

RESUMOS NÃO TÉCNICOS DE PROJETOS CIENTÍFICOS AUTORIZADOS EM 2021

Atualizado a 22/01/2021

Título do projeto	Investigação de antioxidantes direcionados para a mitocôndria inovadores para introdução para potenciais terapias para doenças associadas ao envelhecimento e à cardiomiopatia associada ao uso de antraciclinas	
Duração do projeto	24 meses	
Palavras-chave	Envelhecimento cognitivo e motor; cardiomiopatia induzida por Antraciclinas; Mitocôndria; Solução Terapêutica; Antioxidantes	
Fim/objetivo do projeto (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
Descrição dos objetivos do projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Validar num modelo animal o pressuposto já verificado <i>in vitro</i> de que antioxidantes com atividade mitocôndrica possam ser usados para melhorar o fenótipo relacionado com doenças neurodegenerativas, como a Doença de Parkinson (PD) e Doença de Huntington (HD). Assim os efeitos da administração dos antioxidantes será avaliado ao nível do metabolismo do cérebro, do stress oxidativo e da função da mitocôndria, assim como a sua capacidade para prevenir o aparecimento dos sinais metabólicos associados a doenças neurodegenerativas, como a PD e HD. Da mesma forma, pretende-se validar num modelo animal o pressuposto já verificado <i>in vitro</i> de que antioxidantes com atividade mitocondriotrópica possam ser usados para melhorar o fenótipo relacionado com a cardiotoxicidade induzida por antraciclinas (CIA) (doxorubicina) sem apresentarem efeitos negativos em animais controlo. Assim, os efeitos da administração dos antioxidantes será avaliado ao nível do metabolismo cardíaco, do stress oxidativo e da função da mitocôndria, assim como a sua capacidade para prevenir o aparecimento dos sinais metabólicos associados à toxicidade induzida por antraciclinas.	
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres	Atualmente, não existe qualquer terapia eficaz para prevenção ou tratamento de patologias associadas ao envelhecimento ou à cardiotoxicidade induzida por antraciclinas (doxorubicina), sendo algumas delas consideradas doenças órfãs pela FDA, tais como a HD e CIA (artrite	

1 / 13

<p>humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?</p>	<p>induzida por colagénio).</p> <p>Estas moléculas em estudo, pelo facto de serem direcionadas para as mitocôndrias, apresentam vantagens relativamente aos restantes antioxidantes da dieta pois a conjugação do core antioxidante com o catião de trifetilfosfina permite ultrapassar as desvantagens farmacocinéticas associadas aos mesmos. Outros antioxidantes direcionados para a mitocôndria, como por exemplo o MitoQ ou SkQ1, mostraram efeitos benéficos em diversos modelos animais devido à sua capacidade free-radical scavenger. A atividade antioxidante das moléculas em estudo contempla não só a capacidade de quelatar metais de transição (Cu⁺ e Fe²⁺), inibir a peroxidação lipídica e a modelação da expressão génica de genes relacionados com as defesas antioxidantes. De factoevidências <i>in vitro</i> mostram que estas moléculas antioxidantes multifuncionais direcionados às mitocôndrias (MTAG6 e MTAG31) podem desencadear respostas ao stress oxidativo e contribuir para proteção das células atravésde mecanismos de inibição do excesso de produção de ROS mitocondrial. O aumento das defesas antioxidantes enzimáticas e não-enzimáticas, assim como, a indução de processos de auto(fagia) que culminam numa melhoria da função da mitocôndria evidenciam a pluripotencia destas moléculas no combate ao stress oxidativo. Consequentemente, estas moléculas podem ser também utilizadas em outras doenças associadas ao stress oxidativo e/ou disfunção mitocondrial. Esta nova classe de antioxidantes pode ser utilizada num futuro próximo coo potentes e seletivos agentes na prevenção/tratamento de doenças neurodegenerativas, como PD ou HD, ou agentes cardioprotetores especificamente usando a mitocôndria como alvo, melhorando a qualidade de vida dos doentes.</p>
<p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p>	<p>112 Murganhos C57BL/6J e 10 B6CBA-R6/2 (animais geneticamente modificados) e 10 wt noncarrier respetivo.</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>Nos procedimentos 1 e 2, serão usados murganhos C56BL/6 para avaliar a máxima dose tolerável, assim como, a ausência de efeitos tóxicos após uma administração prolongada dos antioxidantes em estudo via oral. Poderão surgir efeitos adversos associados à toxicidade das moléculas. Nos procedimentos 3 e 5, serão usados murganhos C56BL/6 para avaliar a eficácia das moléculas contra os efeitos induzidos pela DOX e MPTP. É expetável que surjam efeitos associados à cardiomiopatia induzida por antraciclina e à PD. Ainda assim, poderão surgir no procedimento 5 complicações hepáticas resultantes do uso de DOX, No procedimento 4, os efeitos adversos resultarão da demonstração do fenótipo dos animais geneticamente alterados. Estes efeitos mimetizam a doença no homem sendo o principal objetivo da experiência verificar a capacidade dos antioxidantes para minimizar/reverter estes sinais. Os procedimentos poderão variar entre ligeiro (Procedimentos 3 e 5) e Moderado a Severo (Procedimentos 1, 2 e 4). No final da realização do procedimento experimental os animais serão eutanasiados por deslocamento cervical seguido de decapitação e os seus tecidos recolhidos para análise metabólica.</p>
<p>Aplicação dos 3Rs</p>	

