	
<b>Duração do projeto</b>	5 Anos	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Tripanossomatídeos, Exossomas, Resposta imunitária	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (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	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	O EXOTRYPANO pretende investigar o potencial dos exossomas libertados por tripanossomatídeos (TEX) na modelação da resposta imunitária do hospedeiro.	
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)?	Esclarecendo-se o papel desempenhado na resposta imunitária do hospedeiro, os TEX podem ser utilizados no desenvolvimento de produtos/sistemas profiláticos ou terapêuticos que promovam o controlo destas infeções e auxiliem no tratamento de tripanossomoses animais africanas e americanas na leishmaniose canina.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	20 Cães e 90 murganhos.	
No contexto do que é proposto fazer-se aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	<p>Não são esperados efeitos adversos e grau de severidade esperado ligeiro.</p> <p>Os murganhos serão eutanasiados antes de atingirem níveis de infeção que comprometam o bem estar dos animais.</p>	
<b>Aplicação dos 3Rs</b>		

<p><b>1.Replacement (Substituição)</b></p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Não se encontram disponíveis metodologias alternativas que permitam evitar a utilização de animais para estudos de resposta imunitária.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b></p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>O número de animais foi calculado com base no tamanho da amostra necessária (<i>based on decided sample size</i>), tendo em consideração o uso de um número mínimo de animais e a significância estatística. Os ensaios de imunidade serão efetuados <i>in vitro</i> minimizando o número de murganhos necessários.</p>
<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b></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>Canis lupus familiaris</i> foi considerada a mais adequada por ser naturalmente suscetível à infeção por <i>Leishmania</i> e <i>T. cruzi</i>.</p> <p>Os murganhos <i>Mus músculos</i>, estirpe BALAB/c foram considerados os mais adequados por serem modelos convencionais, utilizados em estudos com tripanossomatídeos.</p>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>	<p>Não.</p>

<b>Título do projeto</b>	Estudos farmacológicos de novos compostos terapêuticos	
<b>Duração do projeto</b>	5 Anos.	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Farmacocinética, farmacodinâmica, segurança e toxicidade	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (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	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	O objetivo principal deste projeto é a validação <i>in vivo</i> de novas moléculas e potenciais medicamentos para tratamento de doenças humanas. Este projeto visa a realização de testes regulamentares de farmacocinética, farmacodinâmica e de toxicidade exigidos pelas autoridades competentes para a aprovação da progressão destes compostos para ensaios clínicos em humanos.	
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 estes ensaios, novos tratamentos para patologias humanas podem ser validados e introduzidos com segurança no mercado e utilizados em medicina humana. É um passo obrigatório e necessário no processo de desenvolvimento de novos tratamentos.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	No âmbito deste projeto serão utilizados pequenos roedores (ratos e ratinhos): 750 ratinhos e 750 ratos.	
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>Alguns compostos podem induzir sinais de toxicidade, tais como perda de peso, sinais de dor ou alterações de comportamento. Contudo os animais são diariamente monitorizados, os sinais clínicos registados e os animais avaliados do ponto de vista do bem-estar através do uso de uma tabela de pontuação, a qual determinará de forma mensurável o momento no qual o animal será humanamente eutanasiado.</p> <p>Assim, o grau de severidade deste projeto é considerado Moderado.</p> <p>No final deste projeto todos os animais terão sido eutanasiados.</p>	

Aplicação dos 3Rs	
<p><b>1.Replacement (Substituição)</b></p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Objetivo destes testes é avaliar as alterações fisiológicas causadas pelo composto em estudo no animal. Pretende-se também avaliar o comportamento do composto no organismo, tal como a sua distribuição, a taxa de absorção, metabolismo e eventuais efeitos tóxicos.</p> <p>Sem a utilização de um organismo biológico como um animal estas respostas não seriam possíveis.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b></p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Todos os compostos que chegarem a esta fase de testes já terão passado por testes <i>in vitro</i> e por modelações computacionais que permitem fazer estimativas muito próximas das doses a utilizar e do comportamento esperado da molécula, reduzindo ao máximo o número de animais necessário.</p>
<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b></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>Ratinhos e ratos são, tal como os humanos mamíferos, partilhando grandes semelhanças fisiológicas e permitindo assim uma translação dos resultados para o humano.</p> <p>Estes pequenos roedores apresentam também a vantagem de serem fáceis de alojar e de terem tempos de vida muito curtos o que agiliza a realização de estudos.</p> <p>Os animais serão alojados com todas as condições de bem-estar animal e serão monitorizados diariamente. Os animais serão eutanasiados logo que surjam quaisquer efeitos adversos ou que ponham em causa o bem-estar do animal.</p>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>	<p>Sim</p>

<b>Título do projeto</b>	Regulação neuro-imunológica como potencial alvo terapêutico	
<b>Duração do projeto</b>	5 Anos	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Comunicação neuro-imunológica, linfócitos, sistema nervoso periférico	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (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	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	<p>- Identificar os mecanismos biológicos responsáveis pela comunicação neuro-imunológica nas superfícies mucosas (em condições normais e patológicas).</p> <p>- Utilizar sinais neuronais e/ou da glia para induzir nos linfócitos uma resposta protetora dos tecidos.</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)?	O nosso objetivo é induzir, <i>in vivo</i> , os linfócitos presentes nas superfícies mucosas a desempenharem funções protetoras dos tecidos, particularmente contra doenças inflamatórias. Tal abordagem permitirá o desenvolvimento de futuras abordagens terapêuticas direcionadas para este tipo de doenças.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Murganho ( <i>Mus musculus</i> ), 4836 a 10596	
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 nível antecipado de severidade dos procedimentos experimentais é ligeiro a moderado. No final de cada experiência os animais serão eutanasiados.	

<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<p><b>1.Replacement (Substituição)</b></p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>O uso de animais é a única forma fisiológica de poder estudar o desenvolvimento de uma resposta neuroimunológica e metabólica. Atualmente, não é possível recriar este sistema numa plataforma <i>in vitro</i>.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b></p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>O número mínimo de animais a usar por condição é 5. Como estamos a lidar com um sistema biológico os resultados nunca são idênticos, mas a média dos resultados por grupo permite a consolidação dos mesmos. Serão utilizados 4 grupos (para experiências com o uso de dieta rica em gordura) ou 2 grupos (para as restantes experiências). Cada grupo é constituído por 5 animais ou 14 animais (devido a baixa eficiência experimental). Todas as experiências irão ser repetidas 3 vezes de forma independente, para assegurar a reprodutibilidade dos resultados.</p>
<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b></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>Decidimos realizar as nossas experiências em murganhos devido a vários motivos:</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1) Disponibilidade dos animais transgênicos necessários para atingir as metas do projeto</li> <li>2) Os sistemas imunológico e nervoso estão bem caracterizados neste modelo animal</li> <li>3) Alto grau de similaridade entre os sistemas imunológico e nervoso de murganho e humanos</li> <li>4) A maioria dos estudos anteriores que formam a base deste projeto foram realizados em murganho. Por forma a rentabilizar este conjunto significativo de observações, decidimos manter o mesmo modelo animal.</li> </ol> <p>Os animais serão alojados nas caixas normais com comida e água <i>ad libitum</i> e com material enriquecimento (ninho e tubo de cartão ou casinha). Sempre que forem detetados sinais de desconforto serão aplicados os limites críticos indicados em cada procedimento.</p>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>	<p>Sim</p>

Título do projeto	<b>Esquemas terapêuticos combinados para prevenção e tratamento de cancro da mama avançado</b>		
Duração do projeto	5 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Cancro da mama; metástases; progressão tumoral; terapia dirigida		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) (1)	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	Não
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	<p>O cancro da mama é o segundo tipo de cancro mais frequente no mundo e o mais frequente na mulher. Apesar de todos os avanços científicos e médicos, o cancro da mama continua a ser o quinto tipo de cancro com maior taxa de mortalidade a nível mundial, tendo sido responsável por 522 000 mortes em 2012. A principal causa de morte por cancro da mama deve-se ao desenvolvimento de metástases noutros órgãos que não a mama, sendo que 20 a 30% das mulheres que são diagnosticadas com cancro da mama em estadios iniciais irão desenvolver metástases no curso da sua doença. Estudos anteriores permitiram-nos descobrir que tumores de mama de vários sub-tipos com expressão da proteína RANK são resistentes a diferentes terapias usadas na prática clínica; e que o bloqueio farmacológico do sinal celular activado por esta proteína é capaz de sensibilizar as células a estas terapias. Desta forma, os objectivos deste projecto são: 1) testar outras combinações terapêuticas; 2) abordar o efeito de mutações frequentes em tumores da mama na eficácia das terapias; 3) testar os melhores esquemas terapêuticos em doença metastática (avançada); 4) expandir as nossas descobertas para modelos de cancro de mama com amplificação do oncogene HER2; 5) validar as descobertas em tumores</p>		

	de origem humana.
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	Este projeto contribuirá para o desenho de ensaios clínicos, que testarão as potenciais combinações terapêuticas em doentes com cancro da mama elegíveis para bloqueio da via RANK.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	1605 ratinhos imunocomprometidos
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?	Modelos de indução de tumor que se espera causem doença progressiva associada a dor moderada a longo prazo e angústia ou sofrimento, como tumores que causam caquexia, tumores com ulceração, tumores ósseos invasivos. Administração de múltiplas substâncias no mesmo procedimento, com probabilidade de causar dor leve, sofrimento ou angústia, sem danos significativos ao bem-estar ou ao estado geral dos animais. Administração frequente de substâncias que produzem efeitos clínicos moderados. O grau de severidade será ligeiro a severo, dependendo do procedimento. Os animais serão sacrificados no final das experiências.
<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<b>1.Replacement (Substituição)</b> Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Este projecto baseia-se em dados robustos obtidos em modelos <i>in vitro</i> e em modelo de peixe-zebra. No entanto, embora hoje em dia o peixe-zebra seja usado para testar compostos anti-tumorais <i>in vivo</i> , é sempre necessário realizar estudos em modelos de mamíferos, antes dos testes clínicos. A tecnologia de organóides derivados de tumores humanos representa uma ferramenta emergente para o estudo da biologia de tumores e capacidade de resposta a medicamentos, sendo útil para projetar abordagens de medicina personalizadas. No entanto, esta metodologia é muito recente e requer desenvolvimento adicional; estando ainda condicionada pelo acesso a amostras de pacientes e pela heterogeneidade intra-paciente. Portanto, embora possa representar uma ferramenta complementar para futuros ensaios clínicos, atualmente ainda não é adequada como modelo de prova de conceito. Assim, os modelos animais bem caracterizados são uma ferramenta essencial. A relevância de uma abordagem terapêutica é alcançada demonstrando efeito no tumor <i>in vivo</i> , usando regimes de tratamento clinicamente

