

ROSANA LOPES RODRIGUES AMON

*Centro Universitário Lusíada, UNILUS,
Santos, SP, Brasil.*

AMANDA WATANABE SILVA

*Centro Universitário Lusíada, UNILUS,
Santos, SP, Brasil.*

BEATRIZ ALMEIDA

*Centro Universitário Lusíada, UNILUS,
Santos, SP, Brasil.*

ELLEN JÚLIA QUEIROZ NOBRE

*Centro Universitário Lusíada, UNILUS,
Santos, SP, Brasil.*

MILLENE PRADO PADILHA

*Centro Universitário Lusíada, UNILUS,
Santos, SP, Brasil.*

THAILINE CABRAL SIQUEIRA

*Centro Universitário Lusíada, UNILUS,
Santos, SP, Brasil.*

CLEIDE BARBIERI DE SOUZA

*Centro Universitário Lusíada, UNILUS,
Santos, SP, Brasil.*

*Recebido em julho de 2021.
Aprovado em dezembro de 2021.*

ANÁLISE DE MEIOS ALTERNATIVOS PARA A SUBSTITUIÇÃO DE MODELOS ANIMAIS NAS PESQUISAS

RESUMO

O uso de animais surgiu para o estudo dos sistemas fisiológicos. Atualmente, no Brasil este é aprovado em atividades científicas. O objetivo deste trabalho foi analisar métodos alternativos de animais em pesquisa, a partir de revisão bibliográfica. O animal demonstra reações como um organismo completo, promovendo avanços na saúde. Sendo utilizado com ética, quando impactantes na comunidade. Os métodos alternativos baseiam-se nos 3R's (refinar, reduzir e substituir), notando-se o esforço dos cientistas em reduzir o uso de animais, refinando pesquisas. A distância filogenética do humano leva a predição limitada, tendo a alternativa de cultura de células humanas, sendo vantajosa quanto ao custo, já que pesquisa em animais exige maior estrutura. O uso errôneo de animais oferece sofrimento, sendo necessária conscientização que todas as formas de vida são dignas de respeito.

Palavras-Chave: modelo animal. meios alternativos. pesquisa.

ANALYSE OF ALTERNATIVE MEANS FOR THE REPLACEMENT OF ANIMAL MODELS IN RESEARCH

ABSTRACT

The use of animals emerged for the study of physiological systems. Currently, in Brazil this is approved in scientific activities. The aim of this work was to analyze alternative methods of animals in research, based on a bibliographic review. The animal shows reactions as a complete organism, promoting advances in health. Being used ethically, when impacting the community. Alternative methods are based on 3R's (refine, reduce and replace), noting the scientists' efforts to reduce the use of animals, refining research. The phylogenetic distance of the human leads to limited prediction, having the alternative of culturing human cells, being advantageous in terms of cost, since research in animals requires bigger structure. The misuse of animals offers suffering, requiring awareness that all forms of life are worthy of respect.

Keywords: animal model. alternatives means. research.

INTRODUÇÃO

O método científico surgiu no século XII, após um declínio da civilização na Idade média, não tendo significativo avanço científico, em contrapartida, os europeus estudiosos iniciaram o contato do conhecimento a novas culturas, observando os trabalhos de antigos pensadores, como Aristóteles e Ptolomeu, instituindo uma sociedade científica mais desenvolvida (CUDISCHEVITCH, 2018).

Na antiguidade, a origem da dissecação teve registro em 500 a.C., quando Hipócrates (“Pai da Medicina”) e Alcmeon comparavam órgãos animais com os de humanos. Além de haver estudos acerca do funcionamento da fisiologia dos organismos, sendo Herófilo e Erasístrato os fisiologistas responsáveis. Aristóteles era um defensor da superioridade humana em relação aos animais como uma hierarquia natural, ou seja, seres superiores e racionais possuem o direito de usar seres inferiores para benefício próprio. Posteriormente, foram realizadas as primeiras vivisseções, que promoveram o conhecimento das características estruturais dos vasos sanguíneos, descobrindo o fato de que não havia ar, mas sangue circulando nestas estruturas. O período em que religião e ciência eram muito relacionadas houve incentivo do uso animal na pesquisa, contudo, a dissecação de cadáveres humanos era proibida. Tal situação teve continuidade nos séculos seguintes. Além disso, a “Teoria mecanicista” formulada por René Descartes, filósofo da época, consistia na teoria do modelo animal, a qual definia os animais como seres que não sentiam dor, diferenciando-os da espécie humana (REGIS, 2012; GUIMARÃES, FREIRE, MENEZES, 2016;).