<p>1.Replacement (Substituição)</p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Foram utilizados dois modelos celulares (células humanas de neuroblastoma (SHSy-5y) e mioblastos de rato (H9c2)) para avaliar a toxicidade e efeito protetor dos diferentes antioxidantes previamente sintetizados na presença ou ausência de agentes indutores de stress oxidativo. Apenas os compostos Mitotag que mostraram efeitos benéficos contra as alterações do fenótipo mitocondrial encontradas nos diferentes modelos celulares serão avaliados no respetivo modelo animal que mimetize o fenótipo de envelhecimento ou cardiomiopatia. Posterior à prova de conceito em diferentes modelos celulares, inevitavelmente, a mesma prova de conceito deve ser realizada num modelo animal. Os antioxidantes mitocondriotópicos desenvolvidos evidenciaram efeitos benéficos em teste <i>in vitro</i>, contudo ainda não é totalmente claro se o seu modo de ação é devido apenas às suas propriedades de free radical scavenger, ou se uma administração prolongada no tempo pode alterar o metabolismo celular e a expressão génica. Serão usados Wild-Type C57BL/6J mice para aferir a máxima dose tolerada injetável via ip, assim como, a ausência de efeitos tóxicos após uma administração prolongada dos antioxidantes em estudo, via oral. O modelo animal C56BL/6 mice com 8 semanas aproximadamente, em que é feita uma administração única intranasal de MPTP num regime subagudo com uma dosagem de 1 mg/narina é usado para mimetizar muito fenótipos relacionados com a PD. O modelo animal transgénico R6/2 (B6CBA-Tg (HDexon1) 62Gpb/3J) que expressa o exon 1 do gene da huntingtina humana com 120+/- 5 CAGs são um modelo de HD com início rápido dos sintomas, sendo os mais frequentemente usados em ambientes pré-clínicos. O modelo animal C56BL/6 mice com aproximadamente 4 semanas, em que é feita a administração intraperitoneal de Doxorubicina (DOX) num regime subagudo (5 mg/Kg) durante 4 semanas consecutivas, perfazendo um total de 20 mg/Kg, é usado para mimetizar os efeitos persistentes da DOX associados à cardiotoxicidade.</p>
<p>2.Reduction (Redução)</p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Este número de animais é o mais baixo (N=4-8), dependendo dos objetivos específicos de cada procedimento e como determinado pela power analysis para as variações dos parâmetros mitocondriais e de enzimas de stress oxidativo. Para além da ampla experiência dos investigadores nesta área, publicações científicas indicam este como o número mínimo possível para obter a robustez e validade pretendidas. Os vários órgãos dos animais não utilizados neste estudo serão conservados para que futuras análises sobre o efeito dos mesmos compostos noutros tecidos possam ser realizadas, não havendo necessidade de conduzir novos teste em animais.</p>
<p>3.Refinement (Refinamento)</p> <p>Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>Serão utilizados modelos animais extensivamente estudados e validados para manifestação do fenótipo associado quer ao envelhecimento cognitivo e/ou motor, quer à cardiotoxicidade induzida por antraciclina. Nos procedimentos 1 e 2, serão utilizados murganhos C56BL/6 para avaliar a máxima dose tolerável injetada ip, Assim como, a ausência de efeitos tóxicos após uma administração prolongada dos antioxidantes em estudo via oral. O procedimento 2 terá uma duração de 10-12-semanas, que corresponde ao tempo máximo que ambas as moléculas serão administradas via oral nos procedimentos 3 e 5, para mostrar a ausência de efeitos nefastos das moléculas, permitindo desta forma, reduzir o número de animais a serem utilizados no projeto. Os animais serão observados diariamente para averiguar o aparecimento de sintomas associados à possível toxicidade dos antioxidantes em estudo. Qualquer indício de toxicidade que leve à alteração consistente de peso, aparência e comportamento do animal será indicativo para se proceder à eutanásia para limitar o sofrimento dos animais. No caso</p>

