

Resumos não-técnicos de projetos autorizados em 2015

Título do projeto	Terapia com células estaminais mesenquimatosas para prevenção dos efeitos da diabetes no sistema nervoso central		
Duração do projeto	12 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	Diabetes; Neuropatia; Dor; Cognição; Células estaminais mesenquimatosas		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	<p>Estudar os efeitos da administração de células estaminais mesenquimatosas (SSCs) nas alterações do sistema nervoso central (SNC) induzidas pela diabetes.</p> <p>Investigar potenciais mecanismos neurobiológicos subjacentes aos efeitos neuroprotetores das SSCs na neuropatia diabética.</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 diabetes é uma doença crónica que afeta mais de 371 milhões de pessoas em todo o mundo e o número de pessoas afetadas continua a aumentar em todos os países. Embora a diabetes seja um tema de investigação intensamente explorado, as estratégias atuais de tratamento resultam frequentemente no controlo inadequado da glicemia, o que progressivamente pode levar ao aparecimento de complicações fatais como</p>		

	a nefropatia, retinopatia, cardiomiopatia, neuropatia, comprometimento de reparação óssea e ulceração de feridas (pé diabético). O projeto que propomos realizar visa avaliar o potencial terapêutico de diferentes populações de células estaminais mesenquimatosas (SSCs) na prevenção das alterações induzidas pela diabetes em áreas do sistema nervoso central responsáveis pelo controlo da dor e em áreas envolvidas na aprendizagem e na memória.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Serão utilizados aproximadamente 260 ratos macho Wistar.
No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Os efeitos adversos esperados serão de grau moderado de severidade. No final de cada experiência, os animais serão sacrificados sob o efeito de anestesia profunda para posterior colheita de material biológico.
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	O comportamento nociceptivo e a cognição fundamentam-se na existência de uma rede que envolve os sistemas nervosos central e periférico e, como tal, necessitam de ser estudados num sistema vivo.
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Os procedimentos a realizar estão bem estabelecidos e validados neste modelo animal.
3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	O sistema nervoso destes roedores tem uma organização comparável ao humano e envolve vias de sinalização e neurotransmissores semelhantes. Além disso, existem equipamentos e modelos de dor e de défice cognitivo padronizados (bem estabelecidos e validados) para estes animais. Adicionalmente, as alterações a estudar foram previamente reportadas neste modelo animal. Os animais serão diariamente monitorizados para identificação de sinais de desconforto e stress.

Título do projeto	Fenotipagem comportamental, farmacológica e electrofisiológica de ratinhos geneticamente modificados		
Duração do projeto	5 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Cerebelo, Locomoção, Aprendizagem, Optogenética		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim	
	Investigação translacional ou aplicada		Não

	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Sim	
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	<p>1) Uso de técnicas de optogenética para silenciar, de forma transiente, compartimentos cerebelares.</p> <p>2) Registo da actividade de neurónios identificados e a sua correlação com parâmetros motores.</p> <p>3) Estimulação de tipos celulares bem identificados, através de optogenética, de modo a estabelecer relações de causalidade entre a actividade de circuitos neuronais e comportamento.</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>Um dos principais sintomas de lesão cerebelar é ataxia motora. Os pacientes com lesão cerebelar têm dificuldade em coordenar os seus movimentos tanto no espaço (através das partes do corpo) como no tempo (gerando trajectórias de movimentos suaves). Espera-se que os resultados obtidos no final deste projecto permitam compreender o controlo neuronal do movimento, tanto em indivíduos saudáveis como doentes. Espera-se ainda compreender os princípios gerais da função cerebelar e a ligação entre os circuitos neuronais e o comportamento.</p>		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	<p>Murganhos 750 WT 1500 mutantes</p>		
No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	<p>Não se esperam efeitos adversos. Espera-se um grau de severidade moderado. No final do projecto os animais serão humanamente eutanaziados.</p>		
Aplicação dos 3Rs			
1.Replacement (Substituição)	Pretende-se estudar o envolvimento do		

Refira a razão porque precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	cerebelo na locomoção e na coordenação e aprendizagem de movimentos. Desta forma, torna-se indispensável a utilização de um modelo com capacidade de movimento.
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Todos os grupos experimentais terão o número mínimo de animais para que os resultados sejam estatisticamente 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.	Os murganhos são mamíferos com capacidade de movimento, nos quais é possível a concretização de manipulação genética. Esta é uma ferramenta indispensável neste projecto permitindo o estudo de diferentes zonas do cerebelo e diferentes tipos celulares <i>in vivo</i> .

Título do projeto	Investigação dos circuitos celulares e sinápticos dos comportamentos sociais e autísticos		
Duração do projeto	24 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	Comportamentos sociais, autismo, circuitos neuronais, expressão genética		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) ¹	Investigação fundamental	Sim	
	Investigação translacional ou aplicada		Não
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados ²		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Um aspecto comum a pacientes esquizofrénicos e autistas é a incapacidade que estes têm em empreenderem comportamentos sociais típicos. Mesmo no cérebro saudável, muito pouco é conhecido sobre as conexões neuronais e os genes que controlam a predisposição natural para		

	comportamentos gregários e os genes e circuitos que são afetados nas condições patológicas.
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 mamíferos desenvolveram uma propensão extraordinária para se envolverem numa ampla panóplia de comportamentos sociais que são ao mesmo tempo essenciais para a sua sobrevivência natureza e para a manutenção da saúde mental. Ao se ganhar uma melhor compreensão sobre os factores que regulam os comportamentos sociais, poderá perceber-se como intervir em doenças muito pouco compreendidas como o autismo ou a esquizofrenia.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Serão utilizados murganhos C57, BTBR e CD1. O numero aproximado de animais a ser utilizado será de 400 animais.
No contexto do que se propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Os protocolos a serem aplicados envolvem procedimentos de grau de severidade moderado e severo. No final da realização do projecto os animais serão sacrificados e os tecidos neuronais recolhidos.
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição) Refira a razão porque precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Os vectores virais a serem utilizados em experiências de optogenética serão validados <i>a priori</i> em culturas celulares. Só os constructos mais promissores serão usados.
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	O número de animais necessários para este estudo foi calculado através da utilização de “power analysis” tendo em conta a necessidade de significância estatística e outros estudos semelhantes realizados anteriormente.
3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	Os procedimentos com intervenção animal moderada e severa encontram-se otimizados para minimizar o sofrimento animal. As esterotaxias e procedimentos invasivos serão efectuada sob anestesia profunda. Será administrada analgesia aos animais nas 72h do período pós operatório sendo tido cuidados pós-cirúrgico como a colocação de comida húmida, monitorização de peso corporal e fluidoterapia sempre que necessário. Os pontos terminais serão a perda de 20% de peso corporal. Sempre que se verificar uma perda de peso corporal de 10% proceder-se-à à fluidoterapia.
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva no final da sua realização.	

Título do projeto	Desenvolvimento de uma nova estratégia de
--------------------------	--

	indução de Anticorpos neutralizantes para produzir uma vacina para o VIH		
Duração do projeto	2 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	anticorpos neutralizantes, VIH, vacina, imunização		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim	
	Investigação translacional ou aplicada		Nã o
	Uso regulamentar e produção de rotina		Nã o
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Sim	
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Nã o
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Nã o
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Nã o
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Nã o
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	<p>Um dos objetivos mais desejados e o desenvolvimento de uma vacina contra o VIH. Embora sejam desenvolvidos muitos estudos sobre uma vacina para o VIH-1, tal não é feito para o VIH-2, que infecta quase dois milhões de pessoas.</p> <p>Foi demonstrado por nós que uma ampla com uma potente resposta neutralizante contra o VIH-2 pode ser obtida em ratos usando uma estratégia de vacinação com uma primeira imunização com vírus vaccinia e um reforço com um péptido rpC2-C3 [MBR10]. A resposta imune para as regiões do involucro do VIH-2, C2, V3, C3, foi importante para a obtenção de elevados níveis de anticorpos neutralizantes.</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)?	Esta é uma nova abordagem para induzir o sistema imunológico a produzir anticorpos contra ambos os vírus VIH-1 e VIH-2. Este trabalho pretende ser um forte contributo para o desenvolvimento de uma vacina contra o VIH realmente universal.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Espécie: Balb/c Serão utilizados 30 animais.		
No contexto do que se propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos	O grau provável/esperado de severidade é Ligeiro		

esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	No final serão eutanasiados
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Não existe modelo <i>in vitro</i> para a obtenção de soro policlonal.
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	A nível estatístico, o número de 6 animais por variação é o mínimo aceitável.
3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	A espécie escolhida apresenta vantagens de se uma das mais adequadas aos ensaios de testes imunológicos/ desenvolvimento de vacinas. Ocupa pouco espaço no biotério, relativamente a outras espécies (rato ou coelho).

Título do projeto	New therapies for intervertebral disc (de)/regeneration (acrónimo: REDISC)		
Duração do projeto	3 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Disco intervertebral, regeneração, degeneração, terapia celular, biomateriais,		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Este projecto tem como objectivo final o desenvolvimento de um tratamento para a degeneração do disco intervertebral (IVD). Este modelo será utilizado para testar diferentes terapias em desenvolvimento: 1) transplante endovenoso de células; 2)		

	implantação de biomateriais no disco; 3) injeção de factores terapêuticos no disco.
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 experimentação animal aqui proposta enquadra-se no âmbito de um projeto sobre a degeneração/regeneração do IVD, um tecido muito complexo responsável pela homeostasia das vértebras e que quando destabilizado pode conduzir a várias patologias da coluna vertebral, nomeadamente, à hernia discal. Estas patologias afectam cerca de 80% da população e o tratamento presentemente consiste em intervenções cirúrgicas, que não só são muito invasivas como economicamente comportam um peso excessivo para os sistemas de saúde.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Neste projeto serão utilizados animais da espécie <i>Rattus Norvegicus</i> , pertencentes a duas estirpes diferentes. 1) LEW/Crl (Lewis) - Ratos Inbred Nº estimado de animais: 12 + 33 = 45 2) Crl:WI/Han (Wistar-Han) - Ratos Outbred Nº estimado de animais: 66 + 60 = 126
No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Todas as intervenções propostas são consideradas minimamente invasivas, apresentando um grau de severidade baixo (ligeiro), pelo que a dor e/ou desconforto provocados serão mínimos. No final de cada experiência os animais serão sacrificados para recolha e análise de diversos órgãos.
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Parte deste projecto será realizado usando culturas organotípicas de bovino, e culturas celulares, realizadas no nosso grupo no INEB, pelo que serão efectuadas no modelo animal unicamente as experiências que não podem ser substituídas por nenhuma destas técnicas. Experiências prévias em culturas organotípicas revelaram que células são capazes de migrar no disco intervertebral, recrutadas por factores quimiotáticos; e que punção com agulha em condições pro-inflamatórias induz um efeito semelhante à degeneração observada <i>in vivo</i> .
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Uma experiência piloto foi já efectuada, de modo a definir o número mínimo necessário de animais por grupo experimental. Nessa experiência foi possível avaliar a formação de hérnia degenerativa ao fim de 2 semanas.
3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão	O modelo a utilizar consiste numa lesão do IVD praticada na cauda do rato, de modo minimamente invasivo. O rato foi o animal

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.	seleccionado, baseado no facto de ser o animal mais simples que permite a manipulação do IVD. Será inserida uma agulha directamente no IVD, sob anestesia geral. Para avaliação do efeito da punção no disco lesionado, os animais serão sujeitos a radiografias dos discos caudais.
--	--

Título do projeto	Estudo do efeito da administração de uma solução de bacteriófagos para <i>Campilobacter sp.</i>, num bando de broilers naturalmente infectados com <i>Campylobacter</i>		
Duração do projeto	3 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	Campylobacter, bacteriófagos, aves		
Fim/objectivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Sim	
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados ²		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	O projeto tem como objetivo avaliar a eficiência do uso de bacteriófagos no controlo de <i>Campylobacter</i> em aves		
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)?	Desenvolver um cocktail de fagos eficiente para o controlo de <i>Campylobacter</i> pré abate reduzindo a contaminação cruzada por este agente patogénico no matadouro e consequentemente aumentar a segurança alimentar dos produtos avícolas		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Frangos/77 animais		
No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos	Campylobacter é comensal, os animais contaminados com este agente patogénico não sofrem lesões, logo		

adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	o grau esperado é ligeiro. No final das experiências os animais serão eutanasiados.
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Não existem modelos <i>ex vivo</i>
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	O nº de animais foi calculado de acordo com as Tabelas de bioestatística tendo em conta a variação estatística entre indivíduos reportada em literatura.
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.	Espécie para a qual está a ser desenvolvida a aplicação.