No ano de 1876, na Inglaterra foi instituída a primeira lei para regulamentação do uso de animais em pesquisa, tendo em mente que Charles Darwin, aproximadamente nesta época, publicou “A Origem das Espécies”, a qual retrata a relação entre espécies durante a evolução. Tal fato impulsionou a humanidade a ter necessidade de informações a partir de testes em animais. Em 1959, o zoologista William Russel e o microbiologista Rex Burch definiram aspectos da ética em pesquisa utilizando animais, a partir dos três “R” (Replacement, Reduction, Refinement) que significa substituição, redução e refinamento. Tendo ocorrido após a Associação Médica Americana publicar os aspectos éticos da utilização de animais em experimentos (GUIMARÃES, FREIRE, MENEZES, 2016).

Com isso, foi notório o crescente impacto social, relacionado aos aspectos éticos e às pesquisas envolvendo modelos animais. Em 1978, no evento realizado em Bruxelas, foi anunciada a Declaração Universal dos Direitos dos Animais, pela Unesco (Organização das Nações Unidas para a Educação, a Ciência e a Cultura), intensificando os debates sociais sobre a real necessidade do uso de animais em experimentos. No Brasil, em 8 de maio de 1979, foi criada a Lei 6.638, com o intuito de normatizar a experimentação em animais em instituições, a partir do fato que os animais não sejam submetidos a situações que lhes causem sofrimento. Em 2008, o Projeto de Lei 1.153/1995 (Lei Arouca) foi aprovado. Porém teve transformação, em Lei Ordinária 11.794/2008 14, revogando a lei anterior. Hoje em dia a criação e utilização de animais em atividades didáticas e em pesquisa científica são regulamentadas (GUIMARÃES, FREIRE, MENEZES, 2016).

Para tal, o presente trabalho teve como objetivo analisar métodos alternativos de substituição de modelos animais.

METODOLOGIA

O artigo trata-se de uma revisão bibliográfica que tem como pergunta alvo: Quais métodos alternativos poderiam substituir os modelos animais em pesquisa? Esta questão foi respondida por este artigo a partir de pesquisas realizadas utilizando a ferramenta de busca Pubmed-NCBI para pesquisa de dados no MEDLINE, como também, os bancos de dados: Scholar Google e Scielo. Como descritores: Pesquisa Científica; Modelos

Animais; Modelos alternativos de pesquisa; Substituição de modelos animais. Foi realizada uma análise criteriosa quanto a qualidade da literatura, e foram excluídos os artigos em duplicidade e aqueles que não apresentarem conceitos importantes, principalmente relacionados à criação ou testes de novos modelos para a substituição ou redução dos animais utilizados a pesquisa.

IMPORTÂNCIA DO USO DE MODELOS ANIMAIS EM PESQUISA

O uso de animais na experimentação científica promoveu avanços no desenvolvimento da ciência e tecnologia, incluindo as áreas biológicas, como a fisiologia, patologia e farmacologia (GUIMARÃES; FREIRE; MENEZES, 2016). Tais descobertas favoreceram o estabelecimento de medidas profiláticas e tratamentos para diferentes doenças as quais atingem seres humanos (CHORILLI, 2007). Um exemplo, foi a pesquisa com doenças genéticas realizada pelos cientistas Mario R., Capecchi, Martin J. Evans e Oliver Smithies, os quais ganharam o prêmio Nobel de medicina e fisiologia ao desenvolverem animais com modificações genéticas específicas, correspondentes às doenças desenvolvidas por humanos. Essa pesquisa pôde desenvolver estudos relacionados à arteriosclerose, fibrose cística, neoplasias e doenças cardiovasculares (MORALES, 2020).