	<p>particular da exp 3 e 5, apesar destes modelos animais requerem a administração, por diferentes vias, de agentes químicos para indução do fenótipo desejado, os protocolos de administração foram desenhados de forma a que as administrações sejam no menor número possível e o menos prolongadas no tempo para a manifestação do fenótipo, sinais de desidratação ou diminuição da ingestão voluntária de alimento levarão à colocação de alimento húmido na cama e administração de fluidoterapia. No caso particular da Exp. 4, após a manifestação do fenótipo, sinais de desidratação ou diminuição da ingestão voluntária de alimento levarão à colocação de alimento húmido na cama e administração de fluidoterapia. A administração dos compostos pela ingestão voluntária de antioxidantes colocado em gelatinas faz com que desde o início do procedimento experimental até ao seu sacrifício, não se preveja qualquer procedimento que resulte num sofrimento adicional ao animal.</p>
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Sim

Título do projeto	Impacto do ruído antropogénico no sucesso reprodutor e primeiros estádios de vida em peixes	
Duração do projeto	5 anos	
Palavras-chave	Ruído de barco, paisagens acústicas marinhas, peixes, fitness	
Fim/objetivo do projeto (De acordo com o Artigoº 5º do Decreto-Lei n.º 113/2013)	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
Descrição dos objetivos do projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	<p>O tráfego marinho aumentou nas últimas décadas e constitui a fonte de poluição sonora mais prevalente nos oceanos. Os peixes têm um importante valor ecológico e societal, e a sua audição sobrepõe-se às frequências dos barcos. Contudo, o impacto do ruído nos peixes é ainda pouco conhecido. Embora estudos recentes apontem para a existência de efeitos nocivos, é necessário avaliar esses efeitos no fitness individual e no impacto populacional, privilegiando estudos na natureza. Tais estudos são essenciais para implementar medidas de gestão e mitigação. Para além disso, é necessário monitorizar o ruído subaquático no espaço marítimo português, especialmente nas zonas costeiras aonde existe maior impacto antropogénico. É ainda fundamental caracterizar e monitorizar as paisagens</p>	