Título do projeto	Impacto do óxido nítrico, produzido a partir do nitrato da dieta, na função gastrointestinal em condições fisiológicas e fisiopatológicas.		
Duração do projeto	24 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	Óxido nítrico, nitrato, trato gastrointestinal, microbiota, disbiose		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim	Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	Não
	Uso regulamentar e produção de rotina	Sim	Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Sim	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;	Sim	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Sim	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Sim	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Sim	Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem	O nitrato da dieta, precursor do óxido nítrico no trato gastrointestinal, desempenha ações protectoras, nomeadamente através do aumento		

abordadas, etc)	da produção de muco que reveste a parede do tubo digestivo, do aumento do fluxo sanguíneo, eliminando bactérias patogêneas, entre outros. Os tratamentos com antibióticos têm muitas vezes consequências indesejáveis na saúde e bem-estar humanos; casos de desconforto abdominal, alteração do trânsito intestinal e infecções oportunistas locais ou sistêmicas têm sido descritos. Neste estudo propomos avaliar o efeito do nitrato na modulação da flora microbiana e o seu impacto na recuperação do estado fisiológico do trato gastrointestinal.
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 objectivo último deste trabalho, e numa perspectiva translacional, é estabelecer as bases para a recomendação do consumo de nitrato (em forma de suplemento ou através da dieta) em situações patológicas cujo tratamento implique o recurso a antibióticos. Desta forma, e de um modo não invasivo, evitar-se-iam complicações muitas vezes observadas no decorrer destes tratamentos (desconforto abdominal, diarreia, azia, etc).
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Serão utilizados 40 ratos Wistar (machos) na primeira tarefa e outros 40 na segunda tarefa.
No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Nos procedimentos que envolvem gavagem, o recurso a anestesia volátil visa evitar o desconforto associado a esta técnica, pelo que o grau de severidade esperado é moderado. Relativamente à indução de disbiose (com antibióticos) é esperada perda de peso e, eventualmente, algum grau de desidratação e/ou diarreia. Por este motivo foram estabelecidos <i>humane endpoints</i> e os animais serão vigiados e pesados diariamente. O grau de severidade esperado poderá ser moderado. No final das experiências os animais serão sacrificados por deslocamento cervical sob anestesia profunda.
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Ensaio <i>in vitro</i> demonstraram que proteínas endógenas são modificadas pelo nitrato. Os animais são modelos insubstituíveis para estudos biológicos dada a necessidade da existência de um modelo com os sistemas digestivo, cardiovascular e bacteriano funcionantes.
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Após occisão, todo o trato gastrointestinal será recolhido de forma a cada animal fornecer o máximo de material possível. Desta forma espera-se obter resultados mais abrangentes e integrados no contexto fisiológico geral e minimizar o número de animais necessários. Além disso, foi realizada uma <i>power analysis</i> de forma a utilizar o número de animais estritamente necessário.

<p>3. Refinement (Refinamento)</p> <p>Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>Os ratos Wistar são uma estirpe <i>outbred</i> de uso comum. Os animais são amistosos, fáceis de manusear e as condições ideais de manutenção estão asseguradas no biotério onde irão permanecer. Após a gavagem os animais serão colocados nas respectivas gaiolas e a função respiratória bem como o comportamento exploratório serão controlados. Os animais envolvidos no estudo bacteriano serão monitorizados diariamente, sendo a água do bebedouro substituída. O peso dos animais será registado. Perdas de peso superiores a 20%, diarreia severa ou sinais de desidratação justificarão a eutanásia (<i>humane endpoints</i>).</p> <p>Além disso, o grupo possui experiência significativa na obtenção de tecidos do trato gastrointestinal e, por conseguinte, os métodos propostos estão otimizados.</p>
---	--

Título do projeto	Impacto da insuflação torácica, abdominal e extracelômica com dióxido de carbono (CO₂) no neurodesenvolvimento: estudo em modelo animal		
Duração do projeto	4 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Pneumoperitoneu; Pneumotórax; Pneumoretroperitoneu; Insuflação com CO ₂ ; Cirurgia neonatal;		
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

<p>Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)</p>	<p>1- Avaliar o impacto, agudo e a longo prazo, da insuflação peritoneal com CO₂, no desenvolvimento do cérebro de ratos</p> <p>2- Avaliar o impacto, agudo e a longo prazo, da insuflação torácica com CO₂, no desenvolvimento do cérebro de ratos</p> <p>3- Avaliar o impacto, agudo e a longo prazo, da insuflação retroperitoneal com CO₂, no desenvolvimento do cérebro de ratos</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>Espera-se com este estudo, determinar as consequências da insuflação com CO₂ durante cirurgias minimamente invasivas, no cérebro de ratos recém-nascidos e desta forma inferir sobre os potenciais efeitos nefastos desta insuflação no cérebro humano. Numa segunda fase pretende-se relacionar os tempos de insuflação e as pressões de insuflação e avaliar o custo-benefício da aplicação desta abordagem minimamente invasiva em recém-nascidos humanos, fazendo o balanço entre as vantagens reconhecidas desta nova abordagem e os seus potenciais efeitos nefastos no cérebro de recém-nascidos.</p>
<p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p>	<p>Rattus norvegicus; 380 animais</p>
<p>No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?</p>	<p>Animais com 10 dias de idade serão anestesiados via intraperitoneal e todo o procedimento cirúrgico será realizado com os animais sob o efeito de anestesia geral. Será fornecida analgesia durante as 24 horas após a cirurgia através da administração subcutânea de analgésico. Os animais sobreviverão até aos 3 meses de idade e serão, nessa altura, submetidos a testes de comportamento sendo posteriormente anestesiados, perfundidos e os órgãos recolhidos e conservados até posterior análise.</p> <p>Uma vez que o protocolo cirúrgico será realizado com os animais sob o efeito de anestesia geral e será fornecida analgesia pós-operatória, consideramos que os poucos procedimentos realizados sem anestesia (injeção intraperitoneal e subcutânea) são pouco severos e espera-se que os animais apresentem leves ou nenhuma alterações fisiológicas e etológicas após a recuperação da anestesia.</p>
<p>Aplicação dos 3Rs</p>	
<p>1.Replacement (Substituição)</p> <p>Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Sendo um estudo de avaliação de impacto em vários sistemas (respiratório, circulatório), será necessário recorrer à utilização de animais vivos. Para a realização deste projeto serão utilizados ratos, antes de se avançar para outras espécies. Não poderão ser utilizados murganhos com 10 dias de idade uma vez que o tamanho dos animais não permite a realização do</p>

	procedimento cirúrgico experimental.
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	O número de animais foi calculado recorrendo a um programa de cálculo estatístico (G-power), de forma a utilizar o menor número de animais possível retirando simultaneamente informação significativa.
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.	Todos os procedimentos cirúrgicos serão realizados com os animais sob o efeito de anestesia geral e será fornecida analgesia durante as 24 horas após a cirurgia. Será dado enriquecimento aos animais, tais como folhas de papel para fazer ninho e rolos de cartão para abrigos.

Título do projeto	Consequências do consumo recreativo de psicoestimulantes anfetaminicos no envelhecimento cerebral		
Duração do projeto	5 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Neurotoxicidade, "Ecstasy", Drogas de Abuso, Envelhecimento		
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
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados ²		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Este projecto está integrado num projecto mais amplo aprovado pela 'FCT, onde pretendemos identificar alvos e vias alteradas pela "ecstasy" (MDMA) em várias áreas cerebrais assim como a toxicidade periférica em geral, tentando responder à questão se o uso de anfetaminas acelera o processo de envelhecimento cerebral. Além disso, pretendemos conhecer a influência do facto idade na susceptibilidade às anfetaminas avaliando as		

	respostas das populações de animais adolescentes e idosos. Estas questões mantêm-se sem resposta e, ainda, não foi avaliada, em modelos crónicos de cultura celular ou em modelos animais, através da exposição a anfetaminas psicostimulantes.
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projecto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projecto)?	Os adolescentes e jovens adultos geralmente são os principais utilizadores de “ecstasy”, no entanto a sua utilização pode ocorrer em todas as idades. Alguns estudos têm mostrado que a idade é um factor determinante para a neurotoxicidade resultante do consumo de MDMA (Adori et al, 2011; Kelly <i>et al</i> , 2002). Assim, propomos a realização de duas experiências diferentes para dar a conhecer os mecanismos de neurotoxicidade da MDMA em 2 populações de ratos com idades diferentes expostos num único dia a um regime de múltiplas administrações de MDMA (3 doses espaçadas por duas horas), que mimetizam o padrão de consumo dos humanos. Estes estudos permitirão conhecer melhor os mecanismos de toxicidade associados à “ecstasy” e, ainda, determinar alvos terapêuticos que sirvam não só para tratar as consequências tóxicas decorrentes do consumo, mas também para as prevenir.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Ratazanas Wistar (<i>Rattus norvegicus</i>) 52 animais ao todo
No contexto do que se propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Grau de severidade – Ligeiro O animal será sacrificado mais de 24h depois da experiência (Método de eutanásia: sobredosagem de Isoflurano, seguido por exsanguinação)
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Os estudos em humanos indicam que o fenómeno neurotóxico da “ecstasy” afecta fundamentalmente o sistema serotoninérgico cerebral, além disso este efeito é acompanhado de vários sintomas periféricos tais como alterações cardiovasculares e hipertermia. Todos estes efeitos podem ser mimetizados administrando MDMA à espécie <i>Rattus norvegicus</i> . Existem muitos estudos publicados com esta espécie, o que torna mais fácil a escolha de doses, método de administração e planeamento experimental, com menor sofrimento e stress para os animais. Além deste estudo em animais, os dados de neurotoxicidade decorrentes do uso da MDMA estão a ser complementados com estudos <i>in vitro</i> com células neuronais (a linha celular humana SH-SY5Y) (<i>‘replacement’</i>) de forma a aprofundar os

	<p>conhecimentos de neurotoxicidade causados pela 3,4-metilenodioximetanfetamina (MDMA ou 'ecstasy'). No entanto, uso de um modelo <i>in vitro</i>, baseado em cultura celular, não reproduz todos os fenómenos fisiológicos e tóxicos decorrentes do consumo de MDMA. O mesmo se passa com modelos computadorizados baseados em determinadas equações matemáticas. Assim sendo, usando o modelo animal <i>Rattus norvegicus</i> assegura-se a adequada extrapolação dos estudos para os humanos.</p>
<p>2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Existem vários estudo publicados com a espécie animal proposta no protocolo usando a mesma via de administração e com doses semelhantes (Goni-Allo <i>et al.</i>, 2008). Além disso, o ensaio piloto aliado à bibliografia consultada permitem adequar todos os procedimentos a efectuar, seleccionar as doses e períodos de avaliação, de modo a diminuir o número total de animais a ser utilizados ('Reduction'). De salientar ainda, que para tirar o máximo de informação com estas experiências, vários órgãos serão recolhidos para posterior análise ('Reduction'): se a avaliação da neurotoxicidade do protocolo é o principal objectivo, outras informações relevantes serão obtidas, através da recolha de todos os possíveis órgãos periféricos aos quais a MDMA pode causar danos (coração, rim, fígado).</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>Razão da escolha da espécie: Os estudos em humanos indicam que o fenómeno neurotóxico da "ecstasy" afecta fundamentalmente o sistema serotoninérgico cerebral, além disso este efeito é acompanhado de vários sintomas periféricos tais como alterações cardiovasculares e hipertermia. Todos estes efeitos podem ser mimetizados administrando MDMA à espécie <i>Rattus norvegicus</i>. Existem muitos estudos publicados com esta espécie, o que torna mais fácil a escolha de doses, método de administração e planeamento experimental, com menor sofrimento e stress para os animais. Além disso, outro modelo vulgar de laboratório como o <i>mus musculus</i>, não reproduz o fenómeno neurotóxico da MDMA, pelo que a extrapolação de estudos para os humanos recorrendo a este modelo revestem-se de maior dificuldade.</p> <p>Medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais: As experiências serão realizadas nas instalações de um estabelecimento onde todos os animais serão mantidos num ambiente controlado com temperatura fixada em 22°C, 40% de humidade relativa e um ciclo luz / obscuridade de 12h/12h. Toda a segurança, condições sanitárias e os procedimentos de</p>

esterilização estão/serão implementados para reduzir contaminações e o sofrimento dos animais. Todos os procedimentos que necessitam de manipulação de animais serão realizados por veterinários treinados e certificados, que estão permanentemente nas instalações. Os animais serão acomodados num sistema de IVCs, em gaiolas Sealsafe Plus Tecniplast GR900 (405x355x230mm) de forma a garantir o fácil movimento dos animais e o seu espaço vital. As gaiolas experimentais serão enriquecidas com papel de forma que os animais possam construir ninhos e manter o seu comportamento social habitual. Estas técnicas de 'Refinement' permitirão melhor ajuste do animal ao meio ambiente, menos sofrimento ('Distress'), assim como resultados mais reprodutíveis e fiáveis.