	<p>relevantes. E o objetivo principal deste projecto é gerar justificação científica e relevância translacional antes de passar para ensaios clínicos.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b> Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>O tamanho da amostra foi calculado com recurso a testes estatísticos que garantem a detecção de efeitos de importância científica. A utilização de protocolos experimentais otimizados e animais com o mesmo background genético, permite a redução no número de animais, garantido a detecção de significância estatística.</p>
<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b> 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 estirpe escolhida é particularmente permissiva aos xenoinxertos derivados de linhas celulares. Além disso, os tumores primários humanos enxertados em ratinhos NSG retêm mais características nativas. Esta estirpe é ainda mais resistente à hidronefrose e à retenção de urina, um efeito adverso comum em ratinhos suplementados com estrogénio (necessário para o crescimento de alguns xenoinxertos).</p> <p>Os teste de eficácia <i>in vivo</i> baseiam-se historicamente em modelos de xenoinxerto. Usaremos a abordagem padrão em que as linhas celulares são crescidas subcutaneamente, e em que a inoculação bilateral aumenta o poder estatístico com o uso de menos animais.</p> <p>Os modelos experimentais de metástases incluirão a indução de metástases pulmonares e ósseas. Embora o transplante subcutâneo ectópico acima referido seja indispensável, as metástases não são frequentemente observadas nesse modelo. Portanto, experiências complementares usando modelos metastáticos são necessários neste estudo, uma vez que a maioria dos ensaios clínicos iniciais envolverá pacientes com doença metastática.</p> <p>É actualmente aceite que muitas terapias eficazes em modelos animais não demonstram eficácia em ensaios clínicos devido à falta de heterogeneidade do tumor e à ausência do microambiente humano. Assim, a utilização de xenotransplantes de tumores humanos permite recriar microambientes de tumores fisiologicamente relevantes que mimetizam os níveis de oxigénio, nutrientes e hormonas encontrados no local principal do tumor do paciente. Além disso, o tecido tumoral implantado mantém as alterações genéticas e epigenéticas encontradas no paciente e o tecido pode ser excisado do paciente para incluir o estroma humano circundante. Como resultado, vários estudos descobriram que os modelos PDX exibem respostas semelhantes aos agentes anti-tumorais no paciente real que forneceu a amostra do tumor. Este é um</p>

	modelo de validação importante para o nosso projeto. Neste projeto, o término da experiência é definido pela duração do tratamento que simula o esquema clínico de um composto ou combinação. No entanto, limites críticos estritos para cada procedimento serão implementados sempre que a dor ou angústia num animal experimental possa ser evitada, interrompida ou aliviada.
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva no final da sua realização.	

Título do projeto	<b>Modelação molecular das células do sistema imune no desenvolvimento da doença pulmonar</b>		
Duração do projeto	4 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Pulmão, Fibrose, Imune, Regeneração, Terapeutica		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) (1)	Investigação fundamental	Sim	
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
PROJECTO DE 2016	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Estudar os processos e vias de sinalização do desenvolvimento pulmonar afetados pelos macrófagos tecidulares, utilizando um modelo de rato com depleção de macrófagos. Pesquisar quais as moléculas induzidas pelos macrófagos tecidulares que regulam o desenvolvimento pulmonar. Verificar se e como macrófagos geneticamente modificados, para as moléculas que medeiam a sinalização responsável pelas funções dos macrófagos tecidulares no desenvolvimento do pulmão, melhoram a diferenciação, a maturação e a remodelação das vias aéreas, utilizando uma		

	abordagem de terapia celular em ratinhos nascidos por parto prematuro.
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)?	Esta abordagem irá permitir a compreensão de como a modulação dos mecanismos celulares através dos macrófagos, terá uma função importante na diferenciação, reparação e remodelação do pulmão pós-natal, contribuindo tanto para a ciência básica como para a medicina no geral.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	<i>Mus musculus</i> (193)
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-moderado. Os animais no final da experimentação serão sacrificados.
<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<b>1.Replacement (Substituição)</b> Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Há necessidade de utilização de modelo aproximado do humano uma vez que é objetivo identificar novas estratégias terapêuticas com possível aplicação em doenças pulmonares humanas. Serão realizados estudos <i>in vitro</i> prévios com o intuito de otimizar a utilização dos animais.
<b>2.Reduction (Redução)</b> Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Serão efetuados estudos de cultura de células para se rastrear as moléculas com maior potencial de aplicação e assim evitar o uso de mais animais, bem como a literatura relacionada já existente. Para o cálculo do número de animais a usar usou-se cálculo estatístico com recurso à ferramenta estatística G Power.
<b>3.Refinement (Refinamento)</b> 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 utilização de ratinhos permitira o acesso a animais geneticamente modificados. Serão utilizadas medidas para minimizar o sofrimento do animal, como: enriquecimento ambiental (papel e rolos papel nas gaiolas, cama de miolo de carolo); utilização de anestesia e analgesia aquando de utilização de procedimento cirúrgico; controlo de parâmetros, como temperatura e bem-estar físico geral, e seus limites críticos humanos foram estabelecidos (até mínimo de variação de 4°C da temperatura corporal, postura arqueada, pêlo eriçado, letargia e desidratação) para determinar possível sofrimento e em caso disso efetuar sacrifício.

Título do projeto	<b>Deteção imunitária de micronutrientes e biologia das mucosas</b>
Duração do projeto	60 meses

Palavras-chave (máx. 5)	Mucosa intestinal, idade precoce de vida, Infecção, cancro, IELs		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) (1)	Investigação fundamental	Sim	Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	Não
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	<p>O objetivo principal do projeto é desvendar as interações moleculares e celulares que regulam as respostas imunes, nomeadamente, em células linfoides inatas, num contexto de inflamação intestinal. Para tal, será investigada a função e a dinâmica durante a infeção por <i>Salmonella Typhimurium</i> e num contexto de cancro. Após tempos experimentais definidos, os animais infetados e controlos serão eutanasiados. As populações de células imunes no intestino serão purificadas, não só para a quantificação e caracterização como também para a análise da expressão de proteínas de superfície, produção de citocinas e proliferação celular. Adicionalmente, serão determinadas condições que promovam, regulem e, eventualmente, aumentem a eficácia deste tipo de resposta.</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 maioria das crianças morre devido a causas evitáveis / tratáveis como por exemplo devido a uma dieta rudimentar que pode resultar em complicações como a diarreia e seps neonatal.</p> <p>Por outro lado, alguns dos maiores fatores de risco do cancro do cólon estão associados à inflamação crónica (colite ulcerativa e Doença de Crohn) e ao estilo de vida, como por exemplo a alimentação.</p> <p>Ao compreendermos o papel de micronutrientes e de outros fatores, como por exemplo contaminantes do</p>		

	<p>meio ambiente, na defesa imunitária e cancro intestinal esse conhecimento permitirá esclarecer muitas dúvidas sobre o papel da interação dieta-sistema imunitário em contextos patológicos.</p> <p>Um dos principais resultados deste projeto será reunir informações valiosas sobre os mecanismos moleculares subjacentes à geração das células linfóides e à sua função num contexto de infeção intestinal e cancro do cólon.</p>
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	584 murganhos
No contexto do que é proposto fazer-se aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	<p>Nos procedimentos para testar a capacidade de resistência intestinal a agentes bacterianos e parasitários, vai-se avaliar como é que deficiências em determinados micronutrientes têm impacto no desenvolvimento/função do sistema imunitário da mucosa intestinal espera-se um grau de severidade moderado devido à escolha do modelo de infeção e aos tempos de utilização dos animais.</p> <p>Nos procedimentos para testar a susceptibilidade ao desenvolvimento de cancro colo-rectal em murganhos, induz-se carcinogénese química (Azoxymethane (AOM)/Dextran sodium sulfate (DSS)) e o grau de severidade será moderado, apesar da menor capacidade de controlo sobre o tamanho do tumor (interno) induzido quimicamente por AOM/DSS, uma vez que são aplicados limites críticos adequados.</p> <p>No procedimento para testar a capacidade de migração e colonização do intestino por precursores de linfócitos intraepiteliais, onde se fará um transplante de órgãos linfóides para a cápsula renal, espera-se um grau de severidade moderado.</p> <p>No procedimento para testar a capacidade de desenvolver precursores e linfócitos intraepiteliais intestinais em murganhos com dieta rica ou deficiente em vitamina A, espera-se um grau de severidade ligeiro pois não se antecipam efeitos adversos nos murganhos ao serem tratados com as dietas com diferentes teores de vitamina.</p> <p>No procedimento em que se estudará o impacto que a administração de micotoxinas na dieta alimentar terá no sistema imunitário no contexto mãe-filho numa fase precoce da vida, espera-se uma severidade de grau ligeiro.</p> <p>No final de cada experiência os animais serão eutanasiados.</p>
<b>Aplicação dos 3Rs</b>	

<p><b>1.Replacement (Substituição)</b> Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>O uso de animais é a única forma fisiológica para estudar <i>in vivo</i> o desenvolvimento de uma infeção, inflamação, a resposta e as interações subjacentes do sistema imunitário e, desta forma perceber de que modo o sistema imune é regulado. Além disso, o uso de modelos <i>in vivo</i> permite a indução e promoção tumoral recapitulando o processo de formação de tecido maligno que envolve, por exemplo, angiogénese e interação com o sistema imunitário. Não é possível recriar estes modelos usando um sistema <i>in vitro</i>. No entanto, esforços são feitos continuamente para encontrar alternativas ao uso de animais. A nossa estratégia inclui o uso e geração de técnicas <i>in vitro</i> de cultura de órgãos e células para tratar e dissecar processos biológicos que ocorrem no sistema imunológico. Será usado, por exemplo, organóides intestinais e cultura de células primárias para ensaios imunológicos.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b> Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>O número mínimo de animais a usar por condição é 5. Como estamos a lidar com um sistema biológico os resultados apresentam variabilidade substancial, mas a média dos resultados por grupo permite a consolidação dos mesmos. Serão utilizados 3 grupos de 5 animais/estirpe/experiência. Estes grupos consistem em um grupo controlo (injetados com PBS), um grupo de animais <i>wild-type littermates</i> e um grupo de animais <i>conditional</i> ou <i>total knockout</i>. Estas experiências serão repetidas 3 vezes para significância estatística.</p>
<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b> Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>Todos os estudos prévios que fundamentam estas experiências foram executados em murganho. Para que possa haver comparação e reprodutibilidade entre os vários estudos será necessário usar a mesma espécie animal. Sempre que se perceber que existe algum sinal de desconforto serão aplicados os <i>humane endpoints</i> (limites críticos) indicados em cada procedimento.</p>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva no final da sua realização.</p>	

Título do projeto	<b>Reparação de Hérnia Diafragmática Congénita com biomateriais em modelo porcino</b>		
Duração do projeto	4 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	Hérnia Diafragmática Congénita, prótese, malformação congénita, biomateriais.		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) (1)	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou	Sim	

	aplicada		
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Testar a aplicabilidade de novos biomateriais na reparação cirúrgica de Hérnia Diafragmática Congénita em recém-nascidos, em comparação com a prótese <i>standard</i> utilizada na prática 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)?	Com a aplicação de materiais com capacidade de biointegração, pretendemos evitar os efeitos secundários atribuíveis à cirurgia com colocação de prótese sintética (escoliose, deformações do tórax, aderências intra-abdominais), diminuindo assim a comorbilidade a longo prazo, com um aumento da qualidade de vida desde o período neonatal até à idade adulta.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	<i>Sus scrofa domesticus</i> , 25 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?	Grau moderado (animais submetidos a intervenção cirúrgica). No final do projecto os animais serão submetidos a ocisão para colheita de material biológico para análise.		
<b>Aplicação dos 3Rs</b>			
<b>1.Replacement (Substituição)</b> Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	O estudo das consequências fisiológicas da integração das próteses biocompatíveis não é passível de ser replicado em modelos <i>in vitro</i> , <i>ex vivo</i> ou modelos de simulação. Assim, não existem alternativas à utilização de modelos <i>in vivo</i> na realização do estudo em causa.		
<b>2.Reduction (Redução)</b> Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	O desenho experimental permitiu a inclusão do menor número de animais possível para obter dados estatisticamente significativos através do cálculo da amostra mínima.		