Os modelos animais apresentam a principal vantagem de informar quais as reações de um organismo por inteiro, fator que não é viável em técnicas alternativas de experimentação *in vitro*, como cultura de células. Com isso, diferentes espécies de animais são usadas na pesquisa científica nos últimos tempos, sendo o camundongo o destaque entre os principais e mais usados e cientificamente conhecidos (CHORILLI, 2007).

Pesquisas científicas possuem o objetivo de salvar e melhorar a qualidade de vidas humanas. A partir disso é possível afirmar que o homem não está disponível a tornar-se uma cobaia, justificando as razões de utilizarem experimentações em animais, anteriormente aos testes em seres humanos (ANDRADE, 2002).

O biotério em uso para desenvolvimento de pesquisas promoveu a produção de anticorpos monoclonais e vacinas, controle e avaliação de produtos para estudos de eficácia farmacológica e efeitos tóxicos, assim como virologia, parasitologia e bacteriologia, pesquisas na área de imunologia, imunopatologia para transplantes e drogas imunossupressoras, sendo imprescindível a utilização de modelos animais geneticamente definidos e controlados ambientalmente (ANDRADE, 2002).

Porém é necessário lidar com esses modelos vivos de forma responsável, de acordo com a Lei atual, a qual consiste no uso de animais em pesquisas, quando esta for um impacto favorável para a comunidade mundial, protegendo os animais de experiências traumáticas, consideradas como métodos de maus-tratos (GUIMARÃES, FREIRE, MENEZES, 2016).

DIVERSIDADE DOS MODELOS CONVENCIONAIS

Modelos experimentais são conceituados como doença animal, a qual seus mecanismos patológicos são significativamente similares os de uma doença humana, servindo como modelo (FERREIRA, HOCHMAN, BARBOSA, 2005).

O mamífero mais usado cientificamente na experimentação em pesquisa são os roedores (Tabela 1). Os fatores que favorecem seu uso são o tamanho pequeno, alta taxa proliferativa, período de gestação diminuto e fácil manutenção. A administração de fármacos é feita sem dificuldades, pois as vias de administração são de fácil acesso. Em um biotério é importante definir colônias para as diferentes linhagens, como colônias de expansão, as quais têm o intuito de autopropetuar-se, ou seja, de produzir matrizes, a fim de manter produção própria (CHORILLI, 2007).

Os animais de pesquisa experimental são distribuídos em convencionais (biota indefinida), ou “gnotobióticos” (biota conhecida), classificados também em “não

existente”. Tal categoria subdivide-se em “axênicos” (germfree) ou em “flora definida”. Os animais de flora definida são criados através de animais axênicos, com a alimentação com microrganismos conhecidos (FERREIRA, HOCHMAN, BARBOSA, 2005).

Animais heterogênicos são os usados na maior parte das pesquisas, como camundongos (*Mus musculus*, Swiss Webster), ratos (*Rattus norvegicus*) e hamsters (*Mesocricetus auratus*), obtidos de cruzamentos ao acaso (99% de heterozigose). Já os mutantes são originados de animais não-consanguíneos ou consanguíneo, sendo este último o preferível (FERREIRA, HOCHMAN, BARBOSA, 2005).

Os animais isogênicos são obtidos pela realização do cruzamento entre irmãos durante várias gerações, sem causar problemas. Estes animais são isogênicos (99% de homozigose), tendo linhagens obtidas de cruzamentos seguidos entre 20 gerações. Com isso, é possível a formar genéticas estáveis, além de tornar o número amostral menor para experimentos (FERREIRA, HOCHMAN, BARBOSA, 2005; LINHAGENS.. 2015).