Três dias antes do tratamento repetido com a MDMA uma pequena sonda subcutânea própria para administração em animais com 120 miligramas de peso (de material externo biocompatível de 2,2x14mm), será inserida na região dorsal de cada animal. Esta sonda permitirá registar a temperatura corporal em intervalos frequentes, sem ser necessário recorrer a métodos mais invasivos e/ou que exijam uma contenção mais exigente e potencialmente stressante. Para tal, uma pequena porção (~ 1 cm²) da região dorsal de cada ratazana será tricotomizada sem que haja dano na pele do animal. Após este procedimento, um anestésico local em gel contendo Lidocaína + Prilocaína (EMLA®) vai ser aplicado através de movimentos circulares na pele, por forma a garantir a sua total eficácia. Depois de aproximadamente 1 hora, quando toda a área estiver totalmente anestesiada localmente, cada animal será brevemente anestesiado por via inalatória com o anestésico geral isoflurano (Isoflo®). Com o animal anestesiado, a sonda de temperatura vai ser inserida com uma agulha que vai perfurar a pele na zona onde houve a prévia tricotomização e aplicação de anestésico local. Este procedimento não irá originar qualquer dano relevante para a pele e/ou animal, não implica aplicação de suturas ou pontos cirúrgicos, e o animal poderá recuperar do stress do procedimento durante um período de 3 dias, também para lhes permitir a adaptação à presença da própria sonda no seu corpo. Durante este período, todos os animais estarão alojados em grupos (2 a 3 animais/gaiola) de modo que os seus níveis de stress estejam reduzidos e as suas interações sociais mantidas. Os alimentos e a água serão fornecidos *ad libitum* e o ferimento resultante da aplicação da sonda será vigiado para verificação de sinais de inflamação ou desconforto. No

estudo prévio, em todos os animais a cicatrização ocorreu muito rapidamente, sem qualquer complicação a relatar. Durante este período, os animais também irão entrar em contacto com a proximidade do aparelho de leitura de temperatura, a fim de evitar qualquer stress durante o dia da experiência, em que a temperatura corporal irá ser avaliada. O dispositivo de medição da temperatura corporal deve ser colocado a cerca de 3 cm do animal para permitir o envio de sinal da sonda da temperatura, permitindo que o animal se mova livremente na gaiola durante a captação do sinal.

No dia da experiência, os animais serão separados (1 por gaiola), pois espera-se que a MDMA cause um aumento significativo da temperatura do corpo e também aumente a locomoção, o que pode provocar comportamentos mais agressivos entre animais, algo que poderia resultar em ferimentos. Este procedimento de separação dos animais irá também permitir um aumento de temperatura do corpo do animal de uma forma mais controlada após a administração da 'ecstasy', pois encontra-se descrito que as interações com outros animais no interior da gaiola poderão causar um aumento perigoso da temperatura do animal, causando hipertermia severa. Não é esperado com este tratamento (e com os procedimentos preventivos utilizados) dor ou sofrimento grave ou moderado nos animais, mas de acordo com os procedimentos éticos do 'pain scoring system', uma tabela de observação dos animais será elaborada onde se registarão alterações de aparência, de consumo de água ou comida, sinais clínicos ou alterações de comportamentos naturais da espécie. Às alterações serão atribuídos valores de severidade. Assim, se a soma dos valores superarem o 10, os animais terão que ser atentamente avaliados; se a soma superar o 15, proceder-se-á à eutanásia dos animais de forma a evitar o seu sofrimento assim como evitar perda de amostra a analisar. Os pontos a avaliar durante o decurso das experiências serão p.ex.:

- Perda de peso até 10% em 2 dias é considerado um parâmetro severo (associada à redução do consumo de comida),
- Letargia avaliada pelo animal não se mexer durante 5 minutos durante o seu período activo,
- Hipertermia,
- Falta de 'grooming' ou avaliação de aparência normal do animal,

- Vocalizações ou mutilações,
- Desidratação (associada à redução do consumo de água)
- Alteração da coloração e brilho das mucosas, etc.

O efeito mais esperado após a administração de MDMA será a hipertermia. Encontra-se bem descrito o efeito hipertérmico da administração de MDMA nos animais e humanos (Capela *et al.*, 2009). Será de esperar o aumento da temperatura corporal do animal após a administração de MDMA que poderá atingir cerca de 39 a 40°C durante um curto período de tempo. Espera-se que 3 a 4 horas após a administração de MDMA a temperatura corporal retorne aos valores basais. No caso da temperatura corporal dos animais atingir temperaturas de hipertermia severa, próximas de 41°C, estes animais serão cuidadosamente avaliados para verificar a evolução da sua temperatura. Caso a temperatura corporal do animal volte a baixar num curto período de tempo, não serão de esperar consequências para o animal. Sinais comportamentais como letargia ou falta de resposta a estímulos poderão representar possível toxicidade severa resultante desta temperatura. Caso estes sinais surjam e a temperatura persista, para evitar a letalidade e sofrimento do animal causado por uma possível falência multiorgânica, as caixas dos animais serão colocadas sobre um banho de água fria, de modo a que mais rapidamente a sua temperatura corporal estabilize. Além disso, caso se verifique a hipertermia severa antes da subsequente administração de MDMA, a esse(s) animal(ais) não será administrado com mais nenhuma dose posterior. Em ambas as experiências 1 e 2 (com sacrifício após 24h ou 7 dias), os animais serão divididos em dois grupos: controlo (n = 6) e um grupo tratado com MDMA (n = 6). Antes do início da experiência serão registados o peso do animal, o peso da comida e o volume de água, assim como a temperatura subcutânea de cada animal antes de qualquer manipulação ocorrer. Três doses de MDMA (5mg/kg) serão administradas aos animais, cada injeção separada por 2 horas, de forma a mimetizar a administração repetida que ocorre no uso abusivo de MDMA em humanos. Os animais serão vigiados durante e logo após cada administração. Duas soluções estéreis diferentes de MDMA com duas concentrações diferentes serão utilizadas nas experiências, de forma a garantir que o volume total a ser administrado por via intraperitoneal (i.p.) não excede o total do recomendado (2 mL para um animal

de 200gr) e que o volume não seja demasiado pequeno para ser administrado com precisão: a solução de 2,5 mg/ml de MDMA em NaCl 0,9% irá ser utilizada na população jovem e uma solução de 5mg/mL de MDMA em NaCl 0,9 % irá ser utilizada na população idosa. Estas soluções serão esterilizadas por filtração e seus contentores desinfectados antes de entrar no biotério. Cada seringa será usada uma única vez. Na população jovem, um volume médio de cerca de 330 µL de uma solução salina (NaCl 0,9%) ou MDMA (5mg/kg) será injectado i.p. de cada vez, perfazendo um volume total de 1 ml, logo inferior ao máximo recomendado. Para a população idosa, um volume aproximado de 500 µL será injectado (i.p.) em cada administração, quer da solução de soro fisiológico (NaCl 0,9%) ou a solução de MDMA (5mg/kg), perfazendo um volume total de 1,5ml logo inferior ao máximo recomendado. Em ambos os casos, haverá uma alternância no lado do abdómen em que será feita a injeção, nomeadamente será a esquerda / direita / esquerda, uma vez que as três injeções terão lugar a cada duas horas e para evitar dano ou alterações de absorção. Entre cada injeção, uma nova agulha vai ser usada. A partir da administração da primeira dose, a temperatura de cada animal será medida e registada a cada 15 minutos até um total de 6 a 7 horas, até se atingir a normalização da mesma aos valores antes da administração. A fim de evitar adicional stress do animal, a temperatura vai ser medida com o dispositivo apropriado que efectua a leitura à distância com a sonda previamente introduzida. Este método permite que o operador se aproxime da região dorsal do animal, sem que tal implique a manipulação ou contacto com o animal, podendo este mover-se livremente na gaiola.

Nas duas experiências, ou seja nas 24 horas seguintes (experiência 1) ou nos sete dias seguintes (experiência 2), os animais serão avaliados duas vezes por dia por veterinários especializados, a fim de detectar quaisquer sinais de sofrimento. Além disso diariamente, o peso do animal, o peso de comida e água ingerida serão registados, bem como a temperatura corporal do animal, aproximadamente à mesma hora em que a primeira injeção de MDMA ocorreu.

Como referido, no final das experiências, ou quando o sofrimento dos animais for superior aos 'humane endpoints' estabelecidos, os animais serão sacrificados através de um procedimento de eutanásia ético, sob anestesia com isoflurano (este anestésico não sofre metabolização hepática que possa interferir com o metabolismo da MDMA) e exsanguinação (o

sangue será usado para a avaliação dos parâmetros sanguíneos de dano cardíacos e hepático).

Título do projeto	Estudo de biocompatibilidade dos biomateriais em modelos <i>in vivo</i>		
Duração do projeto	9 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	Vidros bioactivos, materiais compósitos, materiais reabsorvíveis, <i>scaffolds</i> porosos, regeneração óssea		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	O objectivo deste projecto de investigação animal é a avaliação <i>in vivo</i> da biocompatibilidade, e da actividade regenerativa óssea de biomateriais, nomeadamente vidros bioactivos. A regeneração de alguns defeitos ósseos continua na actualidade a ser um problema severo. A utilização de enxertos autólogos é ainda a melhor hipótese, no entanto, a obtenção de material autólogo nem sempre é possível. A utilização de vidros bioactivos tem demonstrado bastante potencial nesta área científica, e é nosso objectivo comprovar as elevadas taxas de eficácias de novas composições de biovidros.		
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 partir dos resultados obtidos poderá ser encontrado um ou vários vidros bioactivos que no futuro poderão vir a ser utilizados em regeneração óssea, suprimindo uma lacuna existente nesta área do conhecimento.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Ratos Wistar		

<p>No contexto do que se propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projecto?</p>	<p>A experimentação animal será conduzida de acordo com as orientações europeias para o cuidado e uso de animais de laboratório. Para a realização da tarefa proposta, irá ser utilizado o método cirúrgico de implante de material em tecidos ósseos descrito por Bosch et al. (1998). Todo o procedimento será efetuado com o animal anestesiado.</p> <p>No final do protocolo experimental os animais serão sacrificados com uma mistura de quetamina e clorpromazina (10:2, v/v) a uma dose de 2 mL/kg de peso corporal (i.m.) complementado pelo método de decapitação (confirmação da morte do animal). Os órgãos serão recolhidos para posterior análise histopatológica.</p> <p>As Boas Práticas de Laboratório serão cumpridas.</p>
<p>Aplicação dos 3Rs</p>	
<p>1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Tratando-se de um modelo de regeneração óssea, seria impossível comprovar estas capacidades sem recurso a um modelo <i>in vivo</i>. No entanto, tendo em conta a política dos 3Rs, foi efectuada anteriormente uma análise <i>in vitro</i> que nos deu uma noção inicial dos materiais mais promissores, e apenas estes serão testados <i>in vivo</i>, conseguindo-se deste modo reduzir o número de animais em experiência.</p>
<p>2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Considerando o número de amostras a testar (scaffolds porosos de 4 vidros bioactivos diferentes, e 4 materiais compósitos obtidos da combinação dos vidros bioactivos com quitosano), e a significância estatística dos dados recolhidos, será necessário utilizar um número mínimo de 6 a 8 por cada material a testar.</p>
<p>3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>O modelo experimental foi selecionado tendo em conta uma extensa pesquisa bibliográfica. Todas as bases bibliográficas indicam este modelo animal como um dos principais e mais utilizados na investigação em causa.</p>

<p>Título do projeto</p>	<p>Controlo Intra-operatório de complicações Abdominais (CICA®)</p>		
<p>Duração do projeto</p>	<p>3 anos</p>		
<p>Palavras-chave (máx. 5)</p>	<p>Complicações intra-operatórias; cirurgia abdominal; porcos; CHVR</p>		
	<p>Investigação fundamental</p>		<p>Não</p>
	<p>Investigação translacional ou aplicada</p>	<p>Sim</p>	
	<p>Uso regulamentar e produção de</p>	<p>Sim</p>	

Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	rotina		
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Sim	
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Os objetivos do curso visam criar competência de como atuar em ambiente cirúrgico quando surgem complicações abdominais acidentais e inesperadas? O que fazer se, durante uma cirurgia abdominal, há lesão inadvertida de outro órgão que não o alvo da cirurgia? Como proceder para solucionar essas complicações? Por exemplo, o que deve ser feito se, durante uma histerectomia, há lesão inadvertida de um grande vaso ou do intestino ou da bexiga? Como atuar no caso de uma lesão acidental no fígado?		
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 benefício do presente estudo é destinado ao ser humano, uma vez que se pretende criar um ambiente controlado de simulação e a utilização dos mais avançados materiais e biomateriais existentes no mercado para resolução de complicações acidentais de órgãos abdominais. Assim, os profissionais de saúde (médicos cirurgiões e enfermeiros) ficarão melhor preparados e saberão como atuar em situações semelhantes que poderão surgir em ambiente operatório real (cirurgia humana), minimizando as perdas de vidas humanas devido a acidentes intra-operatórios. Os que beneficiarão deste estudo serão os médicos, enfermeiros e todos os pacientes que surgirem em ambiente operatório destes mesmos médicos e enfermeiros.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Serão usados porcos (<i>Sus scrofa domesticus</i>) de raça Large white. Durante os 3 anos de estudo/simulação serão usados 6+12+12, num total de 30 animais, em cursos de formação com n mínimo de 4 animais e no máximo de 6 animais.		
No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do	O grau de severidade esperado é de não-recuperação. Será usada anestesia e analgesia, pelo que os animais não recuperarão da anestesia, sendo eutanasiados durante a anestesia no final dos procedimentos cirurgicos.		

projeto?	
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição). Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	O curso desenvolver-se-á em dois dias, sendo que numa primeira fase decorrerão as sessões teóricas, seguido de sessões práticas em workshops de simulação através do manuseamento de materiais específicos, uso de órgão e cadáveres e análise e discussão de casos clínicos. Esta componente é complementada por uma sessão de bloco operatório com animais de experimentação (porcos), onde serão postas em prática as abordagens e técnicas específicas às lesões mais frequentes por órgão explanadas no primeiro dia. O estudo dos mecanismos fisiológicos e hemodinâmicos de resolução de complicações abdominais só se consegue compreender e extrapolar para o ser humano usando um modelo animal vivo.
2.Reduction (Redução). Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	O número mínimo de animais (4 a 6 por cada curso) será escolhido de acordo com o número de formandos interessados. O curso só se realizará havendo formandos suficientes para o uso de 4 animais e no máximo, por curso, serão usados 6 animais. Haverá um animal para cada 2 médicos-cirurgiões e 1 enfermeiro instrumentista, no mínimo. No caso de não haver número mínimo de formandos, o curso não se realizará.
3.Refinement (Refinamento). Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	O número de animais, possível dor, sofrimento e angústia e o impacto ambiental, serão reduzidas através das condições de alojamento, aclimatização e habituação após a sua transferência do local de criação. Nesta fase os animais beneficiam de enriquecimento ambiental e maior contacto com os tratadores e médicos veterinários. A pré-medicação anestésica, anestesia e uso de analgésicos e monitorização contínua dos animais durante toda anestesia até eutanásia permite controlar qualquer evento que aconteça durante os procedimentos com os animais anestesiados. A aplicação de Humane-endpoints sempre que justificável e necessário.