	acústicas marinhas (resultantes dos sons emanados pelos seres vivos), que permitem informar do estado de saúde de um determinado local. Este projeto tem como objetivo avaliar o impacto do ruído antropogénico na reprodução e estádios iniciais de vida em peixes na natureza e terá em conta tanto respostas ao nível celular e fisiológico como a nível do comportamento. Para além disso, contribuirá para monitorizar o ruído subaquático, bem como caracterizar paisagens marinhas, incluindo os padrões acústicos de espécies vocais (por ex. peixes e outros taxa como cetáceos).
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 vai permitir conhecer o impacto do ruído antropogénico em peixes, nomeadamente em espécies locais. Em particular, a avaliação do impacto do ruído na reprodução e nos primeiros estádios de vida, é necessária para elucidar as consequências deste poluente a nível do indivíduo e da população, e fundamental para apoiar estratégias de conservação. A monitorização do ruído marinho e das paisagens marinhas com dataloggers acústicos irá estabelecer uma ferramenta para monitorizar o ambiente marinho, de baixo custo, eficiente e não intrusiva. Este estudo poderá dar contribuições importantes para a definição de estratégias de conservação para preservar a biodiversidade aquática.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Adultos: <i>Halobatrachus didactylus</i> (60); <i>Gobiusculus flavescens</i> (160); <i>Pomatoschistus pictus</i> (160); <i>Liphophoris pholis</i> (80); <i>Argyrosomus regius</i> (30) Larvas e pequenos juvenis: <i>A. regius</i> (larvas de 1-2 dias - 200; juvenis de c. 1 mês - 120); <i>H. didactylus</i> (embriões de 2/4 semanas 600+400); <i>G. flavescens</i> (larvas de 1-2 dias - 200), <i>P. pictus</i> (larvas de 1-2 dias - 200)
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?	São esperados apenas efeitos ligeiros no bem-estar dos peixes. No final da experiência parte dos animais vai ser devolvido à natureza, e parte sacrificada de uma maneira humana (sobredosagem com o anestésico/analgésico metanolsulfato de tricaina). Este último caso inclui as larvas e pequenos juvenis testados em laboratório e uma amostra de adultos de <i>H. didactylus</i> testados no campo.
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	O uso de peixes é justificado pelo fato de não haver alternativas que abordem os impactos de stressores antropogénicos no fitness de peixes, nomeadamente na reprodução e nos primeiros estádio de vida. Deste modo, não é possível substituir os peixes por modelos <i>in vitro</i> ou <i>in silico</i> .
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Este projeto tem objetivos amplos sendo a maioria destes atingidos sem envolver qualquer tipo de ação intrusiva nos animais. Os efeitos do ruído nos animais vai ser medido tendo em conta um conjunto considerável de medidas como comportamento, medidas de desenvolvimento, hormonas, biomarcadores de stress, etc. Uma vez que os mesmos animais são usados para obter um leque de respostas irá permitir minimizar o número de peixes para avaliar a resposta ao ruído. Todas as experiências foram desenhadas de maneira a assegurar o uso mínimo de animais necessários para a obtenção de resultados biologicamente significativos, tendo sido o desenho experimental baseado em trabalhos prévios da presente equipa ou na literatura.