<p><b>3. Refinement (Refinamento)</b> Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>A escolha do modelo deve-se à grande semelhança que apresenta com o recém-nascido humano. Com o objectivo de reduzir o <i>stress</i> e dor intra e pós-operatória, será fornecida analgesia pré e pós-operatória, e os animais serão monitorizados diariamente. Foram estabelecidos limites críticos e será realizado enriquecimento ambiental adaptando o alojamento às necessidades dos animais.</p>
---	---

<b>Título do projeto</b>	Desenvolvimento e avaliação de novas formulações para aplicação no tratamento da osteoartrite e artrite reumatoide	
<b>Duração do projeto</b>	5 Anos	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Biomateriais, engenharia de tecidos, osteoartrite, artrite reumatoide, novas formulações.	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	Este projeto tem como principal objetivo o desenvolvimento e a avaliação de novas formulações aplicáveis no tratamento de lesões articulares associadas à osteoartrite e à artrite reumatoide.	
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)?	Se os ensaios <i>in vivo</i> confirmarem os resultados <i>in vitro</i> , as formulações desenvolvidas podem ter um grande potencial no tratamento da osteoartrite e artrite reumatoide. De facto, não existe ainda na terapêutica um tratamento que seja 100% eficaz e/ou que não tenha efeitos secundários graves. Desta forma, as formulações a testar podem contribuir para a redução eficaz da inflamação e progressão da degeneração que está associada a estas doenças.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Está prevista a utilização de cerca de 80 <i>Mus musculus</i> e 80 <i>Rattus norvegicus</i> .	
No contexto do que é proposto fazer-se aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Não se espera qualquer efeito adverso com os procedimentos a executar nos animais. O grau de severidade esperado é moderado. No final do projeto, os animais serão occisados.	
<b>Aplicação dos 3Rs</b>		
<b>1.Replacement (Substituição)</b>  Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-	Embora os sistemas <i>in vitro</i> ofereçam indicações do comportamento das estruturas de engenharia de tecidos no que refere a citotoxicidade e eventual resposta do hospedeiro, bem como ao nível da regeneração	

animais	de tecidos biológicos, não existem modelos que prevejam claramente a resposta inflamatória/imune do hospedeiro face às formulações.
<b>2.Reduction (Redução)</b> Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Com recurso a plataformas digitais de cálculo e com base nos testes anteriores realizados no nosso laboratório conseguimos calcular o número mínimo de animais para obter um poder estatístico de 0.95.
<b>3.Refinement (Refinamento)</b> Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	As espécies escolhidas baseiam-se nos modelos descritos na literatura e são consideradas as mais adequadas para esta fase do estudo. Os animais serão alojados em gaiolas apropriadas, ventiladas individualmente. Cada gaiola dispõe de uma plataforma própria que serve de esconderijo, e será enriquecida com sacos com carolo de milho e rolos de papel. Todos os animais serão monitorizados semanalmente para o bem-estar geral e alterações que possam decorrer dos procedimentos induzidos ou que surjam espontaneamente durante a vida do animal. Os animais sujeitos aos procedimentos serão monitorizados diariamente nas semanas seguintes às injeções. Todos os animais submetidos aos procedimentos de injeção serão devidamente anestesiados para minimizar o stress. Anestesia <i>Mus musculus</i> : ketamina (75mg/Kg) i.p. e medetomidina (1 mg/Kg) i.p.; Anestesia <i>Rattus norvegicus</i> : ketamina (75mg/Kg) i.p. e medetomidina (0,5mg/Kg) i.p.; Analgesia <i>Mus musculus</i> e <i>Rattus norvegicus</i> : Componente analgésica garantida pela medetomidina. Se forem identificados sinais de sofrimento, dor ou desconforto que não é aliviada com analgésicos (alterações acentuadas na aparência do pelo, feridas abertas/infetadas que não recuperam/cicatrizam, inabilidade para beber ou se alimentar, perda súbita de peso ou perda global de mais de 15-20% do peso corporal inicial) os animais serão occisados com dose letal de anestesia ( <i>humane endpoint</i> ).
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Sim

<b>Título do projeto</b>	Desenvolvimento e avaliação da eficiência de novas estratégias para o tratamento do glioblastoma	
<b>Duração do projeto</b>	5 Anos	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Biomateriais, glioblastoma, Hidrogéis, tratamento	
<b>Fim/objetivo do projeto</b> (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies	Não

	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	Este projeto tem como principal objetivo o desenvolvimento de novas estratégias aplicáveis para o tratamento do glioblastoma.	
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	A descoberta de novas terapias para serem usadas no tratamento do glioblastoma.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Está prevista a utilização de cerca de 60 murganhos.	
No contexto do que é proposto fazer-se aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Grau de severidade moderado. No final da experiência os animais serão submetidos a occisão.	
<b>Aplicação dos 3Rs</b>		
<b>1.Replacement (Substituição)</b> Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Embora os sistemas <i>in vitro</i> ofereçam indicações de resposta a terapia, estes não têm em conta o sistema complexo que é o organismo vivo.	
<b>2.Reduction (Redução)</b> Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	O número de animais a usar foi calculado usando métodos estatísticos e tendo em conta a nossa experiência no âmbito de projetos similares.	
<b>3.Refinement (Refinamento)</b> 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	A espécie escolhida baseia-se no modelo descrito na literatura e é considerada a mais adequada para esta fase do estudo. Os animais serão alojados em gaiolas apropriadas, ventiladas individualmente. Cada gaiola dispõe de uma plataforma própria que serve de esconderijo, e será enriquecida com rolos de papel. Todos os animais serão monitorizados semanalmente para o bem-estar geral e alterações que possam decorrer dos procedimentos induzidos ou que	

gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	surjam espontaneamente durante a vida do animal. Os animais sujeitos aos procedimentos 1 e 2 serão monitorizados diariamente até à ocisão dos mesmos. Todos os animais submetidos a cirurgias serão devidamente anestesiados. Anestesia: Ketamina (75mg/Kg) i.p. e Medetomidina (1 mg/Kg) i.p.; Analgesia: Componente analgésica garantida pela medetomidina. Buprenorfina (0,05 mg/Kg – cada 8/12h) s.c. e Carprofeno (2,5 – 5 mg/Kg – cada 24h max 3 dias) s.c. Se forem identificados sinais de sofrimento, dor ou desconforto que não é aliviada com analgésicos (alterações acentuadas na aparência do pelo, feridas abertas/infetadas que não recuperam/cicatrizam, incapacidade para beber ou se alimentar, perda súbita de peso ou perda global de mais de 15-20% do peso corporal inicial) os animais serão occidados com dose letal de anestesia ( <i>humane endpoint</i> ).
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Sim

<b>Título do projeto</b>	Desenvolvimento de modelos avançados para aplicação na regeneração do nervo cavernoso	
<b>Duração do projeto</b>	5 Anos	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Biomateriais, Medicina Regenerativa, Substrato fibroso, Fator de crescimento nervoso, Lesão do nervo cavernoso	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	Este projeto tem como principal objetivo a avaliação da capacidade de regeneração do nervo cavernoso por materiais já testados <i>in vitro</i> . O objetivo é avaliar as potencialidades e limitações desses materiais na regeneração de lesões do nervo cavernoso em contexto de investigação translacional.	

<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>Prevê-se que a medicina humana em contexto de medicina regenerativa poderá beneficiar em grande medida deste projeto uma vez que visa validar as estruturas tridimensionais de regeneração de tecidos de engenharia de tecidos.</p>
<p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p>	<p>Está prevista a utilização de 5 animais para experiência piloto e 50 animais para a experiência completa.</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>Não se espera qualquer efeito adverso com os procedimentos a executar nos animais. O grau de severidade esperado é moderado. No final do projeto, os animais serão occisados.</p>
<p><b>Aplicação dos 3Rs</b></p>	
<p><b>1.Replacement (Substituição)</b>  Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Embora os sistemas <i>in vitro</i> ofereçam indicações do comportamento das estruturas de engenharia de tecidos no que refere a citotoxicidade e eventual resposta do hospedeiro, bem como ao nível da regeneração de tecidos biológicos, não existem modelos que prevejam claramente a resposta inflamatória/imune do hospedeiro às estruturas para engenharia de tecidos nem a capacidade dessas mesmas estruturas de induzir a formação de tecidos biológicos específicos.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b>  Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Com recurso a plataformas digitais de cálculo e com base nos testes anteriores realizados no nosso laboratório conseguimos calcular o número mínimo de animais para obter um poder estatístico de 0.95.</p>
<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b>  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 escolhida baseia-se nos modelos descritos na literatura e é considerada a mais adequada para esta fase do estudo. Os animais serão alojados em gaiolas apropriadas, ventiladas individualmente. Cada gaiola será enriquecida com rolos de papel. Todos os animais serão monitorizados semanalmente para o bem-estar geral e alterações que possam decorrer dos procedimentos induzidos ou que surjam espontaneamente durante a vida do animal. Todos os animais submetidos a cirurgias (procedimento nº1) serão devidamente anestesiados. Anestesia: ketamine (75mg/Kg) i.p. e medetomidina (0,5mg/Kg) i.p.; Analgesia: Componente analgésica garantida pela medetomidina. No entanto, outro tipo de analgesia pode ser equacionado: Buprenorfina (0,05mg/Kg) s.c. e Carprofeno (5 mg/Kg) s.c. Se forem identificados sinais de sofrimento, dor ou desconforto que não é aliviada com analgésicos (alterações acentuadas na aparência do pelo, feridas abertas/infetadas que não recuperam/cicatrizam, incapacidade para beber ou se alimentar, perda súbita de peso ou perda global de mais de 15-20% do peso corporal inicial) os animais serão</p>

	occisados com dose letal de anestesia.  ( <i>humane endpoint</i> )
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Sim