Título do projeto	Mecanismos e estratégias de tratamento da deficiência da cicatrização cutânea na diabetes		
Duração do projeto	3 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Diabetes; pele; cicatrização; BMP7; Neurotensina		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de		Não

	rotina		
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	<p>A diabetes causa complicações graves, como por exemplo as úlceras diabéticas. O principal objectivo deste estudo é entender porque é que as feridas curam mais lentamente em animais/pessoas que tenham diabetes comparado com os que não tem. Assim, pretende-se estudar os mecanismos celulares e moleculares que estão por de trás desta deficiência, que causa um enorme sofrimento e custos para a saúde dos pacientes em Portugal e no Mundo.</p> <p>Pretendemos estudar a importância de neuropeptídeos (NPs), da proteína morfogenética óssea 7 (“Bone Morphogenic Protein” - BMP7) e da utilização de um biomaterial o alginato de forma a servir de estrutura na aplicação e combinação do tratamento com neurotensina (NT) e/ou BMP7 na cura da ferida, já que estes se encontram diminuídos/disfuncionais na pele de animais diabéticos</p>		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	Este trabalho irá proporcionar novos conhecimentos científicos sobre o papel do NT e do BMP-7 na cicatrização de feridas e, potenciar o desenvolvimento de novos produtos nos tratamentos de modo a acelerar a cicatrização de feridas em diabéticos.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Murganhos C57Bl6 e murganhos C57Bl6 BMP7+/- (total 570)		
No contexto do que se propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	O efeito adverso presente é a diminuição de peso nos murganhos diabéticos, que será vigiado e medicado. O grau esperado de severidade é moderado. Os animais no fim do projecto serão occidados e os diferentes órgãos recolhidos.		
Aplicação dos 3Rs			
1.Replacement (Substituição)	Os ensaios <i>in vitro</i> de cultura de células da pele		

Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	comprovaram a viabilidade e sobrevivência destas depois de tratamentos com NPs, condições semelhantes as que existem na pele diabética. Contudo não permitem estudar o papel da inflamação e da regeneração do tecido, tendo que recorrer a modelos animais.
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Os animais são distribuídos em 4 grupos experimentais com/sem diabetes e tratados até aos 3/10 dias com 12 animais/grupo para se obter resultados significativos.
3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	Os murganhos C57Bl6 são o modelo mais utilizado na literatura no estudo das complicações da diabetes a nível da ferida do pé diabético. A cirurgia será efectuada sob anestesia. Após cirurgia (p.c) os animais serão monitorizados 4 vezes/dia com comida húmida na cama. Será fornecido analgesia (de 8 em 8 horas nas 24h p.c), aquecimento (3 horas p.c) e fluidoterapia (12-12h na 72h p.c). O peso destes será monitorizado durante a experiência. Sempre que demonstrem uma perda de peso superior a 20% do peso inicial serão eutanasiados com sobredose anestésica, haverá também a utilização de animais transgênicos que são específicos para responder as perguntas em causa.

Título do projeto	DEXGELERATION - Soluções Avançadas de Regeneração Óssea com Base em Hidrogéis de Dextrino		
Duração do projeto	2 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Osso; Regeneração óssea; Biomateriais; Hidrogel de Dextrino; Bonelike.		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim	
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de		Não

	animais geneticamente alterados		
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	<ol style="list-style-type: none"> 1) Avaliação da eficácia das formulações biológicas de hidrogel + células estaminais + Bonelike + MEC em defeitos ósseos (n=24, 4 grupos de 6 animais cada) ao fim de 6 e 12 semanas de exposição; 2) Avaliação da eficácia das formulações biológicas de hidrogel + Bonelike + MEC em fraturas (n=36, 6 grupos de 6 animais cada) ao fim de 6 e 12 semanas de exposição; 3) Avaliação da eficácia das formulações biológicas de hidrogel + Bonelike + PLGA em defeitos ósseos não críticos contaminados (n=24, 4 grupos de 6 animais cada) ao fim de 6 e 12 semanas de exposição. 		
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>Pretende-se a criação de novos conhecimentos e o desenvolvimento de estratégias e soluções sofisticadas avançadas para regeneração óssea, recorrendo a biomateriais, com base numa plataforma tecnológica altamente promissora patenteada (hidrogel de dextrino), e que combinarão de forma única outros biomateriais avançados (Bonelike® (biomaterial proprietário da empresa Biosskin), células estaminais, micropartículas de PLGA, matriz extracelular), visando o desenvolvimento de novos produtos dirigidos ao segmento mais importante do mercado da regeneração óssea, o segmento da ortobiologia. Nestes diversos produtos estarão incluídos alguns com propriedades de osteoregeneração, osteocondutividade e osteoindutividade, bem como, um sistema biodegradável de entrega e libertação controlada de gentamicina (ou outros antibióticos). Pretende-se ainda verificar quais os biomateriais que proporcionam melhor osteo-indução e osteo-integração, envolvimento com as estruturas adjacentes, resposta do hospedeiro através dos tecidos envolventes e potencial regenerador na presença de defeitos ósseos não contaminados e contaminados e fraturas.</p>		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	<p>Caprinos, espécie: <i>Capra aegagrus</i> Serão usados: 24+36+24, divididos em grupos de 6.</p>		
No contexto do que você propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da	<p>O grau de severidade esperado é de ligeiro a moderado. No final do estudo os animais serão eutanasiados.</p>		

realização do projeto?	
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição). Refira a razão porque precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	O estudo dos mecanismos fisiológicos de regeneração óssea quando diferentes biomateriais são aplicados só se consegue utilizando animais vivos.
2.Reduction (Redução). Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	O número mínimo de animais por grupo (n=6) foi estimado com base em resultados encontrados na bibliografia e recorrendo ao teste de poder estatístico, de forma a garantir o uso do menor número de animais e a obtenção de resultados fidedignos. A quantidade de biomateriais a avaliar bem como a conjugação entre eles determina a existência de vários grupos de 6 animais.
3.Refinement (Refinamento). Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	O modelo animal, a cabra, cria um ambiente funcional junto dos implantes comparável com o que acontece nos humanos, dado que apresentam taxas metabólicas e de remodelação óssea muito semelhantes à dos seres humanos, daí a sua escolha. O refinamento será aplicado em todas as fases, no alojamento, manejo e handling dos animais antes, durante e depois da realização dos procedimentos. O acompanhamento e monitorização do estado de saúde e bem-estar dos animais será realizado diariamente pelo médico veterinário responsável e o tratador. No final do estudo, os animais serão eutanasiados.

Título do projeto	Estudo da biodistribuição <i>in vivo</i> de nanogéis poliméricos: modelos balb/c e de xenoenxerto de cancro		
Duração do projeto	A experiência será realizada no período de 1 ano e terá a duração de 1 mês, aproximadamente		
Palavras-chave (máx. 5)	Biodistribuição, Nanogel, Ácido Hialurónico, Glicol Quitosano, ratinhos xenógrafos		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não

	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Sim	
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	<p>O objectivo deste estudo consiste na avaliação da biodistribuição <i>in vivo</i> de nanopartículas poliméricas num modelo de ratinho. Neste ensaio pretendemos avaliar a biocompatibilidade <i>in vivo</i> dos nanogéis, ou seja o seu perfil de distribuição/acumulação nos órgãos, após administração por via endovenosa.</p> <p>Adicionalmente, pretende-se avaliar a capacidade de direcção dos nanogéis para tumores induzidos subcutaneamente, em ratinhos xenógrafo. A retenção do nanogel no local de acção depende em parte do tempo de semi-vida do mesmo. Deste modo, a quantificação/deteção dos nanogéis no sangue e nos órgãos ao longo do tempo permitir-nos-ão deduzir quanto à eficácia do sistema.</p> <p>Os nanogéis a serem testados foram desenvolvidos e extensivamente caracterizados com vista à sua utilização no tratamento do cancro como potenciais veículos terapêuticos e de diagnóstico. De salientar que estes têm afinidade específica para determinados receptores de células tumorais, nomeadamente receptores para o ácido fólico e receptores CD44, os quais estão sobreexpressos em determinadas linhas celulares tumorais.</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 ensaio em questão pretende averiguar a potencialidade dos nanogéis poliméricos desenvolvidos como veículos de libertação controlada e/ou diagnóstico no tratamento do cancro.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Serão utilizados 48 animais Balb/C e 48 animais Crl: CD1-Foxn1 ^{nu}		
No contexto do que se propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Relativamente aos ensaios designados 1 e 2, nomeadamente o estudo da biodistribuição dos nanogéis em ratinhos Balb/C os possíveis efeitos adversos são classificados com severidade Ligeira. Neste ensaio está prevista a administração dos sistemas por via intravenosa na veia da cauda. Estudos <i>in vitro</i> atestaram a biocompatibilidade dos materiais. Relativamente aos ensaios 3 e 4 nos quais se avalia o direcção dos nanogéis para as massas tumorais induzidas subcutaneamente no dorso dos ratinhos, estão classificados com severidade moderada. O desenvolvimento e crescimento do		

	<p>tumor causa desconforto nos animais o que justifica a classificação referida. No entanto, os animais serão monitorizados quanto ao seu estado de saúde e possível sofrimento até que o tumor atinja aproximadamente 100 mm³. Em ambos os ensaios, após a administração dos nanogéis por via endovenosa e a intervalos de tempo estabelecidos - 5min, 30 min, 1h, 8h, 24h e 48h - os animais são anestesiados para aquisição de imagens num sistema <i>in vivo</i>. Após imagiologia os animais serão eutanaziados e os seus órgãos recolhidos - cérebro, coração, pulmões, baço, rins, fígado, sangue, pele, músculo e tumor (no caso dos ensaios 3 e 4). Os órgãos depois de excisados são visualizados novamente no sistema de aquisição de imagem uma vez que a observação directa dos mesmos permite uma avaliação mais exacta da localização do material, uma vez que não existe interferência dos tecidos.</p>
Aplicação dos 3Rs	
<p>1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Os sistemas desenvolvidos foram caracterizados suficientemente <i>in vitro</i> e a sua biocompatibilidade verificada, assegurando a inocuidade dos sistemas para administração <i>in vivo</i>. No entanto, não existem alternativas não-animais para mimetizar a biodistribuição de um sistema de libertação controlada administrado intravenosamente, <i>in vivo</i>, justificando assim a necessidade de utilização de um modelo <i>in vivo</i>.</p>
<p>2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Em cada um dos ensaios serão usados 24 animais que serão divididos em duplicados e em 6 tempos de análise - 5 min, 30 min, 1h, 8h, 24h e 48h. Cada um dos animais após análise no sistema de aquisição de imagem será eutanaziado e os seus órgãos extraídos e analisados para uma mais sensível avaliação da distribuição do material administrado. A imagiologia do corpo inteiro do animal é possível de ser afectada pela interferência dos restantes tecidos e por isso sujeito a interpretações erróneas.</p>
<p>3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>Foi escolhido o modelo de ratinho Balb/c para os ensaios de biosdistribuição (ensaios 1 e 2) devido à facilidade de aquisição e de manuseamento dos animais.</p> <p>No caso dos ensaios com indução de um tumor foram escolhidos os ratinhos Crl: CD1-Foxn1^{nu} por ser um modelo animal imunodeprimido que não irá desenvolver uma resposta imunológica ao ser induzido um tumor de células humanas.</p>

Título do projeto	Modulação da infecção pelo vírus influenza A pelos reguladores do complemento CD55 e CD59
--------------------------	--