<p>3. Refinement (Refinamento)</p> <p>Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>O projeto estuda múltiplas espécies locais com diferentes características e histórias de vida que permitem (1) realizar estudos complementares em laboratório e no campo, (2) fornecer um conhecimento mais sólida de como diferentes espécies de peixes respondem a um stressor prevaemente no meio natural uma vez que uma espécie pode ser mais resiliente do que outra. A corvina e os xarrosocos são ambas espécies vocais, abundantes na nossa costa, e que dependem da comunicação acústica para se reproduzirem sendo por isso passíveis de serem afetadas pelo ruído antropogénico, como o ruído de barco. Ambas são excelentes para trabalho de campo, principalmente o xarroco uma vez que nidifica em locais acessíveis nas marés baixas. Para além disso apresentam histórias de vida distintas, a corvina é pelágica e desova na coluna de água sendo os ovos/larvas também pelágicos. O xarroco acasala em ninhos sendo por isso sedentário. O desenvolvimento embrionário ocorre no ninho. Assim a corvina pode afastar-se dos barcos mas o xarroco se o fizer perde oportunidades de se reproduzir. As duas espécies de góbios são espécies também muito vocais, usam os sons para atraírem as fêmeas ao ninho para acasalarem, são de reduzidas dimensões (< 10 cms), muito abundante na nossa costa, mantem-se facilmente em condições de aquário, com dimorfismo sexual (fácil distinguir os sexos nas experiências), reproduzem-se muito facilmente em cativeiro, e apresentam cuidados parentais (o macho fica a cuidar dos ovos colocados pela fêmea no ninho) o que possibilita o estudo do impacto do ruído na sua fitness em laboratório. Já o blénio <i>Liphophoris pholis</i> é também um excelente modelo de laboratório como os góbios, mas não é vocal. É no entanto excelente para testar o efeito do ruído noutros comportamentos como o comportamento alimentar. Deste modo estas são as melhores espécies locais para se testar o efeito do ruído. As experiências de playback com ruído são as mais utilizadas em laboratório e no campo e irão ser adequadamente validadas. Para além disso o refinamento vai passar por assegurar o bem-estar animal. Assim durante as experiências de laboratório iremos monitorizar sinais de stress ou dor como:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Não se alimentarem durante mais de 2 dias • Movimentos operculares demasiado altos ou baixos • Dificuldades em controlar a flutuabilidade • Natação sistemática à superfície ou junto as paredes do taque • Letárgicos, sem reação a estímulos • Falta de reação a comportamentos de conspécíficos
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>	<p>Não</p>

<p>Título do projeto</p>	<p>Estudo do papel das Integrinas e das RhoGTPases na formação, manutenção e regeneração da mielina</p>
<p>Duração do projeto</p>	<p>5 anos</p>

Palavras-chave	Mielinização, Citoesqueleto, Sistema nervoso, Mutação condicional, Mutação induzida	
Fim/objetivo do projeto (De acordo com o Artigoº 5º do Decreto-Lei n.º 113/2013)	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
Descrição dos objetivos do projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	As integrinas são um dos mais importantes recetores membranares para proteínas da matriz extracelular e consistem em moléculas que desempenham funções importantes no sistema nervoso e em contextos de patologia. Aqui pretendemos utilizar murganhos transgênicos para avaliar o papel desempenhado por moléculas a jusante das integrinas, especificamente a “integrin linked kinase” ou IIKLK, os PINCHPinch, as RhoGTPases RhoA Rac-1 e Cdc42, e a proteína de ligação à actina, Profilina 1.	
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 modelos aqui utilizados refletem bem os quadros clínicos manifestados em doenças humanas do sistema nervoso, nomeadamente em doenças crónicas adquiridas.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Por ano, está prevista a utilização dos seguintes animais para fins experimentais: <i>Mus musculus</i> : 6 animais / ano <i>Mus musculus</i> geneticamente modificados: 113 / ano <i>Rattus norvegicus</i> : 5 animais / ano	
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?	Ligeiro a moderado. Todos os animais são sacrificados do decorrer dos procedimentos descritos.	