<b>Título do projeto</b>	Avaliação da resposta de substitutos de tendão e ligamento desenvolvidos usando estratégias avançadas para a engenharia de tecidos	
<b>Duração do projeto</b>	5 Anos	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Regeneração de tendão, estruturas tridimensionais, medicina regenerativa, bioimpressão.	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	Este projeto tem como principal objetivo a avaliação da capacidade de regeneração de tendão e ligamento por materiais já testados <i>in vitro</i> . O objetivo é avaliar as potencialidades e limitações desses materiais na regeneração de lesões de tendão e ligamento em contexto de investigação translacional.	
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)?	Prevê-se que a medicina humana em contexto de medicina regenerativa poderá beneficiar em grande medida deste projeto uma vez que visa validar as estruturas tridimensionais de regeneração de tecidos através da de engenharia de tecidos.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Está prevista a utilização de 1 animal por espécie para experiência piloto e 48 ou 144 animais por espécie para a experiência completa.	
No contexto do que é proposto fazer-se aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e	Não se espera qualquer efeito adverso com os procedimentos a executar nos animais. O grau de severidade esperado é moderado. No final do projeto, os animais serão occisados.	

o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	
<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<b>1.Replacement (Substituição)</b> Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Embora os sistemas <i>in vitro</i> ofereçam indicações do comportamento das estruturas de engenharia de tecidos no que refere a citotoxicidade e eventual resposta do hospedeiro, bem como ao nível da regeneração de tecidos biológicos, não existem modelos que prevejam claramente a resposta inflamatória/imune do hospedeiro às estruturas para engenharia de tecidos nem a capacidade dessas mesmas estruturas de induzir a formação de tecidos biológicos específicos.
<b>2.Reduction (Redução)</b> Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Com recurso a plataformas de cálculo e com base nos testes anteriores realizados no nosso laboratório conseguimos calcular o número mínimo de animais para obter um poder estatístico de 0.95.  Além do cálculo efetuado, será realizada uma experiência piloto para testar a possibilidade de criação de defeitos nas duas patas traseiras dos animais (para controlo e amostra), reduzindo dessa forma o número de animais e mantendo a significância estatística.
<b>3.Refinement (Refinamento)</b> Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	As espécies escolhidas baseiam-se nos modelos descritos na literatura e são consideradas as mais adequadas para esta fase do estudo. Como elementos de enriquecimento, os animais serão alojados em grupo, usando gaiolas apropriadas. No caso dos <i>Rattus norvegicus</i> , todos os animais são alojados em gaiolas individualmente ventiladas. Todas as gaiolas de alojamento serão enriquecidas com rolos de papel como protocolado no biotério do Grupo de Investigação 3B's. No caso dos <i>Oryctolagus cuniculus</i> , cada gaiola dispõe de uma plataforma própria que serve de esconderijo, barreiras visuais e elementos para a compartimentação do espaço individual. Blocos de feno/fornagem serão fornecidos como material de aninhamento e fruta e vegetais frescos serão fornecidos como enriquecimento nutricional para cobrir a necessidade de mastigação. Será mantida a vigilância dos animais e medicação analgésica multimodal (anti-inflamatório não esteroide combinado com opióide) será administrada por um período de 4 dias após procedimento cirúrgico. Se se manifestarem sintomas de stress, desconforto ou de sofrimento dos animais durante todo o período de alojamento dos animais a analgesia será prolongada.
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Sim

<b>Título do projeto</b>	Desenvolvimento de modelos avançados para aplicação na regeneração de tecido epitelial	
<b>Duração do projeto</b>	5 Anos	
<b>Palavras-chave (máx. 5)</b>	Biomateriais, Pele, Cicatrização, Células estaminais Investigação fundamental Não	
	Investigação fundamental	Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim

<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (de acordo com Artº 5º)	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	Este projeto tem como principal objetivo a avaliação da capacidade de regeneração de lesões de pele por materiais desenvolvidos em laboratório. O objetivo é avaliar as potencialidades e limitações desses materiais no contexto de uma futura aplicação em humanos.	
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)?	Prevê-se que a medicina humana em contexto de medicina regenerativa poderá beneficiar em grande medida deste projeto uma vez que visa validar as estruturas tridimensionais de regeneração de tecidos de engenharia de tecidos	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Está prevista a utilização de cerca de 1428 ratinhos em 5 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?	Não se espera qualquer efeito adverso com os procedimentos a executar nos animais. O grau de severidade esperado é moderado. No final do projeto, os animais serão submetidos a occisão.	
<b>Aplicação dos 3Rs</b>		
<b>1.Replacement (Substituição)</b>  Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Embora os sistemas <i>in vitro</i> ofereçam indicações do comportamento de materiais de engenharia de tecidos no que refere a citotoxicidade e eventual resposta do hospedeiro, não existem modelos que prevejam de forma categórica a resposta inflamatória/imune do hospedeiro aos materiais de engenharia de tecidos nem a capacidade desses mesmos materiais de induzir regeneração.	
<b>2.Reduction (Redução)</b>  Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Com recurso a ferramentas informáticas que utilizam dados de testes anteriores realizados no nosso laboratório conseguimos calcular o número mínimo de animais para obter um grau elevado de certeza nas conclusões retiradas das observações dos efeitos dos materiais.	

<p><b>3. Refinement (Refinamento)</b></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 escolhidas baseiam-se nos modelos descritos na literatura e são consideradas as mais adequadas para esta fase do estudo. Os animais serão alojados em gaiolas apropriadas, ventiladas individualmente. Cada gaiola dispõe de uma plataforma própria que serve de esconderijo, e será enriquecida com rolos de papel. Todos os animais serão monitorizados semanalmente para o bem-estar geral e alterações que possam decorrer dos procedimentos induzidos ou que surjam espontaneamente durante a vida do animal. Os animais sujeitos a cirurgias serão monitorizados diariamente nas duas semanas seguintes à cirurgia. Todos os animais submetidos a cirurgias serão devidamente anestesiados e analgésicos. Se forem identificados sinais de sofrimento, dor ou desconforto que não é aliviada com analgésicos (alterações acentuadas na aparência do pelo, feridas abertas/infetadas que não recuperam/cicatrizam, incapacidade para beber ou se alimentar, perda súbita de peso ou perda global de mais de 15-20% do peso corporal inicial) os animais serão ocidados de forma humana.</p>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>	<p>Sim</p>

<p><b>Título do projeto</b></p>	<p>Desenvolvimento e avaliação de construções avançadas para aplicação em regeneração de osso e cartilagem</p>	
<p><b>Duração do projeto</b></p>	<p>5 Anos</p>	
<p><b>Palavras-chave (máx. 5)</b></p>	<p>Estratégias avançadas, estruturas tridimensionais, medicina regenerativa, bioimpressão, hidrogéis.</p>	
<p><b>Fim/objetivo do projeto</b>  (de acordo com Artº 5º)</p>	<p>Investigação fundamental</p>	<p>Não</p>
	<p>Investigação translacional ou aplicada</p>	<p>Sim</p>
	<p>Uso regulamentar e produção de rotina</p>	<p>Não</p>
	<p>Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais</p>	<p>Não</p>
	<p>Investigação destinada à conservação das espécies</p>	<p>Não</p>
	<p>Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais</p>	<p>Não</p>
	<p>Inquéritos no domínio da medicina legal</p>	<p>Não</p>
	<p>Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados</p>	<p>Não</p>
<p><b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)</p>	<p>Este projeto tem como principal objetivo a avaliação da capacidade de diferentes materiais já testados <i>in vitro</i> na regeneração de osso e cartilagem. O objetivo é avaliar as potencialidades e limitações desses materiais na regeneração de lesões articulares em contexto de investigação translacional.</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)?	Prevê-se que a medicina humana em contexto de medicina regenerativa poderá beneficiar em grande medida deste projeto uma vez que visa validar as estruturas tridimensionais de regeneração de tecidos através da engenharia de tecidos.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Está prevista a utilização de cerca de 64 <i>Oryctolagus cuniculus</i> e 44 <i>Rattus norvegicus</i> .
No contexto do que é proposto fazer-se aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Esperam-se efeitos adversos associados aos procedimentos cirúrgicos, efetuados sobre anestesia geral, e respetiva recuperação. O grau de severidade esperado é moderado. No final do projeto, os animais serão occisados.
<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<b>1.Replacement (Substituição)</b>  Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Embora os sistemas <i>in vitro</i> ofereçam indicações do comportamento das estruturas de engenharia de tecidos no que refere a citotoxicidade e eventual resposta do hospedeiro, bem como ao nível da regeneração de tecidos biológicos, não existem modelos que prevejam claramente a resposta inflamatória/imune do hospedeiro às estruturas para engenharia de tecidos nem a capacidade dessas mesmas estruturas de induzir a formação de tecidos biológicos específicos.
<b>2.Reduction (Redução)</b>  Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Com recurso a plataformas digitais de cálculo e com base nos testes anteriores realizados no nosso laboratório conseguimos calcular o número mínimo de animais para obter um poder estatístico de 0.95.
<b>3.Refinement (Refinamento)</b>  Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	As espécies escolhidas baseiam-se nos modelos descritos na literatura e são consideradas as mais adequadas para esta fase do estudo. No caso dos <i>Rattus norvegicus</i> , todos os animais são alojados em gaiolas individualmente ventiladas. Todas as gaiolas de alojamento serão enriquecidas com rolos de papel como protocolado no biotério do Grupo de Investigação 3B's. No caso dos <i>Oryctolagus cuniculus</i> , cada gaiola dispõe de uma plataforma própria que serve de esconderijo, barreiras visuais e elementos para a compartimentação do espaço individual. Blocos de feno/fornagem serão fornecidos como material de aninhamento e fruta e vegetais frescos serão fornecidos como enriquecimento nutricional para cobrir a necessidade de mastigação. Será mantida a vigilância dos animais e medicação analgésica multimodal (anti-inflamatório não esteroide combinado com opióide) será administrada por um período de 4 dias após procedimento cirúrgico. Se se manifestarem sintomas de stress, desconforto ou de sofrimento dos animais durante o período de alojamento dos animais, a analgesia será prolongada.
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Sim