Duração do projeto	3 anos		
Palavras-chave (máx. 5)			
Fim/objectivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim	
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados	Sim	Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	<p>O vírus de influenza A usa variadas estratégias para escapar ao sistema imunitário. Estas estratégias foram largamente investigadas no que toca a especificidade das estirpes virais e ao sistema imunitário do hospedeiro. O complemento é um processo do sistema imunitário que faz ponte entre a imunidade inata e a imunidade adaptativa, que é activado durante a infecção viral, sendo uma parte essencial da resposta immune.</p> <p>A função do complemento na resposta contra o vírus influenza A ainda está por explorar. Publicações recentes mostram que a severidade da doença em pacientes está associada a um aumento da resposta imune mediada pelo complemento. Isto sugere que a activação do complemento está directamente ligada à infecção viral. Resultados preliminares gerados pelo nosso laboratório mostram que os níveis de inibidores do complemento, CD55 e CD59, aumentam na superfície de células infectadas. Em particular, a deposição de CD55 na superfície das células está ligada ao transporte de partículas do genoma viral aos sites de assemblagem dos novos vírus. Contudo, a ligação entre partículas virais e CD55, ou outros inibidores do complemento, ainda não foi explorada.</p> <p>Além disso, CD59 foi identificado em viriões, mas a sua função, ou a de qualquer outro inibidor do complemento, na infecção pelo vírus de influenza A permanece por explorar e poderá ajudar o vírus a escapar ao sistema imunitário. Se tal for o caso,</p>		

	<p>poderemos aceder a novas estratégias para aumentar a viabilidade de virus atenuados a assim melhorar vacinas. No entanto, tais estratégias requerem um estudo aprofundado dos ditos inibidores do complemento, da sua função, e do seu impacto na resposta imune.</p>
<p>Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?</p>	<p>Este projecto permitirá o desenvolvimento de novas terapias e técnicas para novas vacinas a fim de combater o virus da gripe e subseqüentes infecções secundárias que são causa de morte de muitos pacientes.</p>
<p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p>	<p>Mus musculus (ratinho, background C57BL/6)</p> <ul style="list-style-type: none"> • C57BL/6 :125 por ano • DAF -/- :125 por ano • CD59 -/- :125 por ano • DAF/CD59 -/- :125 por ano
<p>No contexto do que se propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?</p>	<p>Perda de peso e disfuncionalidade respiratória. Animais perdendo 20% do peso inicial serão sacrificados. No final do projecto os animais serão sacrificados.</p>
<p>Aplicação dos 3Rs</p>	
<p>1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Estudos <i>in vivo</i> serão previamente validados <i>in vitro</i>. Estes estudos <i>in vivo</i> são essenciais para investigar de forma controlada a patologia da doença, em particular o efeito de diferentes estirpes de influenza no sistema imune. Não existem alternativas <i>in vitro</i> que possam responder às questões aqui colocadas. Para captar, tanto quanto possível, a integridade dos processos e a complexidade existente num organismo, é necessário usar modelos experimentais. O modelo de ratinho é o mais adaptado ao nosso estudo porque através de uso de knock-outs de genes específicos podemos estudar a sua função durante a infecção e porque o sistema imune do ratinho está bastante estabelecido permitindo paralelismo com a infecção em humanos. Estudar o virus da gripe num organismo mamífero permite extrapolar para os humanos o que não seria possível usando alternativas não animais.</p>
<p>2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Experiências serão realizadas com o mínimo de animais e feitas unicamente em triplicados para reduzir ao máximo o número de animais utilizados.</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</p>	<p>Há duas vantagens em usar O modelo de ratinho. Por um lado, podem usar-se estirpes KO do gene de interesse e analisar do seu efeito na infecção. Por outro lado, este modelo permite extrapolar o que se passa em humanos durante a infecção.</p>

objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	Para minimizar o sofrimento do animal, ratinhos demonstrando sinais de sofrimento e uma perda de peso superior a 20% serão sacrificados. Adicionalmente, será facilitado o acesso a comida e água aos animais demonstrando os primeiros sinais de doença.
--	---

Título do projeto	Estatinas e nanopartículas dirigidas ao CDX2 na reversão da metaplasia intestinal/prevenção do cancro gástrico”		
Duração do projeto	1 a 2 anos		
Palavras-chave (máx. 5)			
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	Sim	Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	Sim	Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;	Sim	Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Sim	Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal	Sim	Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados 2	Sim	Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Deteção, prevenção e tratamento do cancro gástricos e lesões percursoras		
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)?	Diminuição da incidência de cancro gástrico baseado em técnicas de diagnóstico precoce e adequação de novas terapias		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	<i>Mus musculus</i> (110 animais)		
No contexto do que você propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Desenvolvimento de lesões associadas a condições pré-neoplásticas e neoplásticas. De forma geral, o grau de severidade pode ser classificado de ligeiro a moderado. O moderado será minimizado.		
Aplicação dos 3Rs			

1.Replacement (Substituição) Refira a razão porque precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Não existe nenhum modelo experimental, que não o modelo animal, que mimetize todas as etapas da doença no Homem
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	O número de ratinhos utilizado é o mínimo de forma a permitir (1) a correta análise de causa-efeito e (2) qualquer avaliação estatística para validação dos resultados.
3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	Os modelos animais que serão utilizado são imunodeficientes ou imunocompetentes que desenvolvem espontaneamente a condição Não será necessária qualquer outro tipo de manipulação nos animais que não as descritas. Os animais serão vigiados diariamente e a muda das gaiolas será feita 2x/semana. Nas gaiolas serão colocados rolos de papel como forma de enriquecimento do meio e promoção do bem-estar animal.

Título do projeto	Avaliação <i>in vivo</i> do potencial biomédico de diferentes polissacarídeos		
Duração do projeto	5 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Celulose, dextrino, manano		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) ¹	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados ²		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Neste projecto pretende-se estudar a potencial aplicação de diferentes polissacarídeos para fins biomédicos e terapêuticos. Estudos desenvolvidos recentemente nos laboratórios do Centro de Engenharia Biológica (Universidade do Minho) permitiram desenvolver métodos para a produção e caracterização dos materiais em estudo, assim como avaliar biocompatibilidade (<i>in vitro</i>), hemocompatibilidade e interacção com células, entre outros. Estes estudos foram desenvolvidos no âmbito de projetos de doutoramento, já concluídos ou em		

	<p>fase de conclusão, tendo sido publicados diversos artigos em revistas internacionais. Destes estudos, destacaram-se os materiais desenvolvidos a partir de celulose, dextrino e manano pelo que se justifica assim o avanço desta investigação no sentido de avaliar e confirmar <i>in vivo</i> o seu potencial biomédico.</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>	<ul style="list-style-type: none"> • A utilização de materiais poliméricos biocompatíveis, sob a forma de nanopartículas, como transportadores de antigénios com propriedades adjuvantes imunológicas tem por objectivo desenvolver vacinas mais eficientes (resposta imunológica melhorada), quando comparadas com o antigénio dissolvido. O polímero deverá permitir controlar a biodistribuição e a biodisponibilidade do antigénio, o seu tempo de vida na circulação sanguínea e evitar degradação, precipitação e/ou agregação. • Avaliar a toxicidade de nano/microfibras celulose bacteriana por inalação com o objectivo de determinar a sua viabilidade como sistema de transporte de fármacos por via inalatória. • A proposta de novos materiais cirúrgicos para a correção de hérnias diafragmáticas, ou seja, redução da hérnia e oclusão do defeito diafragmático, tem como objectivo a introdução de alternativas viáveis, com performance melhorada, para minimizar os problemas associados com os materiais atualmente existentes no mercado e aumentar as hipóteses de sobrevivência e auxiliar o normal desenvolvimento de crianças que nascem com este defeito.
<p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p>	<ul style="list-style-type: none"> • Balb/c, 20 animais • Wistar rats, 16 animais • C57BL/6, 47 animais • Suínos, 24 animais
<p>No contexto do que se propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?</p>	<p>No contexto do presente projeto, o grau de severidade provável/esperado varia entre pouco a moderado. Os protocolos propostos pretendem reduzir ou evitar a dor e o sofrimento dos animais utilizados. Os animais serão manuseados apenas por pessoas treinadas e o bem-estar animal será garantido ao longo de todo o projeto. Ao longo das experiências será dada atenção aos sinais de dor por parte dos animais (alterações fisiológicas ou comportamento alimentar) e será realizada analgesia aplicável de acordo com as manifestações de dor observadas.</p> <p>Todos os animais morrerão assim que as experiências</p>

	estejam terminadas.
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	No âmbito deste projeto, recorre-se à experimentação animal por não existirem alternativas não-animais para os estudos pretendidos que garantam as evidências científicas que se pretendem alcançar com o presente estudo, para além de permitirem a extrapolação dos resultados.
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	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". Este método é baseado em ANOVA e é aplicável a toda a experimentação animal. De acordo com o método referido, um valor "E" é medido e deve estar compreendido entre 10 e 20. No caso de E ser inferior a 10, o aumento do número de animais na experiência irá aumentar a probabilidade de obter resultados mais significativos. No entanto se E for superior a 20, aumentar o número de animais não terá vantagem. Os tamanhos de amostra cujo valor E estiver compreendido entre 10 e 20 são considerados adequados.
3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	<ul style="list-style-type: none"> • Pretende-se usar ratinhos (Balb/c) para avaliar o potencial dos nanogéis num processo de vacinação, uma vez que é o modelo utilizado na literatura científica internacional, em estudos similares de imunização. O recurso a ratas (Wistar) no estudo da drenagem linfática, deve-se à reduzida dimensão dos gânglios em ratinhos, o que dificulta a sua recolha. • Os ratinhos C57BL/6 são frequentemente utilizados como modelo animal em estudos toxicológicos desta natureza. O seu ciclo de vida curto permite extrapolar a longo prazo o que poderia acontecer em humanos. • O modelo suíno escolhido para o estudo da hérnia diafragmática é dos mais eficazes em investigação cirúrgica pediátrica por ser o modelo que mais se aproxima em tamanho e similaridade anatómica a recém-nascidos, para além de permitir a avaliação da evolução do material com o crescimento do animal, em tempo útil. <p>Para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais, diferentes aspectos serão considerados, incluindo:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Recurso a instalações adequadas com

	<p>condições óptimas para a manutenção dos animais;</p> <ul style="list-style-type: none"> • Recurso apenas a pessoas treinadas para o manuseamento dos animais; • Redução do número de animais ao mínimo indispensável, garantindo ainda a significância dos resultados; • Recurso a protocolos que permitam minimizar e/ou eliminar o sofrimento dos animais.
--	--

Título do projeto	Segurança e eficácia da desnervação renal no tratamento da hipertensão resistente: avaliação clínica, imagiológica, imunológica e histológica.		
Duração do projeto	4 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	hipertensão, imunologia, tomografia de coerência óptica, simpático, desnervação.		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) ¹	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados ²		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	<p>O objetivo deste projecto é avaliar a segurança e eficácia da desnervação renal baseada numa avaliação clínica, analítica e imagiológica seriada. Trata-se de um procedimento percutâneo, actualmente realizado em Humanos como tratamento de última linha da hipertensão arterial resistente/refractária. A desnervação renal é uma técnica considerada segura. No entanto, dados relativos ao grau de lesão vascular induzida pela energia de radiofrequência são escassos. Adicionalmente, não se conhecem marcadores bioquímicos ou outros parâmetros que possam</p>		

	confirmar o seu sucesso ou o grau de desnervação atingido. A percentagem de doentes que não respondem ao tratamento ronda os 8-17%, podendo estar relacionada com uma seleção inapropriada de doentes, com um procedimento ineficaz ou com outras variáveis directamente relacionadas com a activação simpática. Actualmente, não é possível quantificar o grau de desnervação atingido, ou mesmo prever a resposta tensional.
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	Este projecto, potencialmente, vai permitir encontrar marcadores de desnervação, o que poderá revolucionar o tratamento da hipertensão arterial e, idealmente, expandir as indicações da técnica para outras patologias associadas a hiperactivação simpática.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Será utilizado o porco doméstico, por ser o animal com o sistema cardiovascular mais parecido com o Humano. Serão utilizados 12 animais (8 realizarão a desnervação e 4 serão os controlos).
No contexto do que se propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Os efeitos adversos mais comuns relacionam-se com o local de punção femoral (poderá ocorrer hematoma mas é raro). Após a desnervação os animais não sentirão dor. Após 2 meses será realizado o segundo procedimento e os animais serão sacrificados.
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	É necessário estudo histológico para avaliar o grau de desnervação atingido. Não é possível realizá-lo em Humanos ou animais com o sistema cardiovascular diferente do Humano.
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Este projecto tem o apoio estatístico da Sociedade Portuguesa de Cardiologia. Foi efectuado o cálculo da amostra.
3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	A espécie foi escolhida pela semelhança do aparelho cardiovascular. O material que será utilizado é o mesmo dos Humanos. Os procedimentos serão realizados sob anestesia geral.

