

| | | | |
|---|---|-----|-----|
| Título do projeto | Estabelecimento do eixo direita-esquerda no organismo modelo peixe-zebra | | |
| Duração do projeto | 5 anos | | |
| Palavras-chave (máx. 5) | Eixo direita-esquerda; cílios; peixe-zebra | | |
| Fim/objetivo do projeto (de acordo com Artº 5º) ⁽¹⁾ | Investigação fundamental | Sim | |
| | Investigação translacional ou aplicada | Sim | |
| | Uso regulamentar e produção de rotina | | Não |
| | Proteção do ambiente natural no interesse da saúde ou do bem-estar do homem ou dos animais | | Não |
| | Investigação destinada à conservação das espécies; | | Não |
| | Ensino superior ou formação para aquisição, manutenção ou melhoria das qualificações profissionais | | Não |
| | Inquéritos no domínio da medicina legal | | Não |
| | Manutenção de colónias de animais geneticamente alterados ⁽²⁾ | Sim | |
| Descreva os Objetivos do Projeto (ex., incógnitas científicas ou necessidades científicas/clínicas a serem abordadas, etc) | <p>Este projeto pretende descobrir os mecanismos durante o desenvolvimento embrionário que levam ao estabelecimento da lateralidade dos órgãos viscerais em vertebrados.</p> <p>Este processo inicia-se num órgão embrionário denominado o organizador da direita-esquerda. Este órgão é ciliado, ou seja é formado por cerca de 60 células que possuem um cílio cada uma e fica na zona da cauda do embrião de peixe-zebra.</p> <p>Os cílios são protuberâncias das células semelhantes a cabelos finos (por vezes</p> | | |

denominados flagelos) que servem para produzir fluxos de líquidos através da sua motilidade. Dentro deste órgão produz-se assim um fluxo de líquido direcional que é mais forte para o lado esquerdo do embrião e que vai ser responsável pelo início de uma cascata genética ainda muito mal compreendida.

Sabemos que os genes alvo vão originar que o coração fique do lado esquerdo e o fígado do lado direito em humanos. Desta forma necessitamos de linhas de peixe-zebra que nos permitam seguir e manipular este processo desde:

- a) a visualização dos cílios em movimento;
- b) a visualização de membranas das células deste órgão;
- c) a manipulação de algumas proteínas já conhecidas e envolvidas no processo de sinalização molecular da lateralidade;
- d) necessitamos ainda de ver os órgãos propriamente ditos e a sua posição final em larvas vivas.

O peixe-zebra é o modelo animal ideal para este estudo visto que devido à sua transparência não necessitamos invadir nem eutanizar as larvas para visualizar todos estes passos.

Quando este processo da lateralidade não é bem sucedido durante o desenvolvimento do embrião em humanos surge uma doença genética rara denominada 'discinésia ciliar primária (DCP)' que pretendemos ajudar a tratar com investimento na investigação básica.

Quais são os potenciais benefícios que possam derivar deste projeto (como poderia a ciência avançar ou os seres

Os benefícios serão:

- O conhecimento de um processo de desenvolvimento embrionário que ainda não se conhece bem,

| | |
|--|--|
| <p>humanos ou outros animais poderiam beneficiar com o projeto)?</p> | <ul style="list-style-type: none"> • A potencial terapia para a DCP • O conhecimento do mecanismo de ação molecular da PKD2 que está também envolvida na doença renal ADPKD (Autosomal Dominant Polycystic Kidney Disease). <p>Deste projeto virão vantagens para 3 campos distintos:</p> <ul style="list-style-type: none"> • a biologia do desenvolvimento • doença genética rara DCP • doença genética muito comum dos rins poliquísticos. |
| <p>Que espécies animais e números aproximados de animais serão utilizados?</p> | <p>Peixe zebra (Danio rerio):</p> <ul style="list-style-type: none"> • 2050 animais no CEDOC • 400 animais no IGC <p>Estes representam o número de animais utilizados durante 5 anos, em aquários com uma densidade de 20 animais por 3,5L de água com condições controladas e monitorizadas. Nenhum destes animais vai ser alvo de procedimentos severos ou graves. Sendo o único procedimento a reprodução da espécie que é isenta de qualquer manipulação invasiva ao animal.</p> |
| <p>No contexto do que é proposto fazer-se aos animais, quais são os efeitos adversos esperados e o grau provável/esperado de severidade? O que acontecerá aos animais no final da realização do projeto?</p> | <p>Não haverá efeitos adversos. Os animais mantidos em heterozigotia não apresentam fenótipos nocivos. As linhas serão mantidas no biotério para uso do nosso e outros laboratórios.</p> |
| <p>Aplicação dos 3Rs</p> | |
| <p>1.Replacement (Substituição) Refira a razão por que precisa utilizar animais e por que não pode usar alternativas não-animais</p> | <p>Para a realização de estudos sobre o desenvolvimento embrionário, nomeadamente no estabelecimento do eixo direita-esquerda é necessária a utilização de embriões enquanto organismos inteiros para avaliar o posicionamento dos órgãos internos assimétricos como o coração, o</p> |

| | |
|---|---|
| | <p>fígado e o pâncreas inexistentes em alternativas não animais.</p> <p>Neste projeto optou-se pela utilização do peixe-zebra pois são ovíparos o que permite ter acesso a embriões e a formas larvares sem alimentação autónoma sem existir necessidade de eutanasiar nenhum dos progenitores, em oposição a outros modelos nomeadamente rato ou ratinho.</p> |
| <p>2.Reduction (Redução) Explique como garantirá que serão utilizados os números mínimos de animais</p> | <p>O peixe-zebra atinge a sua maturidade sexual aos 3 meses e mantem-se em idade reprodutora até aos 18 meses.</p> <p>Para garantir o bem-estar animal os animais acasalam no máximo 1x a cada 15 dias. Para suportar as necessidades de embriões WT para a realização do projeto são necessários 3 tanques com 10 casais saudáveis cada (20 animais) por semana. De forma a obtenção de ovos à terça-feira, quarta-feira e quinta-feira de cada semana.</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 <i>Danio rerio</i> tem vindo a estabelecer-se como modelo animal há mais de 20 anos. É um excelente modelo para estudos do desenvolvimento embrionário por permitir que um casal de animais reprodutores tenham posturas de mais de 100 ovos semanalmente sem comprometer o bem-estar ou a saúde animal.</p> <p>Como este projeto tem por objetivo de estudo o conhecimento do estabelecimento de eixo direita-esquerda que ocorre às 10h após fertilização num órgão embrionario transiente, a Vesícula de Kupffer, todos os procedimentos e manipulações são realizados nos embriões ou em estados larvares sem alimentação autónoma.</p> <p>Assim sendo este modelo permite que com um número reduzido de animais reprodutores se consiga obter ovos em número suficiente, para</p> |

| | | | |
|--|--|------------|--------------------------------|
| | <p>várias experiências e procedimentos com significado estatístico sem nunca pôr em causa a saúde e o bem estar animal dos animais reprodutores tornando o peixe-zebra um modelo refinado para estudos de embriologia.</p> | | |
| <p>Para uso oficial</p> | | | |
| <p>O projeto será submetido a avaliação retrospectiva?</p> | | <p>Não</p> | <p>A utilização é terminal</p> |