Título do projeto	Disfunções metabólicas associadas ao tratamento farmacológico da esquizofrenia/ <i>Metabolic Dysfunctions associated with Pharmacological Treatment of Schizophrenia</i>	
Duração do projeto	5 Anos	
Palavras-chave (máx. 5)	Diabetes, doenças cardiovasculares, obesidade, fármacos anti- psicóticos	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (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	Sim
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	Os antidepressivos de segunda geração são mais eficientes no tratamento dos sintomas associados à esquizofrenia do que fármacos anteriores mas apresentam como efeitos secundários o aumento de peso e suas complicações metabólicas associadas que poderão ter um grande impacto na esperança e qualidade de vida de pacientes esquizofrénicos. Pensa-se também que sob condições de stress metabólico, como a exposição a dietas ocidentais pouco saudáveis, estes fármacos possam ter efeitos ainda mais deletérios, mas são necessários mais estudos para confirmar esta hipótese. Uma melhor compreensão dos tecidos e mecanismos que conferem esses efeitos secundários aos fármacos anti- psicóticos de segunda geração permitirá uma melhor gestão a longo prazo da saúde geral dos pacientes com esquizofrenia, e facilitará o desenvolvimento da próxima geração de medicamentos antidepressivos com efeitos secundários reduzidos.	
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)?	Através da identificação dos mecanismos moleculares subjacentes aos efeitos adversos dos fármacos anti- psicóticos de segunda geração, este projeto ajudará a desenvolver melhores estratégias de tratamento/fármacos que aumentem a qualidade de vida de pacientes esquizofrénicos.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Serão utilizados 1344 murganhos de estirpe selvagem, C57BL/6J adultos: 672 machos e 672 fêmeas	
No contexto do que é proposto fazer-se aos animais, quais são	Os animais poderão experienciar algum stress relacionado com o jejum	

os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	alimentar durante 12h, manipulações para pesagem ou administração de glicose e recolha seriada de sangue. Os animais tratados com os fármacos anti-psicóticos de 2ª geração poderão sofrer de algum grau de sedação que poderá levar a algum grau de desidratação e perda de peso devido a uma diminuição da ingestão de água e comida. O aumento de peso, se excessivo, poderá provocar alterações ao bem-estar relacionadas com o funcionamento do fígado.
<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<b>1.Replacement (Substituição)</b>  Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Como os efeitos secundários dos fármacos anti-psicóticos de segunda geração podem ser devidos a interações dos mesmos com múltiplos órgãos e tipos celulares, incluindo enterócitos, fígado, pâncreas e tecido adiposo, não é possível recriá-los sem recurso ao uso de animais vivos.
<b>2.Reduction (Redução)</b>  Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Baseado nas médias e coeficientes de variação do parâmetro que vamos testar com maior variabilidade, prevemos a utilização de 8-10 animais por grupo (usaremos 8/grupo sem insulina e 6/grupo para a sinalização da insulina). Serão utilizados machos e fêmeas devido aos estudos epidemiológicos que apontam para um efeito do sexo na amplitude dos efeitos secundários destes fármacos.
<b>3.Refinement (Refinamento)</b>  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 escolhido (murganhos C57BL/6J) tem um fenótipo pré-diabético, quando colocado a dieta rica em açúcar e/ou gordura, muito bem caracterizado. Isto permitirá detetar e quantificar os efeitos da olanzapina e do aripiprazol no desenvolvimento da obesidade e/ou anomalias metabólicas, como a resistência à insulina e a hiperlipidémia.  Outros grupos do consórcio usarão murganhos geneticamente alterados com o mesmo fundo genético e alimentados com a mesma dieta para avaliar a função macro e microvascular. O que permitirá comparações e validação dos resultados finais.  Os animais serão alojados em um ambiente enriquecido com monitorização do peso corporal, água e alimentos. Os animais serão manipulados com cuidado e acostumados ao contato próximo do investigador, de modo a não induzir desconforto durante os tratamentos e colheita de sangue.
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Não

Título do projeto	Avaliação em murganhos da resposta imunológica elicitada por adjuvantes particulados associados ou não com o antígeno da superfície do vírus da hepatite B
Duração do projeto	5 Anos
Palavras-chave (máx. 5)	Vacina; Oral; Hepatite B, Novos Adjuvantes; Terapia

<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	Desenvolver novos adjuvantes de vacinas, em particular para a vacina da hepatite B, que permitam alcançar formulações mais estáveis e eficazes em particular para vacinação profilática em países em desenvolvimento. Desenvolvimento de adjuvantes para vacina terapêutica cujos alvos serão doentes crónicos de hepatite B.	
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>Formulações mais estáveis que não necessitassem de cadeia de frio, e mais eficazes que possam ser administradas por via oral, nasal ou intradérmica, facilitariam programas de vacinação em massa em países em desenvolvimento.</p> <p>A descoberta de uma vacina terapêutica para a hepatite B seria útil para os doentes crónicos infetados pelo vírus da hepatite B, evitando a progressão da doença para cirrose e carcinoma hepatocelular.</p>	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Murganhos ( <i>Mus musculus</i> )  999 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>O procedimento 1, devido à necessidade de cinco anestésias para imobilização do animal num leitor de fluorescência que podem gerar ansiedade stress no animal, têm severidade esperada moderada.</p> <p>O procedimento 2 será de severidade ligeira.</p> <p>Nos procedimentos 3 e 4, devido às três vacinações e aos três momentos de recolha de sangue com posterior recuperação do animal, espera-se que seja um procedimento de severidade moderada.</p> <p>Em todos os procedimentos, os animais são occisados para recolha de tecidos para análise.</p>	
<b>Aplicação dos 3Rs</b>		

<p><b>1.Replacement (Substituição)</b></p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Não existem modelos não-animais capazes de mimetizar os estudos de biodistribuição nem de vacinação. A forma de obter resultados mais próximos dos que serão alcançados em humanos é testar os mesmos nanomaterias em animais de laboratório. As células do sistema imunológico, na presença de estímulos libertam determinadas substâncias ou determinadas vesículas que vão atuar noutro tipo de células do sistema imunológico, diferenciando células, produzindo anticorpos específicos do antigénio que circulam na corrente sanguínea, etc. A complexidade do sistema não permite que alguma vez tenham sido desenvolvidos modelos não-animais que mimetizam o que se passa no sistema imunológico.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b></p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>O número total de animais a serem utilizados durante os cinco anos do projeto está dependente do número de formulações selecionadas através dos ensaios em modelos não-animais para os estudos de imunização e dos controlos necessários ao estudo. No entanto espera-se testar no máximo cinco formulações particuladas diferentes.</p> <p>Apenas se os estudos de biodistribuição forem favoráveis se realizarão os estudos de vacinação com os mesmos sistemas particulados.</p> <p>Os estudos em modelos não-animais e os estudos de biodistribuição permitirão escolher qual a via de administração mais adequada teoricamente para determinada formulação, o que pode indicar que nem todas as formulações sejam testadas por todas as vias.</p> <p>Os animais serão alojados em grupos sociais onde haverá mistura de grupos aumentando o poder dos resultados e mantendo o número de animais o mais reduzido possível.</p>
<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b></p> <p>Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>Os animais, para os procedimentos descritos, após rececionados no biotério, serão sujeitos a um período de aclimação de 7 dias. Durante esse período serão manuseados pelos elementos do grupo de modo a minimizar o desconforto do manuseamento durante os procedimentos. Em todos os procedimentos, a occisão dos animais será feita por overdose anestésica seguida de deslocamento cervical. A mesma anestesia será aplicada para a recolha de sangue. No final da recolha, será aplicado polisulfato sódico de pentosano, para melhorar a cicatrização, diminuir o eventual edema e dor da picada.</p> <p>Para diminuir o desconforto e a possibilidade de magoar o animal nas administrações por gavagem oral, a administração será feita com uma sonda maleável de polipropileno.</p> <p>Nas administrações subcutâneas a injeção será feita com agulha de 27G, para minimizar o desconforto da administração.</p> <p>Na administração intradérmica será utilizado creme com lidocaína + prilocaína para anestesiá-la a pele antes da colocação das microagulhas.</p> <p>Por último, durante todos os procedimentos, os animais estarão em grupos sociais. Será colocado material de cama (carolo de milho) num saco de papel que permite o comportamento de escavar, e também de manipulação, uma vez que os animais quando introduzidos na caixa interagirão de maneira diferente com este material, desfazendo o papel</p>

	e espalhando o carolo de milho moído. Além disso, serão introduzidos rolos de papel, que permitirão aos animais brincar e esconder-se.
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Sim

Título do projeto	Desenvolvimento e avaliação de construções avançadas para aplicação em regeneração de osso e cartilagem	
Duração do projeto	5 Anos	
Palavras-chave (máx. 5)	Estratégias avançadas, estruturas tridimensionais, medicina regenerativa, bioimpressão, hidrogéis.	
<b>Fim/objetivo do projeto</b> (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	Este projeto tem como principal objetivo a avaliação da capacidade de diferentes materiais já testados <i>in vitro</i> na regeneração de osso e cartilagem. O objetivo é avaliar as potencialidades e limitações desses materiais na regeneração de lesões articulares em contexto de investigação translacional.	
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)?	Prevê-se que a medicina humana em contexto de medicina regenerativa poderá beneficiar em grande medida deste projeto uma vez que visa validar as estruturas tridimensionais de regeneração de tecidos através da engenharia de tecidos.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Está prevista a utilização de cerca de 64 <i>Oryctolagus cuniculus</i> e 44 <i>Rattus norvegicus</i> .	
No contexto do que é proposto fazer-se aos animais, quais são	Esperam-se efeitos adversos associados aos procedimentos cirúrgicos, efetuados sobre anestesia geral, e respetiva recuperação. O grau de	

os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	severidade esperado é moderado. No final do projeto, os animais serão occisados.
<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<b>1.Replacement (Substituição)</b> Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Embora os sistemas <i>in vitro</i> ofereçam indicações do comportamento das estruturas de engenharia de tecidos no que refere a citotoxicidade e eventual resposta do hospedeiro, bem como ao nível da regeneração de tecidos biológicos, não existem modelos que prevejam claramente a resposta inflamatória/imune do hospedeiro às estruturas para engenharia de tecidos nem a capacidade dessas mesmas estruturas de induzir a formação de tecidos biológicos específicos.
<b>2.Reduction (Redução)</b> Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Com recurso a plataformas digitais de cálculo (ex. G * Power 3 software)) e com base nos testes anteriores realizados no nosso laboratório conseguimos calcular o número mínimo de animais para obter um poder estatístico de 0.95.
<b>3.Refinement (Refinamento)</b> Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	As espécies escolhidas baseiam-se nos modelos descritos na literatura e são consideradas as mais adequadas para esta fase do estudo. No caso dos <i>Rattus norvegicus</i> , todos os animais são alojados em gaiolas individualmente ventiladas. Todas as gaiolas de alojamento serão enriquecidas com rolos de papel como protocolado no biotério do Grupo de Investigação 3B□s. No caso dos <i>Oryctolagus cuniculus</i> , cada gaiola dispõe de uma plataforma própria que serve de esconderijo, barreiras visuais e elementos para a compartimentação do espaço individual. Blocos de feno/forragem serão fornecidos como material de aninhamento e fruta e vegetais frescos serão fornecidos como enriquecimento nutricional para cobrir a necessidade de mastigação. Será mantida a vigilância dos animais e medicação analgésica multimodal (anti-inflamatório não esteroide combinado com opióide) será administrada por um período de 4 dias após procedimento cirúrgico. Se se manifestarem sintomas de stress, desconforto ou de sofrimento dos animais durante o período de alojamento dos animais, a analgesia será prolongada.
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Sim