Título do projeto	Fistulação ruminal de vacas		
Duração do projeto	2 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Fistulação; rúmen; vacas		
Fim/objectivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou		Não

	aplicada		
	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
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	O presente projeto tem como objetivo geral, a fistulação ruminal de vacas para apoio às aulas de várias unidades curriculares do Mestrado Integrado em Medicina Veterinária e às atividades de investigação na área da Nutrição Animal, na mesma instituição.		
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 avaliação <i>in vitro</i> ou laboratorial dos alimentos ou ingredientes das dietas de animais ruminantes constitui uma ferramenta importante, mas que deve ser considerada preliminar uma vez que não possibilita a extrapolação direta para a alimentação <i>in vivo</i> . O uso de animais fistulados no rúmen permite o estudo mais detalhado dos efeitos de ingredientes/suplementos/aditivos na função ruminal.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	4 bovinos		
No contexto do que se propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projecto?	<p>Desconforto decorrente:</p> <ul style="list-style-type: none"> - da cicatrização da fístula criada na fossa paralombar esquerda - das intervenções para assepsia pós-operatória na região da incisão - do contacto de algum fluído ruminal com a incisão nas primeiras 2 semanas pós-cirúrgicas - recolha periódica de conteúdo ruminal <p>Grau de severidade: ligeiro</p> <p>Os animais serão enviados para abate num matadouro homologado.</p>		
Aplicação dos 3Rs			
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Ainda não existe uma alternativa não-animal que replique fidedignamente o “ambiente ruminal” de um bovino.		
2.Reduction (Redução)	Dado ser bem conhecido o efeito animal, mesmo		

<p>Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>quando alimentados com o mesmo regime alimentar, é necessário mais do que um animal. Assim, optou-se pela utilização de um número mínimo de animais, mais concretamente 4 animais.</p>
<p>3. Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>Os bovinos foram a espécie escolhida porque, ao contrário dos ovinos e caprinos, permitem a recolha de uma maior quantidade de inóculo de rúmen e a incubação simultânea de um maior número de sacos. Adicionalmente, a relação entre os parâmetros de fermentação ruminal e a qualidade nutricional do leite difere entre espécies de ruminantes, não havendo outra espécie de menor porte que permitisse extrapolar os resultados para os sistemas de produção de leite da região de Entre Douro e Minho.</p> <p>(1) Sedação com xilazina a 2% por via endovenosa antes da cirurgia (2) Cirurgia por meio de anestesia local com lidocaína a 2% (3) Analgesia pós-operatória com carprofeno (sid, 3 dias)</p> <p>Excepto se em ensaios de nutrição, e dado a natureza gregária, os bovinos fistulados serão mantidos no mesmo parque utilizado pelo restante efectivo. Se as condições climatéricas assim o permitirem, terão também acesso livre ao pasto nos terrenos afectos ao estabelecimento onde são alojados.</p>

Título do projeto	Terapia bacteriofágica para infecções respiratórias agudas		
Duração do projeto	3 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	Terapia bacteriofágica; infecção respiratória; nebulização de bacteriófagos		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da		Não

	medicina legal		
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	A pneumonia bacteriana é a infecção mais frequente adquirida em ambiente hospitalar, com mortalidade associada entre 33 e 41%. Antibioterapia é utilizada rotineiramente nestas infecções, no entanto, as opções terapêuticas para as bactérias multi-resistentes, especialmente Gram-negativas são escassos. Deste modo existe a necessidade de se procurarem terapias antimicrobianas alternativas como o tratamento com bacteriófagos.		
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 grande vantagem da utilização dos bacteriófagos vem da sua especificidade, a ausência de toxicidade para as células humanas e animais, e da eficácia sobre bactérias em biofilmes. A utilização alternativa ou complementar aos antibióticos traria uma melhoria significativa do bem-estar dos pacientes com infecções respiratórias.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Seriam usados aproximadamente 100 murganhos, contando com ensaio piloto para estabelecimento da infecção e a necessidade de repetição do ensaio de eficácia do tratamento.		
No contexto do que se propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Os efeitos adversos são os normais associados a uma infecção respiratória aguda, com desconforto moderado para o animal. No final do ensaio todos os animais serão sacrificados e recolhidos os órgãos necessários.		
Aplicação dos 3Rs			
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Foram realizados previamente ensaios <i>in vitro</i> em bactérias. Os ensaios com linhas celulares não mimetizam o que se passa no pulmão ao nível do biofilme bacteriano, nem da resposta imune local.		
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	No ensaio de estabelecimento da infecção usar animais excedentes do biotério. Tentar obter o máximo de informação com cada ensaio para evitar repetições. O número de animais por grupo é o mínimo para termos significância estatística.		
3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os maisrefinados, tendo em conta os objectivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar	As espécies já tinham sido usadas anteriormente em modelos de infecções respiratórias. Serão usados placas térmicas por baixo das gaiolas para melhorar a recuperação depois da nebulização.		

(danos) aos animais.

Título do projeto	Validação de moléculas com propriedades terapêuticas em Doença de Parkinson		
Duração do projeto	2 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Parkinson's disease; 6-OHDA disease model; rodent behavior tests		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Este projecto foi concebido para testar potenciais agentes terapêuticos no tratamento da doença de Parkinson. Actualmente não existe uma cura para a Doença de Parkinson, apenas medicação para alguns dos sintomas.		
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)?	Sendo a Doença de Parkinson uma doença crónica que afecta o sistema motor, ou seja, que envolve os movimentos corporais, a sua cura ou melhoria de algum dos seus sintomas reverteria no aumento do bem-estar dos doentes e aumento da esperança média de vida.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Escolheu-se murganho CD-1 por ser um modelo já validado. Uma vez que é necessário otimizar muitos parâmetros, nos dois anos de ensaios poderemos chegar aos 420 animais usados.		
No contexto do que se propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	A progressão da doença é o normal: os animais começam a apresentar um certo grau de insuficiência nos movimento e coordenação 7 dias após a indução da doença. Estas deficiências progridem com o tempo e são expressos em movimentos lentos e diminuição da actividade espontânea, mas não há nenhuma dor associada à doença. Os animais serão sacrificados e amostras de sangue serão recolhidas antes da		

	remoção do crânio para ex-vivo análises.
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	O estudo de doenças que afectam o sistema nervoso central exige desde cedo a utilização de modelos animais. Os agentes terapêuticos aqui usados foram já pré-seleccionados com o modelo de peixe-zebra para minimizar o número de moléculas testadas em modelo de roedor.
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Diferentes estudos têm de ser feitas, a fim de otimizar vários parâmetros e testar a melhor aplicação terapêutica da molécula. No entanto, estamos a usar o menor nº de animais possíveis para ter um resultado significativo (mínimo 5 e no máximo 16 animais por timepoint) num total de 4 ensaios.
3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objectivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	Uma das vantagens deste modelo é que a indução da doença por injeção de 6-OHDA é unilateral, logo o outro lado do cérebro pode ser utilizado como controlo para a lesão. No entanto, vamos fazer testes de comportamento em todos os ensaios, porque consideramos de extrema importância para o objectivo do projecto. Por isso, é sempre necessário um grupo de controlo saudável para comparar com os grupos doentes. Apesar de ser um ensaio cego tentaremos minimizar a presença de objectos nas gaiolas uma vez que os movimentos dos animais doentes serão afectados.
O projeto será submetido a avaliação retrospectiva no final da sua realização.	

Título do projeto	Tratamento com clorambucilo em dose metronómica, firocoxib ou clorambucilo em dose metronómica em combinação com firocoxib como terapia adjuvante em cadelas com carcinoma mamário com alto risco de metastização: um estudo randomizado, prospetivo e multicêntrico.		
Duração do projeto	24 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	Firocoxib, clorambucilo, terapia metronómica, tumores mama cadela		
Fim/objectivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não

	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados ²		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	O objetivo principal deste estudo é investigar se os anti-inflamatórios não esteroides, inibidores seletivos da enzima Cox-2 apresentam efeito terapêutico e se esse efeito poderá ser potenciado, em associação com o clorambucilo em protocolo de quimioterapia metronómica.		
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 quimioterapia metronómica tem sido usada extensamente em medicina humana desde o ano de 2000 e em veterinária desde 2007. Este regime terapêutico caracteriza-se pela administração de doses muito pequenas de quimioterápicos antineoplásicos, por via oral e com poucos ou nenhuns efeitos secundários para o animal.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Serão incluídas cadelas com tumores de mama malignos de elevada agressividade histológica. Estima-se que possam ser incluídos até 20 animais em Portugal		
No contexto do que se propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Os efeitos esperados serão ligeiros ou ausentes. No final do estudo os animais permanecerão vivos e espera-se que com boa saúde e idealmente curados da doença ou em remissão clínica prolongada.		
Aplicação dos 3Rs			
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Trata-se de um estudo clínico randomizado em que é obrigatório o uso de animais, com necessidade de receber tratamento clínico para a doença presente. A doença (tumores de mama) é espontânea, sendo objetivo deste estudo ajudar a encontrar novas formas de a tratar.		
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Para procurar chegar a conclusões no mais breve tempo possível, este estudo é multicêntrico, incluindo cinco países europeus.		
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)	Nos últimos anos cresceram as evidências científicas que demonstram uma associação muito significativa entre a expressão da proteína Cox-2 e a malignidade nos tumores de mama da cadela. O nosso grupo de investigação tem publicado diversos estudos que demonstram a associação entre a expressão da Cox-2 e a malignidade tumoral em tumores de mama de cadela, entre outros tipos de tumores. Pelas evidências científicas disponíveis, a partir de estudos		

aos animais.	realizados em tecidos parafinados em tumores de mama de cadela, esta neoplasia expressa Cox-2 e a expressão desta proteína está relacionada com a sobrevivência dos animais (resultados obtidos em estudos retrospectivos). Por essa razão foi esta a espécie e neoplasia eleitas. Estas drogas já são usadas para tratamentos vários e com efeitos secundários muito ligeiros. No entanto, estes animais serão sujeitos a avaliação médico-veterinária regular durante o período do ensaio clínico, e os donos responderão a um inquérito relativamente à qualidade de vida dos seus animais, durante todo o período do ensaio.
--------------	--

Título do projeto	Determinação dos níveis séricos da uroquinase activadora do plasminogénio em cães com cancro		
Duração do projeto	1 ano		
Palavras-chave (máx. 5)	Cão; cancro; biomarcador; uroquinase		
Fim/objectivo do projecto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objectivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	No presente estudo, pretendemos avaliar a concentração sérica da uPA em cães com neoplasias, com o objectivo de investigar o seu potencial como biomarcador tumoral e factor de prognóstico. Actualmente os níveis desta enzima foram já identificados como biomarcadores em tumores de mama da mulher e a sua aplicabilidade está a ser estudada noutros tipos de cancro humano.		
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 existem actualmente biomarcadores diagnósticos ou prognósticos de neoplasias em cães. A sua identificação resultaria em grande benefício para os clínicos da espécie, que sob o ponto de vista diagnóstico quer para previsão de comportamento biológico agressivo dos tumores. Para além disso, a identificação de valores anormais em portadores da doença poderá constituir prova de conceito para o futuro desenvolvimento de terapias de alvo		

	<p>molecular que beneficiam tanto a saúde animal canina como, numa perspectiva translacional, patologias semelhantes em seres humanos.</p>
<p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p>	<p>Pretende-se comparar os níveis séricos da enzima em cerca de 20 animais afectados por processos neoplásicos com 20 cães saudáveis.</p>
<p>No contexto do que propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?</p>	<p>Este estudo será efectuado em cães de utentes de Centros de atendimento veterinário (CAMV) certificados pela DGV. Serão incluídos no estudo as amostras de sangue de 20 cães com neoplasias, recolhidas aquando do procedimento de recolha para análise pré-operatória, e de 20 cães saudáveis que necessitem de fazer uma colheita de sangue para uma avaliação de rotina.</p> <p>Não se prevê qualquer tipo de desconforto ou risco, para além de uma punção intravenosa para recolha sanguínea, porquanto se trata de procedimentos de rotina.</p>
<p>Aplicação dos 3Rs</p>	
<p>1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>Trata-se de uma investigação específica da espécie, em situação clínica espontânea, pelo que não é viável a utilização de qualquer modelo.</p>
<p>2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>Tratando-se de um estudo inicial, porquanto o tema ainda não foi estudado, e atendendo à enorme variedade de neoplasias que podem afectar os cães cremos que 20 animais serão o mínimo que permite obter dados que fundamentem um posterior estudo já mais focado em tipos neoplásicos específicos. Neste tipo de estudos (<i>case-control</i>) é necessário que o grupo de animais saudáveis corresponda o mais possível aos afectados pela doença, incluindo o seu número.</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>Trata-se de uma investigação específica da espécie canina, pelo que apenas animais desta espécie podem ser utilizados. Para minimizar os danos aos animais, as amostras serão obtidas no mesmo procedimento de recolha de amostra sanguínea para análises pré-operatórias ou de diagnóstico (animais com tumores) ou cães que necessitam de fazer uma colheita de sangue para uma avaliação de rotina, evitando-se assim qualquer stress relacionado unicamente com o projecto de investigação.</p>