1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Este projeto foi concebido respeitando a política dos 3R's de Russell e Burch (1959). No entanto, não é possível substituir completamente a utilização dos modelos animais pela impossibilidade de recriar <i>in vitro</i> as condições de desenvolvimento ou regeneração do animal que permitam dissecar fielmente o efeito da manipulação genética aqui descrita.
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Para que o número de animais utilizado seja o menor possível, as experiências estão planeadas de modo i) a minimizar variabilidade entre elas, ii) a providenciar condições ótimas padrão para o bem-estar animal, iii) a minimizar condições de stress ou dor desnecessários impostos aos animais e iv) a originar dados confiáveis e válidos.
3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	Para garantir o bem-estar, minimizar o desconforto e/ou sofrimento do animal, todas as experiências serão efetuadas por pessoal devidamente formado e licenciado pela DGAV, e com experiência adequada. Os animais serão alojados em gaiolas com enriquecimento ambiental (abrigos, papel para ninho e rolos). Os animais serão transferidos/ manipulados entre gaiolas através de tubos e serão evitadas as manipulações pela cauda. Não são expectáveis alterações de comportamento e/ou bem-estar de qualquer animal ao longo da experiência.
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Sim

Título do projeto	Estratégias promotoras de remielinização num modelo animal de esclerose múltipla	
Duração do projeto	5 Anos	
Palavras-chave	Esclerose múltipla, Remielinização, Cuprizona, Sitagliptina, Biomassa de folhas senescentes de mirtilos	
Fim/objetivo do projeto (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
Descrição dos objetivos do projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades	A esclerose múltipla é uma doença que se caracteriza pela destruição imuno-mediada da bainha de mielina dos neurónios do sistema nervoso central (SNC), cursando também com uma importante neurodegeneração. O	

científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	SNC possui uma capacidade endógena para a remielinização, mas a mesma o papel da sitagliptina e de biomassa de folhas senescentes de mirtilos enriquecidas em compostos fenólicos sob a forma heterosídica quanto ao seu potencial efeito protetor da desmielinização e indutor da remielinização é rapidamente esgotável. Apesar de se conhecerem alguns mediadores moleculares implicados nos mecanismos de remielinização, não existem ainda quaisquer fármacos aprovados com esta indicação específica, o que torna toda esta linha de investigação extremamente atractiva. Usando um modelo animal de desmielinização induzido pela cuprizona, pretende-se clarificar.
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)?	Não existe, à data, nenhuma estratégia terapêutica eficaz para modular positivamente o processo espontâneo de remielinização. Esta é a principal razão subjacente ao tremendo insucesso das terapêuticas atualmente existentes nas formas puramente progressivas da doença, para as quais não existe ainda qualquer tratamento aprovado mundialmente. O presente projeto visa assim contribuir para a evolução do conhecimento numa área ainda largamente inexplorada que carece de novos avanços científicos com potencial translação para a clínica.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	<i>Mus musculus</i> (C57BL/6J): 315 animais (8 semanas de idade)
No contexto do que é proposto fazer-se aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Os efeitos adversos esperados são mínimos e o grau de severidade será ligeiro. No final de cada procedimento, os animais serão occidados por overdose anestésica seguida por deslocamento cervical.
<p>1.Replacement (Substituição)</p> <p>Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	Os estudos <i>in vitro</i> relativos a estes compostos estão perfeitamente consolidados e descritos na literatura, quer por outros grupos, quer pelo nosso grupo. Nesta fase, é crucial avaliar o impacto destas opções terapêuticas/nutracêuticas <i>in vivo</i> , usando para isso um modelo animal compatível com o estudo das fases iniciais da doença.
<p>2.Reduction (Redução)</p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	As tarefas experimentais foram desenhadas de forma a permitirem a avaliação de múltiplos parâmetros num mesmo animal, o que em conjunto com o conhecimento técnico e académico dos membros da equipa de investigação garante a execução das tarefas e a obtenção dos objetivos propostos com o menor número possível de animais. O número de animais foi calculado com recurso a ferramentas estatísticas que permitiram aferir o número mínimo de animais alocado a cada grupo experimental.
<p>3.Refinement (Refinamento)</p> <p>Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar</p>	Optámos por utilizar murganhos C57BL/6J, uma espécie amplamente descrita na literatura como sensível à toxina em causa e cuja evolução da lesão se encontra bem caracterizada. Por outro lado, é uma espécie de fácil manipulação e economicamente acessível. Por fim, a introdução de uma nova metodologia voluntária de substâncias bioactivas constituirá uma forma extraordinária de refinamento, já que permite ultrapassar um conjunto vasto de limitações (e.g. stress, facilidade de administração, precisão de dosagem) das técnicas de administração oral comumente usadas. Não são esperadas alterações significativas ao bem estar do animal, quer pela

os custos de bem-estar (danos) aos animais.	indução do modelo animal de doença quer devido à administração das estratégias de remielinização propostas.
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Não