A formação de fragmentos de DNA cromossômicos clonados, é possível graças a engenharia genética, criando animais transgênicos (informações variadas e estáveis). Desse modo, tais animais possuem o genoma “transgene” do tipo mosaico, por conta da presença de células normais e transgênicas. Acredita-se que a criação desse tipo de animal seja um dos melhores meios para pesquisar a oncogênese. Tendo uso experimental para o estudo de neoplasias, diabetes, AIDS e Alzheimer (FERREIRA, HOCHMAN, BARBOSA, 2005; PEREIRA, 2008).

Animais mutantes espontâneos (mutações ao acaso), também chamados de camundongos atímicos (nude mouse) são portadores da deficiência de imunidade celular por linfócitos T, por apresentarem timo rudimentar ou ausente, aceitando interações de transplantes heterólogos, sem interferentes (FERREIRA, HOCHMAN, BARBOSA, 2005; NEVES et al., 2013).

O contato de um gene específico com substâncias mutagênicas gera animais mutantes provocados em laboratório. Possível, a partir da manipulação de células embrionárias in vitro, alterando sequências normais de DNA por sequências homólogas inativadas (sequência genômica conhecida). Técnica denominada “gene Knock-out” utilizada com sucesso para expressão de diversos fenótipos, realizada em camundongos (FERREIRA, HOCHMAN, BARBOSA, 2005).

Na tabela 1 observa-se a diversidade de animais utilizados principalmente no século XX. Os primatas e roedores são a maioria, tendo pesquisas ligadas a formulação de vacinas, descrição do fator Rh, além do desenvolvimento de tratamentos para neoplasias. Os roedores tiveram essencial participação no estudo genético, servindo como modelo experimental na produção de diferentes linhagens. Desse modo, foi possível avaliar e classificar mutações genéticas (CHORILLI, 2007).

Tabela 1: Relação entre o período, as espécies animais e seus principais usos científicos na descoberta de fatores relacionados a diversas doenças.

Período	Animal e Utilização
1950 – 1960	Primatas e Rato: Descoberta do Fator Rh do sangue; Desenvolvimento das Vacina de Febre amarela e poliomielite. Coelhos, Primatas e Ratos: Desenvolvimento da quimioterapia para o tratamento de neoplasias. Roedores (ratos e hamsters): Descoberta do DNA.
1960 – 1970	Roedores (ratos e hamsters): Desenvolvimento de antidepressivos; Hamsters: Interpretação do código genético e seu papel na síntese de proteínas;
1970 – 1980	Primatas e Tatus: Tratamento da Hanseníase; Porco: Desenvolvimento da tomografia computadorizada.
1980 – 1990	Ratos e Coelhos: Desenvolvimento de Anticorpos Monoclonais; Roedores (ratos e Hamsters): Desenvolvimento de terapia genética.

Fonte: Adaptado de CHORILLI (2007).

ÉTICA NO USO DE MODELOS ANIMAIS

Contraopondo a teoria mecanicista de Descartes, o filósofo Jeremy Bentham estabeleceu o pilar para a legislação atual aplicada nos regulamentos éticos e metodologias da experimentação animal, impulsionando a criação de associações defensoras dos animais. Segundo Bentham, a capacidade de sofrimento deve ser levada em conta no modo de tratamento de todos os seres, estimulando um debate por parte da sociedade acerca da incapacidade de sofrimento dos animais (REGIS, 2012; GUIMARÃES, 2016).

A lei Arouca visa garantir os procedimentos legais disposto em lei. A partir disto criou-se o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal - CONCEA, que tem seu domínio disposto no artigo 5º e seus incisos. Sendo eles “formular e fiscalizar o cumprimento das normas relativas à utilização humanitária de animais com finalidade de ensino e pesquisa científica, credenciar instituições para criação ou utilização de animais em ensino e pesquisa científica, estabelecer e rever periodicamente normas técnicas para a instalação e funcionamento de centros de criação, de biotérios e de laboratórios com experimentação animais e manter cadastro atualizado dos procedimentos de ensino e pesquisa realizados ou em andamento no País” (BRASIL, 2008; DALBEN, 2013).