Título do projeto	Controlo molecular da renovação e especificação da célula epiteliais tímicas progenitoras <i>in vivo</i>		
Duração do projeto	5 anos		
Palavras-chave (máx. 5)			
Fim/objetivo do projeto (de acordo	Investigação fundamental	Sim	

com Artº 5º)	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais	Sim	
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projecto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	<p>O timo é o órgão responsável pela produção dos linfócitos T, que são componentes indispensáveis na nossa resposta imune contra vírus e bactérias. Contudo, são também estas as células responsáveis por doenças autoimunes, dado reconhecerem por vezes inadequadamente elementos do próprio indivíduo como estranho. No timo, as células epiteliais tímicas (TEC) têm uma função essencial no desenvolvimento dos linfócitos T, assegurando que estes respondam contra patógenos sem danificar o hospedeiro. Consequentemente, uma deficiência na função das TEC, em humanos e murgos, resulta em síndromes que variam de imunodeficiência a autoimunidade. Este projeto visa identificar as células progenitoras das TEC e definir os mecanismos moleculares que regulam o seu funcionamento e renovação.</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>Este estudo tem importância fundamental, e clínica, para a compreensão dos princípios que regulam a resposta imune. Particularmente, tem o potencial de contribuir para um dos grandes desafios da imunologia moderna - perceber como modular a função do timo, através da manipulação das células progenitoras das células epiteliais tímicas. Os resultados obtidos neste projeto podem ser incorporados no desenho de novas imunoterapias que visam a modulação e indução da função das TEC, e consequentemente permitirão aumentar ou corrigir a atividade do timo em pacientes cuja sobrevivência e qualidade de vida depende do estabelecimento de respostas imunes adequadas. Consequentemente, este projeto contribuirá para um grande avanço na área das Ciências da Saúde, nomeadamente no desenvolvimento de novos tratamentos de pacientes com imunodeficiências e autoimunidade, onde é necessário induzir uma resposta imunitária mais completa ou adequada.</p> <p>Este projeto tem também grande relevância</p>		

	educativa, pois participarão nele alunos de mestrado e doutoramento, assim como investigadores em pós-doutoramento, em todos os casos com prévia acreditação em experimentação animal.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Desenvolvemos um novo modelo de murganhos transgênicos “IL7 ^{YFP} CCRL1 ^{GFP} dual reporter” que nos permite visualizar e analisar diferentes populações precursoras de TEC (Ribeiro <i>et al</i> JI 2013; Ribeiro <i>et al</i> EJI 2014) e que constituem a base do projeto. O timo destes animais será analisado durante o desenvolvimento embrionário, envelhecimento e imunodeficiência. Estimamos necessitar de ≈ 600-700 animais/ano, de forma a obter o número de células (TEC) necessário para a realização de experiências propostas no projeto ERC-2014-StG-637843. Utilizamos <i>power analysis</i> para determinar o número de animais necessários para cada uma das experiências propostas. Este número será reavaliado (e sempre que possível reduzido) de acordo com a variância dos dados obtidos nas diferentes experiências. Estes valores são também extrapolados com base em publicações da equipa ao longo do últimos anos (Alves <i>et al</i> PNAS 2009, Alves <i>et al</i> JI 2010, Ribeiro <i>et al</i> JI 2013, Ribeiro <i>et al</i> EJI 2014).
No contexto do que se propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Realizaremos procedimentos de severidade baixa (análise e remoção de órgãos/tecidos <i>post-mortem</i> em diferentes estados de desenvolvimento fetal e idades; administração oral; injeções endovenosas na veia caudal; irradiação sub-letal) a moderada (Transplantes de medula óssea através injeções endovenosas com pré-irradiação sub-letal; injeções intratímicas, transplantes tímicos na cápsula renal e castração com anestesia e analgesia pré- e pós-operatória). Todos os animais serão eutanasiados e analisados após o fim das experiências. Apesar da baixa/moderada severidade dos nossos procedimentos, e como expresso anteriormente a maioria dos procedimentos estar implementada pela equipa (FCT; DGV) e sem um histórico de alterações comportamentais e fisiológicas graves decorridas dos mesmo, manteremos um registo de alterações fisiológicas e comportamentais que possam emergir após alguns procedimentos. Estes podem ser retrospectivamente analisados, e consultados, de forma a adaptar novas práticas de refinamento evitando situações de stress, desconforto e dor nos animais durante a repetição dos mesmos procedimentos no desenrolar do próprio projeto ou no futuro.
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição)	Neste projeto estudamos um sistema fisiológico

<p>Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	<p>dinâmico – sistema imunitário – que não pode ser investigado de uma forma isolada, já que existem mecanismos de controlo de diferenciação celular que dependem de múltiplas células e tecidos que interagem entre eles ao longo do tempo. Murganhos são um excelente modelo para imunologia humana pois quase todo o nosso conhecimento sobre a compreensão do funcionamento do sistema imunitário deriva de estudos e descobertas nesta espécie. São também, adequados porque existem murganhos geneticamente modificados que podem ser utilizados como modelos para diversas patologias humanas. Finalmente, utilizamos murganhos dada a virtual impossibilidade de realizar estudos de manipulação de função tímica com relevância científica e clínica em humanos ou em linhas celulares,</p>
<p>2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	<p>O número de animais é mantido a um mínimo necessário para a obtenção de células alvo e de acordo com validade estatística. Estimamos 600-700 murganhos/ano. Todavia, sempre que possível, realizaremos estudos <i>in vitro</i>, permitindo assim diminuir o número de animais utilizados.</p>
<p>3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>Os animais serão submetidos a procedimentos com grau de perturbação baixo a moderado, sendo monitorizados para parâmetros de bem estar comportamental e fisiológico, e habituados gradualmente às diferentes situações de teste, a fim de minimizar o stress. Para aliviar desconforto/dor dos animais em métodos com perturbação moderado (e.g. cirurgias), procedemos imperativamente a uma série de cuidados pre- e pós-operativos (detalhados em baixo e no formulário). Os animais são manipulados por tratadores e investigadores treinados e acreditados pela DGV. Apesar da maioria dos procedimentos estar implementada no nosso laboratório, no âmbito de projetos anteriores (FCT; DGV), caso os animais apresentem alterações fisiológicas e comportamentais correspondentes a um quadro clínico grave, aplicaremos o protocolo de “Humane endpoints” do estabelecimento. Apesar de ser virtualmente impossível evitar a utilização de murganhos, os procedimentos serão realizados sempre de forma a reduzir o número de animais utilizados, sem prejudicar a qualidade dos resultados. Nomeadamente, realizaremos sempre que possível estudos <i>in vitro</i>. Adicionalmente, refinaremos continuamente a qualidade dos procedimentos de forma a atenuar a severidade dos mesmos (Procedimentos de severidade baixa: Animais monitorizados para parâmetros relacionados com bem estar, nomeadamente nível de atividade,</p>

temperatura, ingestão de alimento, peso; Severidade moderada (ex: cirurgias), conjuntamente com os passos descritos em cima para procedimentos de baixa severidade, procedemos a analgesia pré- e pós-operatória, hidratação (fluidoterapia) e monitorização de suturas, atividade, respiração, ingestão de alimento, dor. No caso de injeções intratímicas, desenvolveremos a possibilidade de ser eco-guiada.

Título do projeto	Mecanismos neurais da cognição social no peixe-zebra		
Duração do projeto	3 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Cognição social; movimento biológico; oxitocina; dominância social.		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim	
	Investigação translacional ou aplicada		Não
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Os objectivos do projecto são caracterizar os circuitos neuronais subjacentes a duas capacidades elementares de cognição social: detecção de movimento biológico e representação de relações sociais entre outros agentes comportamentais, no peixe zebra. Pretendemos também estudar o papel regulatório da oxitocina nas capacidades sociais acima descritas.		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou	Este trabalho irá contribuir para a identificação de grupos neuronais específicos que são responsáveis pela capacidade de detecção de movimento		

os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	biológico. Em particular iremos caracterizar o papel da hormona oxitocina na detecção do movimento biológico, uma vez que esta hormona esta envolvida na regulação do comportamento social. Ao alcançarmos os nossos objectivos, os resultados deste trabalho irão abrir novas portas para a investigação translacional em mecanismos envolvidos em doenças relacionadas com défice social.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	<i>Danio Rerio</i> (peixe-zebra), 600 peixes zebra para o total dos 3 anos.
No contexto do que se propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	É esperado um stress temporario e moderado, como consequência da manipulação dos animais (transferência de peixe zebra entre tanques) e devido ao isolamento do peixe zebra em agar para o imaging de calcio. Em caso de stress anormal, a experiencia terminará e o peixe zebra será repostos no seu meio ambiente.
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	O objectivo deste projecto foca-se essencialmente em experiencias comportamentais, para as quais, neste momento, nao é possível utilizar modelos teóricos.
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	O número de animais previstos para a realização deste projecto foi calculado de acordo com os efeitos de magnitude em experiencias semelhantes, já descritas na literatura.
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.	<i>D. rerio</i> é uma espécie modelo para a qual estão disponíveis as ferramentas genéticas necessárias para se gerarem transgênicos e mutantes necessários a este trabalho. Acresce o fato desta espécie apresentar um comportamento social adequado às questões em estudo e ser de fácil manutenção e reprodução em cativeiro. Os peixe-zebra serão continuamente monitorizados, e aquando sinais de <i>stress</i> anormal, as experiencias serão terminadas e os peixe-zebra regressarão ao seu meio ambiente.

Título do projeto	Estudo da resposta imunológica no tecido adiposo de hospedeiros infectados com <i>Neospora caninum</i>
Duração do projeto	5 anos

Palavras-chave (máx. 5)	tecido adiposo, <i>Neospora caninum</i>		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	x	
	Investigação translacional ou aplicada	x	
	Uso regulamentar e produção de rotina		
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		
	Investigação destinada à conservação das espécies;		
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		
	Inquéritos no domínio da medicina legal		
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Investigar o papel do tecido adiposo na modulação da resposta imunitária de hospedeiros infectados com <i>N. caninum</i> .		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	Espera-se contribuir para uma melhor compreensão da imunobiologia e patofisiologia da neosporose numa área ainda não explorada de modo a melhorar a saúde dos animais. Uma vez que a neosporose é um problema frequente em explorações portuguesas, este projeto irá contribuir para uma melhor compreensão de uma doença economicamente relevante no nosso país e possivelmente ajudar na busca de estratégias de prevenção.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Ratinhos (<i>Mus musculus</i>): 140 Bovinos (<i>Bos taurus</i>): 128		

No contexto do que se propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Nos murganhos utilizados não se esperam efeitos adversos detetáveis clinicamente sendo assim o grau de severidade mínimo. No final da realização do projeto os ratinhos serão sacrificados.
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição) Refira a razão porque precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Os murganhos serão apenas utilizados em experiências em que seria impossível realizar por outro meio. Grande parte do trabalho envolverá a análise de tecido adiposo de bovinos abatidos para consumo humano.
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Foi realizado um planejamento estatístico prévio de modo a garantir robustez de resultados e assim evitar repetições desnecessárias das experiências.
3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	A estirpe C57BL/6 é um modelo amplamente usado para o estudo da infecção por <i>Neospora caninum</i> , tal como descrito na literatura científica internacional. Este modelo animal é utilizado uma vez que reproduz as características patológicas essenciais da infeção que ocorre em bovinos, um hospedeiro natural do parasita <i>N. caninum</i> e o mais relevante economicamente. Não se preveem danos significativos nos animais. Contudo prevê-se a utilização de anestesia ligeira se isso vier a revelar-se necessário. Embora não se prevendo a necessidade de recurso a “humane end-points” estes estão devidamente estabelecidos.

Título do projeto	Aplicação tópica de fármacos seguida de ativação da formulação através do uso de uma fonte de luz		
Duração do projeto	2 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Ácido aminolevulínico HCL, terapia fotodinâmica com BLU-U®, Queratose actínica hipertrófica		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não

	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	<p>O principal objetivo é avaliar o efeito da aplicação cutânea de uma solução tópica de ácido aminolevulínico HCL, com diferentes concentrações seguida de ativação com terapia fotodinâmica com BLU-U® (Blue Light Photodynamic Therapy Illuminator), usualmente utilizada no tratamento de queratose actínica hipertrófica ligeira ou moderada.</p> <p>Pretende-se analisar as alterações histológicas e impregnação cutâneas associadas a estas aplicações tópicas, assim como a absorção transcutânea do princípio ativo das soluções usadas, e minimizar os efeitos secundários (descamação cutânea, hiper/hipopigmentação, prurido, ardor, eritema e edema localizados. Prurido e ardores severos têm-se observado em cerca de 50% dos doentes em alguma fase do tratamento) que se têm verificado em fases iniciais de testes em humanos.</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)?	Optimizar o tratamento da queratose actínica hipertrófica ligeira ou moderada em humanos, com maximização dos efeitos desejados e minimização dos efeitos secundários		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Porco. 10+10 animais		
No contexto do que se propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Efeitos adversos: possível ardor, prurido e edema no local da aplicação tópica. Os animais encontram-se, no entanto, sob anestesia geral. Grau de severidade: Não-recuperação		
Aplicação dos 3Rs			
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Como o objetivo do estudo é a análise histológica e farmacocinética da aplicação tópica de uma solução, apenas é possível a sua realização em tecidos e organismos vivos. A pele do porco é		

	aquela que mais se assemelha à do humano.
<p>2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	Há a necessidade de se testarem 4 soluções tópicas em cada grupo de animais. Como o n=5, serão aplicadas as 4 soluções tópicas na zona do tronco, em cada animal, do lado esquerdo e do lado direito, de forma a obtermos o equivalente a n=10 para cada solução (ou seja, n=40), para cada 5 animais.
<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>Como se está a tentar analisar efeitos histológicos e farmacocinéticos de soluções tópicas, é necessário o uso de animais e tecidos vivos. O modelo animal porco foi selecionado devido à semelhança da pele e da fisiologia com os humanos.</p> <p>No sentido de minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais, estes serão colocados em grupos de três com o objectivo de familiarização com o contacto humano prévio ao início da manipulação experimental. Os animais serão sedados ainda nas instalações onde se encontram, e só posteriormente serão deslocados para o local de procedimento, onde serão previamente anestesiados.</p>