Título do projeto	Ensaio de imunização para avaliação da resposta imune contra antígenos imunogénicos para desenvolvimento de potenciais alvos vacinais.	
Duração do projeto	5 Anos	
Palavras-chave (máx. 5)	Vacinas, imunogenicidade, carraças.	
	Investigação fundamental	Sim

<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (de acordo com Artº 5º)	Investigação translacional ou aplicada	Não
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	O objetivo deste procedimento consiste na avaliação de proteínas com elevado potencial para serem usadas como vacinas para a proteção de seres humanos e animais contra carraças e doenças associadas a estas.	
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	Os resultados deste projeto terão impacto no desenvolvimento de medidas de controlo de infestações de carraças e doenças associadas a carraças através da imunização de reservatórios (mamíferos) reduzindo a transmissão de agentes patogénicos em seres humanos e animais.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	<i>Mus musculus</i> ; 15 por antigénio a testar. Sendo que estimamos testar no máximo 50 antigénios nestes 5 anos com dois grupos controlo, isto equivale a 780 murganhos utilizados neste período.	
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?	Esperam-se efeitos adversos de carácter moderado.  Os animais serão eutanasiados no final do ensaio para colheita de sangue total por punção cardíaca.	
<b>Aplicação dos 3Rs</b>		
<b>1.Replacement (Substituição)</b>  Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Após análise funcional <i>in silico</i> e <i>in vitro</i> de cada um dos alvos, será necessário extrapolar para o contexto de sistema <i>in vivo</i> para avaliar a capacidade imunológica que pode conferir contra carraças e agentes patogénicos transmitidos por estas.	
<b>2.Reduction (Redução)</b>  Explique como garantirá que serão utilizados os números	Após a análise estatística, considerando grupos controlo, número de antigénios a testar, réplicas, confiança e significância obtida em dados anteriores, o número de animais a utilizar irão garantir resultados	

mínimos de animais	cientificamente válidos.
<b>3. Refinement (Refinamento)</b> Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	Serão utilizados animais consanguíneos para aumentar a reprodutibilidade da resposta entre os animais de cada grupo, não levando ao uso de mais animais para obter resultados estatisticamente aceites. A escolha de murganhos BALB/c deve-se ao facto de ser uma estirpe <i>inbred</i> e ao facto de ter uma resposta imune, baseada na produção de anticorpos, forte, estável e muito bem estudada. Esperam-se efeitos adversos de carácter ligeiro que poderão ser contornados com analgesia.
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Sim

Título do projeto	A tomada de decisão em grupos de animais: uma abordagem multidisciplinar para entender como a informação social é processada	
Duração do projeto	5 Anos	
Palavras-chave (máx. 5)	peixe zebra, <i>giant danio</i> , <i>danionella translúcida</i> , decisão em coletivos, transferência de informação	
<b>Fim/objetivo do projeto</b> (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	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	Os animais deslocam-se em grupos, desde as formigas aos seres humanos, a aprendizagem, a tomada de decisão e as capacidades cognitivas ocorrem num contexto de interação de vários cérebros. Quais são as regras dessas interações? Como é que a informação é transferida entre os vários indivíduos do coletivo? Fizemos vários avanços conceptuais e técnicos que tornam possível o progresso em direção à compreensão de como a informação social é processada. Propomos agora expandir essas ferramentas de várias maneiras.  <b>(Objectivo 1)</b> Vamos alargar os nossos modelos matemáticos para compreender melhor como é que a tomada de decisão coletiva é	

	<p>diferente em diferentes espécies animais.</p> <p><b>(Objectivo 2)</b> Vamos testar os nossos modelos matemáticos em diferentes idades dos animais e diferentes níveis de adaptação ao meio ambiente.</p> <p><b>(Objectivo 3)</b> Usando o nosso sistema de rastreamento por identificação, idtracker.ai, estudaremos como os animais não informados do grupo obtêm informações dos animais mais informados e como isso ajuda a tomar melhores decisões.</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)?	Vamos contribuir para o avanço do conhecimento fundamental sobre o comportamento social e processo de transferência de informação entre animais. As nossas experiências comportamentais irão ajudar a elucidar as regras básicas de tomada de decisões em contextos sociais. As nossas experiências de transferência de informações ajudarão a entender como os indivíduos informados no grupo influenciam os indivíduos não informados. Os nossos modelos matemáticos podem ser aplicados posteriormente ao estudo do processo de tomada de decisões de grupos de seres humanos.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Peixe zebra ( <i>Danio rerio</i> ), giant danio ( <i>Devario aequipinnatus</i> ) e <i>Danionella translucida</i> . 3040 zebrafish, 1210 giant danio e 1210 danionella. 5400 peixes no total.
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 se espera infligir qualquer sofrimento e nem se esperam efeitos adversos. Os animais serão sacrificados no final da experiência.
<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<b>1.Replacement (Substituição)</b>  Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	A nossa investigação concentra-se em entender a base comportamental e tomada de decisão em coletivos de peixes. Sendo o nosso foco o comportamento animal, as alternativas baseadas em tecidos, células isoladas ou métodos computacionais não se aplicam.
<b>2.Reduction (Redução)</b>  Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Os subprojetos apresentados aqui são altamente exploratórios e não é possível calcular o número mínimo de animais para atingir significância estatística. Para minimizar o número de animais, os experimentos são realizados iterativamente em paralelo ao desenvolvimento dos modelos matemáticos. Assim, usamos apenas o número de animais necessários para o desenvolvimento de um determinado modelo matemático.
<b>3.Refinement (Refinamento)</b>  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	Usaremos peixe-zebra, giant danio e danionella em fase juvenil.  A vantagem de usar essas três espécies é que elas mostram comportamentos diferentes quando se deslocam em grupos, condição necessária para testar se os modelos desenvolvidos são gerais entre as espécies. A vantagem de usar o peixe-zebra é que ele é um modelo animal muito bem estabelecido no campo da neurociência e do comportamento, com vários modelos genéticos já desenvolvidos. Os

gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	modelos matemáticos desenvolvidos nesses projetos para o peixe-zebra do tipo selvagem nos ajudarão a entender o comportamento de outros modelos de peixe-zebra com diferentes distúrbios comportamentais. A vantagem de usar danionella é que eles são transparentes na idade adulta e acreditamos que se tornará um modelo padrão para a neurociência social, uma vez que novas técnicas de imagem para este animal estão sendo desenvolvidas por diferentes laboratórios. A vantagem de usar danio gigante é que, sendo da mesma família dos danionella e dos peixes-zebra, eles mostram formas muito diferentes de comportamento coletivo, o que o torna um bom modelo animal para testar nossos modelos matemáticos.
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Não

Título do projeto	Modulação farmacológica da inflamação associada à Doença Inflamatória Intestinal: um modelo de colite experimental em roedores	
Duração do projeto	4 Anos	
Palavras-chave (máx. 5)	Doença Inflamatória Intestinal, colite induzida por TNBS	
<b>Fim/objetivo do projeto</b> (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	Validação de um modelo animal crónico de colite experimental induzida quimicamente com TNBS  Avaliação da influência de novas abordagens farmacológicas na doença inflamatória intestinal	

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 desenvolvimento de um modelo de colite crónica permitirá testar novas abordagens terapêuticas numa doença que atualmente apresenta um arsenal terapêutico sem capacidade de reverter ou modificar o mecanismo patogénico subjacente. Inclusivamente, o seu uso pode resultar em efeitos adversos graves e outras complicações. Pretende-se assim contribuir para um tratamento mais eficaz e seguro do que o atualmente conhecimento.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Murganhos CD-1 fêmeas (n=210)
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>Espera-se que os animais percam peso, apresentem morbilidade e diarreia ligeira a moderada.</p> <p>No final os animais serão sacrificados com sobredosagem de anestésico e deslocamento da cervical</p>
<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<b>1.Replacement (Substituição)</b> Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	No contexto de avaliação dos efeitos sistémicos de uma terapia farmacológica, os modelos <i>in vitro</i> não permitem a obtenção de resultados robustos com vista à translação para humanos.
<b>2.Reduction (Redução)</b> Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	De acordo com a experiência da equipa de investigação em experimentação animal e respetiva certificação, este ponto será assegurado.
<b>3.Refinement (Refinamento)</b> 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>Espécie apresenta semelhanças anatómicas e fisiopatológicas da doença similares com a espécie humana, permitindo assim sugerir a extrapolação dos resultados.</p> <p>Os murganhos CD-1 serão anestesiados e avaliados diariamente em termos de peso e morbilidade.</p>
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Não

Título do projeto	Estudo do papel do gene do ácido biliar CYP8B1 no metabolismo da glicose	
Duração do projeto	1 Ano	
Palavras-chave (máx. 5)	Modelo de murganhos, ácidos biliares, murganhos livres de microrganismos, metabolismo da glicose, sensibilidade à insulina.	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (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	Sim
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	Estudos publicados anteriormente demonstraram que a deleção do gene CYP8B1 aumenta a sensibilidade à insulina, contribuindo para um melhoramento do metabolismo da glicose. Contudo, os mecanismos que levam a estes efeitos benéficos são ainda desconhecidos. O CYP8B1 é um gene da via de síntese de ácidos biliares e os ácidos biliares são conhecidos pela sua capacidade de modular a composição do microbioma intestinal. Neste contexto, o objetivo específico deste trabalho é determinar se o efeito benéfico resultante da deleção do gene CYP8B1 na sensibilidade à insulina é, em parte, modulado pelo microbioma intestinal.	
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	A diabetes é uma das principais causas de morbilidade e mortalidade em todo o mundo. No entanto, tal como evidenciado pela atual epidemia global da diabetes, as terapias disponíveis para o tratamento desta doença são ineficazes. Assim, é essencial que se identifiquem novos alvos terapêuticos que possam travar esta doença de forma eficaz. Os trabalhos de investigação realizados no nosso laboratório levaram à descoberta que a redução dos níveis de expressão do gene CYP8B1 protege de forma significativa contra a diabetes pelo aumento da sensibilidade à insulina. Com o presente trabalho, pretendemos entender os mecanismo que levam este fenótipo de proteção contra a diabetes e consequentemente contribuir para a identificação e para o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas que possam combater esta doença.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Murganhos de laboratório ( <i>Mus musculus</i> ); 60. Na eventualidade das experiências terem de ser repetidas (caso se observe uma forte tendência nos resultados, mas sem significância estatística) um segundo coorte de 40 animais, 20 machos (10 Cyp8b1+/+ e 10 Cyp8b1-/-) e 20 fêmeas (10 Cyp8b1+/+ e 10 Cyp8b1-/-) será gerado e utilizado nos procedimentos descritos. Animais Cyp8b1-/- não	