O problema a ser solucionado pelo CONCEA é realizar uma fiscalização mais eficiente, para isso ele conta com o Comitê de Ética no Uso de Animais - CEUA, que conforme artigo 8º da lei nº 11.794/08 deve-se existir em cada instituição em experiências científicas com animais. Além disso, a Lei Federal nº 9.605/98 nº §1º do seu art. 32 afirma ser crime ambiental a experimentação animal nos casos em que existam métodos alternativos.

De acordo com a Constituição Brasileira, a teoria de que os animais são dotados de sensibilidade é validada, sendo imposto a todos o dever de se respeitar a vida, a liberdade e a integridade animal, proibindo práticas que coloquem em risco sua função ecológica, que provoquem a extinção ou exponha-os à crueldade.

Segundo Mark Matfield, a população aceita a necessidade da experimentação animal. Contudo não dispõe do conhecimento de que a metodologia aplicada segue as

condutas éticas e de bem-estar animal, expondo a necessidade de revelar tais condutas ao público, exibindo a evolução de resultados. Atualmente, o modelo animal é utilizado em diversas categorias de pesquisa científica, assumindo uma ampla importância no aprimoramento e conhecimento acerca do mecanismo fisiopatológico de doenças, ensaios terapêuticos de novos fármacos e estudos de marcadores biológicos. Além de ser imprescindível para a saúde humana, o ensaio com animais é fundamental para a saúde dos mesmos, visto que os medicamentos para uso animal passam por ensaios que verificam sua eficácia e efeitos colaterais, através dos testes no próprio. Todavia, cientistas observaram que estes detêm de consciência, memória, capacidade de sofrer e de lutar com veemência pela própria vida. Diante disso, debates são levantados entre cientistas que fazem uso dos animais em suas pesquisas e ativistas de proteção dos direitos dos animais. Apesar dos benefícios nítidos dessas experimentações, a questão é como evitar a utilização desnecessária de animais e aliviar seu sofrimento sem que haja o comprometimento dos resultados. Tal problema se mantém ativo para a sociedade, política e ciência (REZENDE, 2008; ANDERSEN; WINTER, 2017).

Em decorrência do aumento das discussões sobre a utilização ou não dos animais na pesquisa científica, surgiu o princípio dos “3Rs” - Replacement (Substituição), Reduction (Redução) e Refinement (Refinamento) intitulados de Princípios Humanitários da Experimentação Animal - instituído por Russel e Burch, tornando-se o suporte da ciência moderna que faz uso de animais no laboratório. Tais princípios impulsionaram as pesquisas no meio científico para modelos alternativos e são, até os dias atuais, a base para a legislação que conduz à experimentação animal universal (BARROS, 2018).

SUBSTITUIÇÃO, REDUÇÃO E REFINAMENTO DO USO DE ANIMAIS EM PESQUISA

Métodos alternativos ao uso de animais são definidos por aqueles que têm a capacidade de refinar, reduzir ou até mesmo substituir a utilização de animais em pesquisas (PROFISSÃO BIOTEC, 2019). Esta caracterização deve ser entendida de forma mais ampla atentando-se para os esforços da comunidade científica, com o objetivo de reduzir o uso de animais, quando não for possível a substituição, ou ainda pelos métodos de refinamento (MORALES, 2008). Com isso, as alternativas podem ser compreendidas de acordo com os 3R's em: alternativas de substituição - as quais não utilizam o animal e sim um meio alternativo; de redução - que consistem na análise de dados da integração de ensaios in vitro com sistemas computacionais e a hierarquização de métodos para reduzir o uso de animais; de refinamento - que diminuem a dor e sofrimento dos animais em experimentação, sem alterar a confiabilidade dos resultados (PRESGRAVES, 2002).