Título do projeto	Investigação e desenvolvimento de um medicamento modificador da evolução da doença osteoartrítica		
Duração do projecto	6 meses no total (4 semanas para cada animal)		
Palavras-chave (máx. 5)	Osteoartrite, terapêutica, intra-articular		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental		
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		
	Investigação destinada à conservação das espécies;		
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		
	Inquéritos no domínio da medicina legal		
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades)	Demonstração da eficácia do medicamento		

científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	
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 demonstração de eficácia e segurança deste medicamento no modelo animal permitirá e justificará a sua subsequente avaliação clínica, isto é, no ser humano. Dado o carácter inovador deste medicamento, a actual inexistência de fármacos capazes de parar a progressão da osteoartrite e a sua elevada prevalência, este medicamento trará um grande benefício terapêutico.
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Serão utilizados, no máximo, 48 ratos wistar
No contexto do que se propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Não se prevêem efeitos adversos sistémicos. Localmente, poderá surgir dor ligeira durante algumas horas após as injeções intra-articulares. Na fase final de progressão da doença, isto é, nos últimos dias do ensaio, os animais que não receberem tratamento poderão ter desconforto/dor e dificuldades de locomoção de severidade moderada (que será aliviada com analgésicos). Espera-se que os animais tratados com o medicamento ou com o comparador activo não tenham qualquer desconforto/dor ou dificuldade de locomoção ou que os tenham em grau muito ligeiro.
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Demonstrámos previamente a actividade do fármaco em diversos modelos <i>in vitro</i> , o que apoia a sua potencial eficácia terapêutica. As limitações inerentes aos modelos <i>in vitro</i> tornam indispensável a avaliação da eficácia e segurança <i>in vivo</i> .
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	O estudo será realizado pro etapas com um nº reduzido de animais em cada uma. Assim, o ensaio poderá ser cancelado precocemente se se verificar que o medicamento não apresenta os efeitos esperados. A análise estatística dos resultados obtidos no final da 2ª etapa permitirá decidir racionalmente quanto ao interesse de concluir o estudo.
3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	Os pequenos roedores, como os ratos wistar a usar neste estudo, apresentam uma anatomia e fisiologia articulares suficientemente próximas das humanas para serem modelos adequados ao estudo da osteoartrite. A facilidade de manipulação e alojamento e o tempo necessário para ocorrerem as alterações patológicas tornam esta espécie adequada para estudos farmacológicos,

	evitando a utilização de espécies de maior porte. Aos animais que mostrarem sinais de dor/desconforto (previsivelmente apenas nos últimos dias do ensaio), será aplicado diariamente um creme analgésico na pele do joelho; se as manifestações de dor/desconforto persistirem, será administrado diariamente um analgésico por via oral.
--	---

Título do projeto	Papel da bioengenharia e medicina regenerativa na reconstrução intra-articular da articulação temporo-mandibular (ATM)		
Duração do projeto	3 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	TMJ, TMJ Intra-articular reconstruction, TMJ regeneration		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim	
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Protecção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais	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 ²		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Objectivo primário: Reproduzir por 3D printing um disco da ATM que possa ser usado em doentes com patologia degenerativa da ATM. Objectivo secundário: Regenerar Cartilagem e Fibrocartilagem, melhorar a função da abertura máxima da boca e reduzir a dor da articulação		
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)?	Neste momento os doentes com disfunção da ATM severa são submetidos a cirurgias diversas e muitas vezes são colocadas próteses para substituir a articulação. Este disco pode prevenir a evolução da patologia degenerativa da ATM e melhorar a qualidade de vida dos doentes prevenindo uma cirurgia major e ficando os doentes sem dor e com boa abertura oral.		

Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	18 ovelhas Merino
No contexto do que se propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	No final os animais serão sacrificados para que seja feito um estudo histológico das articulações e do impacto que o disco produzido teve nessa articulação.
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Porque a ovelha é o animal que tem a ATM mais semelhante à do humano e nenhum modelo computacional consegue reproduzir a ATM humana.
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Estudo estatístico para obter resultados significativamente estatísticos.
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.	Animal com a ATM mais semelhante à do humano. Os animais serão tratados em ambiente livre e rural sem ficarem fechados em jaulas como é habitual.

Título do projeto	Marcação da desregulação do centro germinal na alergia		
Duração do projeto	36 meses		
Palavras-chave (máx. 5)	Células T foliculares, Foxp3, Centro Germinal, atopia.		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim	
	Investigação translacional ou aplicada		Não
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não

	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	No projeto atual, combinaremos estudos clínicos com modelos animais de doença para abordar a hipótese de que a hiperprodução de IgE em indivíduos atópicos é uma consequência da desregulação do centro germinativo (GC) associada a alterações das células T auxiliares foliculares (Tfh) e regulatórias, Subconjuntos de células T (Treg), incluindo células T regulatórias foliculares (Tfr). Também investigaremos possíveis mecanismos subjacentes, em particular, o papel das vias co-estimulatórias / co-inibitórias.		
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projecto)?	Iremos identificar os mecanismos celulares associados à produção das imunoglobulinas associadas com as doenças alérgicas.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Utilizaremos ratinhos de diferentes linhagens, num total de cerca de 1500.		
No contexto do que se propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Os procedimentos incluem a indução de uma resposta imunitária, algo semelhante ao que acontece com vacinação. Alguns animais receberão transfusão de células. Antecipa-se desconforto ligeiro/moderado no momento dos procedimentos.		
Aplicação dos 3Rs			
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Este projecto inclui o estudo de amostras humanas (sangue e tecido linfóide) e a realização de ensaios <i>in vitro</i> . No entanto para identificar os mecanismos celulares será essencial a utilização de modelos animais onde será possível seguir todo o ciclo de vida das células.		
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	A utilização de grupos homogêneos de animais com características bem definidas permitirá reduzir a variabilidade experimental e observar diferenças claras entre os diferentes grupos experimentais. Deste modo será possível promover a utilização de grupos experimentais menores.		
3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.	A disponibilidade de modelos genéticos de ratinho permite a redução descrita no ponto anterior ao possibilitar a identificação directa das células envolvidas nos processos biológicos em causa.		

Título do projeto	Avaliação da eficácia de fotossensibilizadores usados na terapia fotodinâmica para o cancro da bexiga		
Duração do projeto	5 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Fotossensibilizadores (PS); cancro da bexiga; Terapia fotodinâmica (PDT)		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental	Sim	
	Investigação translacional ou aplicada		Não
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	Desenvolvimento de abordagens terapêuticas alternativas as atuais que são muito dolorosas, invasivas e com mau prognóstico e recidivas. Pretende-se validar a eficácia de novos fotossensibilizadores (PS) para terapia fotodinâmica no cancro da bexiga.		
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 da eficácia dos novos PS permitira que estes possam vir a ser utilizados no futuro em terapia fotodinâmica em ensaios clínicos em humanos. Este estudo em animais permitirá o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas mais eficazes/menos invasivas/mais seguras para o tratamento do cancro da bexiga.		
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	Balb-c e/ou swiss nu/nu 6-8 animais por grupo. Grupos de animais: animais com tumor sem tratamento; animais com tumor + PS no escuro; animais com tumor + PS +		

	irradiação da região tumoral
No contexto do que se propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	O grau de severidade esperado e ligeiro. Se o volume tumoral exceder o valor definido (500 mm ³), os animais sairão do estudo e serão sacrificados. Para além disso, se qualquer animal em que for implantado o tumor apresentar sinais de dor ou mal-estar em qualquer altura da experiência, sairá do estudo e se necessário, será sacrificado (anestesiado com pentobarbital 80 mg/kg, i.p.) seguido por deslocamento cervical. No fim do procedimento, os animais serão sacrificados para análises histológicas, imunohistoquímica e Western Blotting.
Aplicação dos 3Rs	
1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais	Todos os compostos PS foram previamente testados <i>in vitro</i> . ^{1,2} Os ensaios <i>in vitro</i> mostraram uma boa captura dos PS pelas células do cancro da bexiga com elevada indução de fototoxicidade após PDT, comprovando a sua eficácia. Na fase actual do conhecimento em relação à eficácia anticancerígena destes compostos, é fundamental proceder a estudos experimentais com animais, sem os quais é impossível transpor para a clínica.
2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais	Será utilizado o número mínimo de animais necessário para obter resultados válidos. O número de resultados foi calculado fazendo-se uma análise estatística (http://biostat.mc.vanderbilt.edu/wiki/Main/PowerSampleSize). Para obter um significado estatístico entre as diferentes condições experimentais que se pretendem testar, o número de animais por grupo será entre 6 e 8 ($\alpha=0,05$; poder >0,7). O grupo de investigação tem longa experiência nas abordagens experimentais a utilizar, incluindo a obtenção de modelos animais com tumor e técnicas de imagem, o que diminui o número de animais pela possibilidade de ocorrência de erros de manipulação. Apenas os compostos com elevado potencial demonstrado previamente <i>in vitro</i> serão testados em animais.
3.Refinement (Refinamento) Explique a escolha da(s) espécie e a razão porque o modelo(s) animal que serão usados são os mais refinados, tendo em conta os	Balbc ou swiss nu/nu – Para implantação de tumores subcutâneos é necessário utilizar ratinhos adultos atímicos imunodeprimidos. Condições de alojamento, criação e cuidados

<p>objetivos. Explique as medidas gerais que serão tomadas para minimizar os custos de bem-estar (danos) aos animais.</p>	<p>a prestar aos animais: Os animais serão agrupados por gaiola e mantidos em ambiente enriquecido, com temperatura, luz e humidade controladas. Ao lidar com os animais, evitar-se-á agitação e movimentos bruscos com as gaiolas. Esperar-se-á alguns instantes para que os animais investiguem e se adaptem à mão do operador e o cheiro da luva. Para a transferência de uma gaiola para a outra ou para a pesagem dos mesmos, os animais serão manuseados pela cauda de forma gentil. Durante o tratamento de PDT, manter-se-á o animal aquecido (manta de aquecimento) e ficar-se-á atento para que o animal não fique com hipertermia. Além disso, apenas o tumor será exposto directamente à luz, sendo as restantes partes do corpo protegidas.</p>
---	--

Título do projeto	Glicação do tecido adiposo na obesidade: mais do que tamanho, uma questão de função microvascular.		
Duração do projeto	5 anos		
Palavras-chave (máx. 5)	Obesity; adipose tissue; microvasculature; Insulin resistance; Glycation		
Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º)	Investigação fundamental		Não
	Investigação translacional ou aplicada	Sim	
	Uso regulamentar e produção de rotina		Não
	Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais		Não
	Investigação destinada à conservação das espécies;		Não
	Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais		Não
	Inquéritos no domínio da medicina legal		Não
	Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados		Não
Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc)	A disfunção do tecido adiposo na obesidade contribui para a insulino-resistência hepática e periférica e, desta forma, para o		

	<p>desenvolvimento de diabetes tipo 2. A administração do precursor de produtos avançados de glicação (AGE), metilglioxal (MG), causa um desequilíbrio do rácio VEGF/Ang-2 e, consequentemente, alterações microvasculares no tecido adiposo.</p> <p>Assim, o objectivo deste projecto é avaliar se a acumulação de MG no tecido adiposo compromete a função microvascular durante a sua expansão, causando diminuição local da irrigação e alterações do metabolismo da glicose e dos lípidos.</p>
Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?	Este projecto permitirá avaliar as alterações do tecido adiposo na obesidade e na diabetes tipo 2 e identificar novos alvos terapêuticos
Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?	60 ratos (48 Wistar e 12 Goto-Kakizaki)
No contexto do que se propõe fazer aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?	Ligeiro e de não recuperação. Os restantes animais serão sacrificados sob anestesia para recolha de amostras de sangues e dos órgão/tecidos de interesse (ponto 2.3).
Aplicação dos 3Rs	
<p>1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa usar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p>	Este projecto inclui estudos mecanísticos, que serão realizados em linhas celulares. Os modelos animais serão utilizados exclusivamente para o estudo das alterações fisiológicas do tecido adiposo após a administração de dietas.
<p>2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p>	Sempre que possível, o mesmo animal será utilizado para mais do que uma experiência, nunca havendo recuperação de procedimentos potencialmente severos. O número de animais proposto inclui 4 animais para cada uma das experiências impossíveis de realizar no mesmo animal, sendo este o número mínimo de indivíduos para validade estatística O número de animais foi calculado usando a seguinte ferramenta estatística (http://biostat.mc.vanderbilt.edu/wiki/Mai/PowerSampleSize).
<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</p>	Os animais serão mantidos nas condições apropriadas, segundo o Decreto-Lei nº 113/2013, de 7 de Agosto, garantindo o máximo bem-estar. Serão estabelecidos endpoints humanitários: a aparência corporal, nomeadamente a

bem-estar (danos) aos animais.

condição da pele/pêlo serão tidos em conta. Todo o comportamento do animal será monitorizado ao longo da experiência, aqui se incluem a ingestão de alimentos, a consistência das fezes, a interação social, a postura, a capacidade locomotora e a presença de mancha porfirínica.