	expressam o gene CYP8B1. Os animais Cyp8b1+/+ expressam esse gene, sendo o grupo controlo da experiência.
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?	Neste trabalho vamos investigar o papel do gene CYP8B1 no metabolismo da glicose. Para tal, iremos utilizar murganhos que não expressam esse gene (são por isso Cyp8b1-/-). Cyp8b1 é um gene envolvido na via de síntese dos ácidos biliares, que é responsável pela síntese do ácido cólico. Na ausência de Cyp8b1, o ácido cólico não é sintetizado e há um aumento na síntese do ácido quenodesoxicólico. Esta alteração na síntese e composição de ácidos biliares resulta não só numa maior sensibilidade à insulina e melhor tolerância à glicose mas também na diminuição de lesões ateroscleróticas, menor acumulação de gordura no fígado e menor suscetibilidade à ocorrência de AVC. Todos estes fenótipos são benéficos e, até o momento, nenhum fenótipo adverso foi identificado nos murganhos Cyp8b1-/- . Neste sentido, não esperamos qualquer efeito adverso resultante das experiências que vamos realizar com os animais Cyp8b1-/- livres de microrganismos. Para além disso, em estudos prévios realizados pelo nosso laboratório, todos as experiências já foram realizadas nos murganhos Cyp8b1-/- convencionais (com flora intestinal) e não foram observados efeitos adversos. No final do projeto, os animais serão eutanasiados e os tecidos serão coletados para fazer vários tipos de análises para se perceber o papel deste gene no metabolismo da glicose.
<b>Aplicação dos 3Rs</b>	
<b>1.Replacement (Substituição)</b>  Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Os objetivos propostos neste projeto não podem ser alcançados usando métodos alternativos, pois pretendemos estudar o impacto da perda do gene CYP8B1 no metabolismo da glicose. Neste contexto, vamos avaliar os efeitos sistémicos da exclusão do nosso gene alvo, e esses estudos são impossíveis em sistemas <i>in vitro</i> , ou mesmo em sistemas <i>ex vivo</i> . Objetivamente, propomos avaliar o impacto da inibição sistémica do gene CYP8B1, em conjunto com a presença ou ausência do microbioma intestinal, no metabolismo da glicose mediado pelo fígado, pâncreas, músculo-esquelético, tecido adiposo e/ou cérebro. Assim, este estudo pode apenas ser realizado recorrendo ao uso de animais. Contudo, também considerámos a utilização de organóides derivados de células iPS (células estaminais pluripotentes induzidas). No entanto, atualmente não existem sistemas que permitam a comunicação entre diferentes organóides, o que seria estritamente necessário para os nossos estudos. Além disso, não é possível analisar o microbioma intestinal de forma precisa usando abordagens <i>in vitro</i> .
<b>2.Reduction (Redução)</b>  Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	De forma a efetuar os estudos propostos no procedimento 1 e no procedimento 2 estimamos utilizar um total de 60 murganhos. Para o procedimento 1, utilizaremos 1 coorte composto por 40 animais, 20 machos (10 Cyp8b1+/+ e 10 Cyp8b1-/-) e 20 fêmeas (10 Cyp8b1+/+ e 10 Cyp8b1-/-). Para o procedimento 2 utilizaremos 1 coorte de 20 machos livres de microrganismos. Os murganhos a serem utilizados nos procedimentos 1 e 2 serão gerados pelo cruzamento de murganhos heterozigotas para o gene CYP8B1 (Cyp8b1+/- machos e Cyp8b1+/- fêmeas). Na eventualidade das experiências terem de ser repetidas (caso se observe uma forte tendência nos resultados, mas sem significância estatística) um segundo coorte de 40 murganhos, 20 machos (10 Cyp8b1+/+ e 10 Cyp8b1-/-) e 20 fêmeas (10 Cyp8b1+/+ e

	<p>10 Cyp8b1-/-) será gerado e utilizado nos procedimentos descritos. O número total de animais aqui apresentado, e que pensamos ser absolutamente necessários para a realização deste projeto, foi estimado com base em estudos realizados anteriormente pelo nosso grupo. Grande parte do trabalho de investigação realizado no nosso laboratório recorre à utilização do murganhos Cyp8b1+/+ e Cyp8b1-/. Portanto, todas as experiências aqui propostas, e que queremos realizar em murganhos Cyp8b1+/+ e Cyp8b1-/- livres de microrganismos, foram já realizadas por nós em murganhos Cyp8b1+/+ e Cyp8b1-/- convencionais (com flora intestinal). As nossas análises mostraram, de forma consistente, que são necessários 8-10 animais por genótipo (nos grupos Cyp8b1+/+ e Cyp8b1-/-) para que se observem diferenças estatisticamente significativas nos fenótipos relacionados com o metabolismo da glicose. Se os resultados obtidos com o primeiro coorte, 20 machos (10 Cyp8b1+/+ e 10 Cyp8b1-/-) e 20 fêmeas (10 Cyp8b1+/+ e 10 Cyp8b1-/-), forem consistentes e estatisticamente válidos, o segundo coorte não será gerado. Tanto quanto sabemos, somos o único grupo de investigação a utilizar murganhos Cyp8b1-/- para investigar o efeito do microbioma intestinal nos fenótipos relacionados com o metabolismo da glicose. Para o sucesso do nosso projeto consideramos necessário o uso de murganhos Cyp8b1-/- livres de microrganismos. No final, os dados obtidos nos estudos com estes animais fornecerão novo conhecimento científico de grande relevância na área da diabetes e do metabolismo da glucose e da insulina em geral.</p>
<p><b>3. Refinement (Refinamento)</b></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>Neste trabalho optamos por usar murganhos devido ao facto de que as vias de sinalização de ácidos biliares nestes animais são relativamente semelhantes aos humanos. Para além disso, são muito mais económicos em termos de tempo e custo em comparação com modelos primatas não humanos com vias de ácidos biliares mais semelhantes. Em estudos que realizámos anteriormente, administrámos antibióticos a murganhos Cyp8b1-/- para simular, em parte, o efeito da ausência de microrganismos nos fenótipos do metabolismo da glicose. Os nossos resultados sugerem que o microbioma modula os fenótipos de sensibilidade à insulina nos animais Cyp8b1-/. No entanto, apesar de termos administrado antibióticos de largo espectro, as bactérias não foram totalmente removidas por esses antibióticos e, portanto, pretendemos gerar murganhos Cyp8b1-/- totalmente livres de microrganismos para confirmar definitivamente os nossos resultados iniciais. Utilizaremos os murganhos Cyp8b1-/-, gerados isentos de qualquer microrganismo, para avaliar a tolerância à glicose, a sensibilidade à insulina, a absorção de gordura da dieta, o perfil de ácidos biliares, os níveis de metabolitos plasmáticos e a sinalização da insulina no músculo-esquelético. A compreensão desses parâmetros permitirá definir o mecanismo subjacente ao impacto da inibição do gene CYP8B1 no aumento da sensibilidade à insulina. Para os testes de tolerância à insulina e à glicose, o sangue será coletado da veia da cauda. Os murganhos serão usados numa experiência onde serão coletados volumes sempre inferiores a 200 µl de sangue (1/10 de volume sanguíneo do animal) e só voltarão a ser usados na experiência duas semanas depois, de forma a recuperarem os níveis de sangue. Toda a dieta e a água serão fornecidas <i>ad libitum</i>. Excecionalmente, os murganhos serão colocados em jejum (4 a 6 horas) antes de serem</p>

	testados para a tolerância à glicose e à insulina. Somente indivíduos com experiência em gavagem, em injeções intra-peritoneais e colheita de sangue realizarão os procedimentos nos animais.
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Sim

Título do projeto	Estudo multicêntrico sobre <i>Echinococcus multilocularis</i> e <i>Echinococcus granulosus</i> s.l. na Europa: desenvolvimento e harmonização de métodos de diagnóstico na cadeia alimentar (MEME)	
Duração do projeto	30 Meses	
Palavras-chave (máx. 5)	Echinoccus, Europa, Diagnóstico	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (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	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
<b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)	O Projeto MEME irá focar-se na padronização e validação dos métodos parasitológicos e moleculares existentes e recentemente desenvolvidos para detetar quer <i>Echinococcus multiloculares</i> (EM) quer <i>Echinococcus granulosus</i> s.l. na cadeia alimentar e no hospedeiro intermediário através da descoberta de biomarcadores por análise proteómica de exossomas no plasma de ovinos. Serão recolhidos dados epidemiológicos sobre a presença de ovos de Em/Eg em vegetais para consumo e nas fezes de cães, e através de um questionário a doentes com CE e AE. Serão organizados testes de proficiência parasitológicos e moleculares, após organização de formação específica através de visitas científicas entre os laboratórios da rede. No seu todo, o Projeto MEME fornecerá uma conjunto abrangente de atividades integrativas relevantes que permitirão às organizações parceiras harmonizar procedimentos, melhorar a deteção de Eg e Em e definir estratégias de controlo com base na ocorrência desses agentes patogénicos na cadeia alimentar e na importância relativa dos alimentos na sua transmissão.	