Título do projeto	O efeito da fonte azotada no metabolismo na Fenilcetonúria	
Duração do projeto	1 Ano	
Palavras-chave	Fenilcetonúria(PKU); glicomacropéptido; aminoácidos; metabolismo; microbiota	
Fim/objetivo do projeto (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
Descrição dos objetivos do projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Este projeto tem como objetivo perceber o impacto de diferentes fontes de azoto usadas no tratamento da PKU no metabolismo. Uma vez que o tratamento dos doentes com PKU se baseia na restrição proteica e na toma de substitutos proteicos, misturas de aminoácidos (MAA) e, mais recentemente, glicomacropéptido (GMP)], reveste-se da máxima importância compreender qual o impacto da toma crónica do tratamento, com especial enfoque no metabolismo glicídico. Um estudo do mesmo grupo de investigação mostrou que a administração aguda de uma MAA (usada no tratamento da PKU) em ratos Wistar modula a resposta glicémica que é mediada pela incretina GLP-1. O presente projeto dará também informação sobre o impacto dos tratamentos acima referidos na microbiota 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)?	Os benefícios prováveis deste projeto serão: 1) perceber o efeito crónico de diferentes fontes azotadas usadas no tratamento da PKU no metabolismo, com enfoque no metabolismo glicídico; 2) avaliar o impacto de diferentes fontes azotadas na microbiota intestinal. Com este projeto pretende-se pavimentar o conhecimento sobre o efeito do tratamento usado na PKU no metabolismo e, conseqüentemente, melhorar a assistência clínica.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	24 ratos machos Wistar	

<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>Durante o projeto, serão realizados procedimentos aos animais com um grau moderado de severidade (colheitas de sangue). No final do procedimento, os animais serão sacrificados após anestesia com isoflurano 5%.</p>
<p>1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>O objetivo deste projeto é compreender qual o impacto crónico da toma de diferentes fontes azotadas usadas no tratamento da PKU em comparação com uma proteína intacta (caseína) no metabolismo. Mais especificamente, iremos estudar o efeito das diferentes fontes azotadas na evolução ponderal, glicemia, insulinemia, resistência à insulina, incretinas, pressão arterial, marcadores de metabolismo lipídico e inflamação. Este projeto dará também informação sobre o impacto deste tratamento na microbiota intestinal. Uma vez que a ingestão proteica é restringida nesta patologia, não é possível do ponto de vista ético desenvolver este projeto em doentes com esta condição. Para além disso, neste projeto, queremos isolar o efeito “tipo de fonte azotada”, o qual não seria possível em doentes. Importa referir que o presente estudo não pode ser <i>in vitro</i>, porque o objetivo é avaliar a resposta metabólica <i>in vivo</i>.</p>
<p>2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>No estudo teremos 3 grupos de animais: GMP, MAA e caseína (controlo). Em cada um desses grupos, teremos 8 animais. O número de animais a incluir em cada grupo foi calculado com base na literatura usando os mesmos protocolos de modo a ter significado estatístico nos resultados obtidos.</p>
<p>3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>A espécie e estirpe a utilizar [ratos machos Wistar Han IGS CrI :WI(Han)] foi escolhida pelo facto de ser um modelo bem estabelecido para estudo do metabolismo. O tratamento crónico (8 semanas) é o tempo necessário para que se percebam esses efeitos na vida adulta dos animais. Os animais serão sempre adaptados aos procedimentos antes de se iniciar o tratamento, de modo a estarem o mais confortáveis possível com estes procedimentos durante todo o período de tratamento. Estes procedimentos serão sempre realizados pelo mesmo tratador para garantir o bem-estar animal, reduzindo o <i>stress</i> do animal. No final do tratamento, sacrifício do animal após anestesia profunda com isoflurano 5%.</p>
<p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p>	<p>Sim</p>