<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 modelo experimental em ovinos será utilizado para produzir material necessário para a descoberta de biomarcadores de infeção, através da análise de proteómica de exossomas do plasma. Um recente estudo de proteómica em exossomas isolados do plasma de doentes com CE, realizado em projeto europeu anterior identificou potenciais biomarcadores de viabilidade do quisto hidático. O objetivo desta tarefa é analisar o perfil proteómico dos exossomas obtidos a partir de plasma de ovelhas infetadas com CE e de um grupo controlo de ovinos não infetados, mantidos em ambiente controlado, o que permitirá explorar a presença de potenciais biomarcadores no hospedeiro intermediário natural, com a utilização dum número muito pequeno de animais (N=10 por grupo). Os quistos de CE obtidos após o abate de animais fornecerão material de referência para análises moleculares, formação e testes de proficiência. Nenhum tratamento será aplicado aos animais infetados e de controlo. A infeção com CE em ovinos geralmente não produz nenhum problema de bem-estar evidente para os animais. Os animais serão sacrificados humanamente no final da experiência, de acordo com o Regulamento (CE) 1099/2009 de 24 de setembro de 2009 relativo à proteção dos animais no momento da occisão. A análise proteómica será conduzida pelo coordenador do MEME.</p>
<p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p>	<p>20 Ovinos</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>Nenhum dos procedimentos deste estudo terá efeitos adversos e não se espera que inflijam mais do que desconforto ligeiro (colheita de sangue, injeção intraruminal e ecografia. Os animais serão eutanasiados em centro de abate autorizado.</p>
<p><b>Aplicação dos 3Rs</b></p>	
<p><b>1.Replacement (Substituição)</b></p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Os ruminantes domésticos, particularmente os ovinos, mas também os ungulados selvagens são os hospedeiros intermediários naturais de <i>E. granulosus</i>, que como os humanos, adquirem a infeção pela ingestão de ovos do parasita e desenvolvem quistos hidáticos no fígado, pulmões e outros órgãos. Os pequenos mamíferos de laboratório, como os ratinhos, ratos ou coelhos não são hospedeiros intermediários naturais do parasita, como tal, a infeção oral com os ovos do parasita não resulta no desenvolvimento de quistos no fígado, pulmões e outros órgãos, ao contrário do que acontece nos ungulados e humanos. Esses animais de laboratório poderão desenvolver pequenos quistos se inoculados intraperitonealmente, com os protoscólices contidos nos quistos, mas esse modelo não se assemelha à infeção que ocorre em humanos e hospedeiros intermediários naturais, pois o animal não é exposto à forma infetante natural (ovo contendo a larva do parasita) que migra e depois desenvolve um quisto totalmente estruturado no órgão alvo. Foi publicado recentemente um modelo de equinocose quística hepática por meio de injeção de protoscólices através da veia porta, mas esse modelo é muito invasivo, trabalhoso e ainda não permite averiguar as diferenças e semelhanças em comparação ao</p>

	modelo de infeção natural em ovinos. Deste modo, continua a existir a necessidade de métodos de diagnóstico para identificar humanos e animais infetados com quistos viáveis, não sendo, até ao momento, usar outros modelos animais, como ratos, ratinhos ou coelhos.
<b>2.Reduction (Redução)</b>  Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	São necessários no mínimo 3 animais (3 infetados e 3 controlos numa proporção mínima de 1:1) para calcular um desvio padrão adequado dos resultados. Um mínimo de 3 réplicas da mesma experiência é necessário para a análise proteómica. Isto resulta num número total mínimo de animais necessários de 9 por grupo. Prevemos usar 10 animais por grupo para explicar mortes não relacionadas à infeção.
<b>3.Refinement (Refinamento)</b>  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 borregos nascidos no efetivo de ovinos Merino desta instituição serão infetados com 4-6 meses de idade, Os animais serão infetados por via intra-ruminal com 1000 ovos de <i>E. granulosos</i> . As amostras de sangue (máximo de 20 ml) serão colhidas aos 6, 9 e 12 meses pós-infeção para obter plasma. O sangue também será colhido no momento da eutanásia animal, 12 meses pós-infeção. O fígado, rins, baço e pulmões serão removidos e completamente explorados, em ambiente asséptico, para a pesquisa de quistos hidáticos.
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Não.

Título do projeto	Estudo do papel do RKIP na progressão e resposta a terapias em tumores sólidos	
Duração do projeto	5 Anos	
Palavras-chave (máx. 5)	Biomarcador; Cancro; Metastização; RKIP; Terapias Moleculares Dirigidas	
<b>Fim/objetivo do projeto</b>  (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim
	Investigação translacional ou aplicada	Sim
	Uso regulamentar e produção de rotina	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Não

<p><b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)</p>	<p>Com este projeto pretendemos compreender o efeito da proteína RKIP no desenvolvimento e progressão de tumores sólidos, bem como, investigar o possível papel desta proteína como modeladora de resposta a terapias anti-HER (Human Epidermal Growth factor Receptor).</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>Com esta abordagem esperamos compreender o papel do RKIP na progressão tumoral e processo de metastização dando novas informações para o estudo de estratégias eficazes para reverter o fenótipo de agressividade que tem sido reportado e associado à sua ausência. Mais ainda, ambicionamos contribuir para a prática clínica com a identificação de um biomarcador preditor de resposta que permita a seleção dos pacientes que mais beneficiam do tratamento com estas terapias.</p>
<p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p>	<p>Murganhos 640.</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>Não são espectáveis efeitos adversos e o grau de severidade é moderado. No final das experiências será realizada a ocisão dos animais, e os tumores serão recolhidos numa primeira fase para avaliação e caracterização do seu fenótipo de modo a perceber qual a influência da ausência da proteína em estudo. Outros órgãos, como os nódulos linfáticos serão também recolhidos para análise já que pretendemos estudar a metastização.</p>
<p><b>Aplicação dos 3Rs</b></p>	
<p><b>1.Replacement (Substituição)</b>  Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Tendo em conta os objetivos que temos vindo a descrever, principalmente a ambição da translação para a clínica quer do uso do RKIP como biomarcador quer do uso das terapias anti-HER (Human Epidermal Growth factor Receptor), há necessidade de utilizar um modelo aproximado do humano, neste caso, os murganhos. Mais ainda, o estudo do papel do RKIP no processo de mestatização não é possível usando nenhum modelo <i>in vitro</i>.</p>
<p><b>2.Reduction (Redução)</b>  Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>O número de animais a usar foi calculado usando métodos estatísticos e tendo em conta a nossa experiência no âmbito de projetos similares. Ainda assim, vão ser realizados estudos <i>in vitro</i> com um número abrangente de linhas celulares e diferentes fármacos que nos vão permitir pré-selecionar linhas celulares e fármacos onde será mais interessante desenvolver as experiências <i>in vivo</i> e assim reduzir o número de animais a ser utilizado.</p>

<p><b>3. Refinement (Refinamento)</b></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>Serão utilizadas medidas para minimizar o sofrimento do animal, como: enriquecimento ambiental (papel para ninho e esconderijo nas gaiolas,); utilização de anestesia e analgesia aquando de utilização de procedimento cirúrgico; controlo de parâmetros, como temperatura, peso e bem-estar físico geral, (postura arqueada, pelo eriçado, letargia e desidratação) para antecipar possível sofrimento e quando necessário realizar occisão, aplicando assim limites críticos humanos.</p>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>	<p>Sim.</p>

<p>Título do projeto</p>	<p>A influência do fitness celular durante o desenvolvimento de metástases</p>	
<p>Duração do projeto</p>	<p>5 Anos</p>	
<p>Palavras-chave (máx. 5)</p>	<p>cancro; metástase; competição celular.</p>	
<p><b>Fim/objetivo do projeto</b> (de acordo com Artº 5º)</p>	<p>Investigação fundamental</p>	<p>Sim</p>
	<p>Investigação translacional ou aplicada</p>	<p>Sim</p>
	<p>Uso regulamentar e produção de rotina</p>	<p>Não</p>
	<p>Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais</p>	<p>Não</p>
	<p>Investigação destinada à conservação das espécies</p>	<p>Não</p>
	<p>Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais</p>	<p>Não</p>
	<p>Inquéritos no domínio da medicina legal</p>	<p>Não</p>
	<p>Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados</p>	<p>Sim</p>
<p><b>Descreva os Objetivos do Projeto</b> (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc.)</p>	<p>Este projeto pretende resolver um aspeto controverso da biologia de tumores que é a necessidade do tumor de destruir tecidos adjacentes para se poder expandir. A nossa hipótese é que o fitness do tecido do hospedeiro poderá contribuir para a progressão tumoral e o tropismo das metástases. Os nossos resultados em <i>Drosophila melanogaster</i> e <i>Mus musculus</i> mostram a função conservada do gene <i>flower</i>, em que uma subexpressão de <i>flower</i> leva a uma menor suscetibilidade do hospedeiro a desenvolver tumores primários. A proteína transmembranar <i>Flower</i> sinaliza o <i>fitness</i> das células e permite por competição celular eliminar células menos <i>fit</i> promovendo assim a homeostase do tecido. O envelhecimento é um fator de risco para o aparecimento de doenças e tem sido relacionado com competição celular como um fator de decaimento do <i>fitness</i> celular. Células subótimas são caracterizadas pela expressão da isoforma <i>lose</i> do marcador <i>Flower</i>, que sendo sinalizadas são eliminadas. Considerando</p>	

	<p>que a idade é um fator de risco para o desenvolvimento de cancro, iremos avaliar se um aumento de células subótimas relacionadas com o envelhecimento poderá levar a um aumento de expressão de <i>flower lose</i> em ratinhos velhos, o que poderá promover o aparecimento de metástases.</p> <p>No contexto de competição mediada por <i>flower</i>, o nosso objectivo é: 1- Avaliar o padrão de expressão das isoformas de <i>Flower</i> durante o envelhecimento em murganhos C57BL/6J. 2- Avaliar se a ausência de <i>Flower</i> afeta o tempo de vida dos murganhos ao utilizar o nosso modelo que constitutivamente não expressa o gene <i>flower</i> (mFwe-KO). 3- Avaliar se o <i>fitness</i> celular afeta o desenvolvimento de tumores metastáticos, ao utilizar o nosso modelo mFweKO.</p> <p>4- Identificar novos intervenientes na competição mediada por <i>Flower</i> no tumor metastático, ao utilizar dois modelos de murganho gerados: Alb-Cre loxP-Fwe e Fwe-KO Rag1-KO.</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>Com este estudo iremos contribuir para decifrar mecanismos que permitam o reconhecimento e eliminação de células subótimas durante a expansão do tumor, desenvolvendo novos marcadores preditivos e de prognóstico.</p> <p>O projeto irá providenciar novos dados sobre a patologia e fisiologia de tumores metastáticos, assim como a oportunidade de providenciar o racional para o desenvolvimento de um novo marcador, <i>Flower</i>, para monitorização de tumores e tratamentos de pacientes com tumores avançados.</p>
<p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p>	<p>Murganhos, 1000</p>
<p>No contexto do que é proposto fazer-se aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?</p>	<p>Os animais poderão sofrer desconforto moderado resultante da injeção e crescimento de tumores.</p> <p>No fim do projeto os animais serão sacrificados e certos órgãos serão isolados e analisados conforme necessário.</p>
<p><b>Aplicação dos 3Rs</b></p>	
<p><b>1.Replacement (Substituição)</b></p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Porque atualmente a complexidade da biologia tumoral não permite usar apenas modelos não-animais.</p>

<p><b>2.Reduction (Redução)</b></p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Análise e planeamento estatístico, bem estudados para este tipo de patologia, irão garantir o número mínimo de animais necessários ao estudo.</p>
<p><b>3.Refinement (Refinamento)</b></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>Murganhos são o modelo mais frequentemente estudado e caracterizado em biologia tumoral e em resposta ao tratamento.</p> <p>Os animais serão monitorizados para detetar sinais de desconforto ou stress. Terapia analgésica será administrada em caso de procedimentos ou dor.</p>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>	<p>Sim.</p>