<p>Título do projeto</p>	<p>Fisiopatologia da distonia – papel das interações gene-ambiente e mecanismos fisiopatológicos comuns</p>
<p>Duração do projeto</p>	<p>5 Anos</p>
<p>Palavras-chave</p>	<p>Neurónios, circuitos, distonia, neurologia</p>

Fim/objetivo do projeto (De acordo com o Artigoº 5º do Decreto-Lei n.º 113/2013)	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
Descrição dos objetivos do projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	As distonias são um grupo heterogéneo de doenças altamente incapacitantes com idade de início, distribuição e causa genética variável. No entanto, elas partilham características centrais de posturas anormais ou movimentos anómalos repetidos. Apesar de alterações dos gânglios da base terem sido apontadas como um tema unificador das várias causas de distonia (genética ou sintomática), a fisiopatologia continua por esclarecer. Neste projeto temos os seguintes objetivos: 1. Análise não-supervisionada do movimento baseada em sensores inerciais em animais distónicos para avaliar alterações comportamentais conhecidas ou encobertas em diferentes modelos animais de distonia (DYT1, DYT6, DYT25); 2. Avaliação da atividade neuronal in vivo de populações de neurónios do estriado em animais que desenvolvem distonia e 3. Análise do papel dos circuitos cerebelo-tálamo-estriados no desenvolvimento de movimentos distónicos.	
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 será instrumental para descodificar a função do estriado na distonia e para avaliar o papel causal das projeções cerebelosas na distonia e no fenótipo distónico. Este conhecimento pode inspirar novos modelos de função cerebral na distonia e informar novas abordagens terapêuticas não-invasivas para o tratamento da distonia.	
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	<i>Mus musculus</i> . 294/ano, num total de 1470 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?	Antecipa-se que o impacto na saúde e bem-estar dos animais decorrente dos procedimentos experimentais propostos seja moderado a severo. No final das experiências, os animais serão eutanasiados.	
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-	A distonia foi apenas descrita nos vertebrados. O cérebro dos vertebrados é único do ponto de vista evolutivo e o seu estudo é fundamental para compreender aspetos neuroanatômicos humanos e as	

animais	funções motoras que resultam das conexões anatómicas. Vários circuitos neurais são conservados em vertebrados e estão presentes, em formas simplificadas, em vertebrados mais primitivos. Contudo, os comportamentos e padrões motores distónicos – assim como a respetiva atividade neural – só se manifesta em animais complexos e vivos. A utilização de um modelo invertebrado, um vertebrado mais primitivo, cultura celular ou simulação não forneceria os dados fisiológicos e comportamentais relevantes para esta investigação. A escolha do ratinho como modelo animal deve-se ao facto de serem mamíferos de manipulação e manutenção fácil e geneticamente acessíveis.
<p>2.Reduction (Redução)</p> <p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>O objetivo deste projecto é o estudo do papel de diferentes circuitos neuroanatómicos na manifestação de distonia em animais. 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 e do planeamento estatístico adequado, 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>3.Refinement (Refinamento)</p> <p>Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>Atualmente, os roedores constituem o principal organismo modelo em mamíferos para o estudo das bases neurais de uma doença do movimento. 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 não desenvolvem as alterações do movimento 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 o movimento, e a análise da estrutura e função desses circuitos com um elevado grau de precisão. 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 limites críticos.</p>
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?	Sim