Estes métodos podem ser divididos em: informações pré-existentes na literatura, que correspondem a dados de pesquisas já realizadas, podendo eliminar ou reduzir o uso de animais; métodos alternativos in silico, sendo categorizados como modelos matemáticos ou de softwares que definem variáveis e até mesmo predizem as teorias de potenciais de risco oferecido por novas substâncias, podendo reduzir o uso de animais e custo do experimento; métodos alternativos in vitro, que se baseiam no cultivo de células, tecidos e órgãos fora do animal, em laboratório; sistemas micro-fisiológicos que são conhecidos como organ-on-a-chip, multi-organ-chip ou human-on-a-chip, ou organóides, que tem objetivo de mimetizar o fisiológico para reduzir ou substituir o animal (FONSECA, 2018; PROFISSÃO BIOTEC, 2019).

Exemplos de Meios Alternativos

- a) Ensaio de potência de insulina: a potência pode ser determinada por HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Resolução) (PRESGRAVES, 2002).
- b) Produção de anticorpos monoclonais (mAbs) in vitro: são produzidos em laboratório a partir de linfócitos B isolados de camundongos. Esta

- técnica visa a redução e até mesmo, com avanço da mesma, a substituição do uso animal (PRESGRAVES, 2002).
- c) Sistemas técnicos para predição de toxicidade: Os dois sistemas mais conhecidos são o QSAR, que determina os efeitos tóxicos baseados na comparação da estrutura-atividade das substâncias, e o PBPK, que informatiza o pesquisador sobre as ações farmacocinéticas (PRESGRAVES, 2002). Estes são modelos matemáticos e/ou computacionais (MORALES, 2008).
 - d) LAL (Limulus Amoebocyte Lysate): Baseada na reação entre a endotoxina e substrato LAL. A detecção desta endotoxina pode ser quantificada por meio da coagulação (método gel-clot) ou da liberação de cor (método cromogênico), depende do método a ser utilizado. Este teste substitui o ensaio pirogênicos em coelhos (PRESGRAVES, 2002).
 - e) Microrganismos: empregados no estudo do metabolismo, genética e bioquímica, fundamentados nos mecanismos de expressão gênica das bactérias ou leveduras que são empregados na compreensão da evolução e desenvolvimento patológico ou normal de embriões humanos (MORALES, 2008).
 - f) Métodos que substituem o teste de irritabilidade em córnea de coelhos: Teste de hemólise; Teste de opacidade de córnea bovina; Teste em olhos isolados de galinhas ou coelhos; Teste de viabilidade celular (MORALES, 2008). Uso de organismos inferiores classificados como animais não protegidos; Teste da HET-CAM (PRESGRAVES, 2002). Pele artificial: que será explicada ao final do artigo.
 - g) Cultivo de células e tecidos: São utilizadas principalmente em pesquisas básicas aplicadas. O seu uso pode ser mais relevante e reprodutível, tendo em vista a proximidade às características humanas e de ter o melhor controle do experimento. Células são mais simples de manipular no ponto de vista microscópico, bioquímico e molecular. Não obstante, o cultivo de células in vitro possui algumas limitações, como a não simulação da complexidade do organismo humano. Entretanto, há estudos apontando esta ser uma excelente alternativa para a redução da utilização de modelos animais. Esta técnica é bem aceita no meio científico pelo fato de ser de baixo custo, ser gerada em um tempo menor e produzem resultados com confiabilidade e reprodutibilidade (MORALES, 2008; BIOEMFOCO, 2018). Esse modelo é usado em testes de toxicidade de várias substâncias (MORALES, 2008).
 - h) iPSCs - Células-Tronco Pluripotente Induzidas: Estas células-tronco, no ponto de vista ético são mais aceitas pelo fato de serem provenientes de adultos. Elas são produzidas a partir da indução de estímulos de desdiferenciação das células somáticas humanas, isso possibilita sua utilização em pesquisas em relação a patologia e farmacologia, oferecendo uma importante vantagem deste método sobre a aplicabilidade de animais em pesquisa. As iPSCs exprimem características de possibilidade de uso para construção e cultivo dos organoides. Esta técnica desenvolvida por YamanaKa e Gurdon é considerada um avanço na ciência, principalmente na questão de ser uma alternativa para substituir os animais em pesquisa (GENEROSO, SILVA, AMARAL, 2017).
 - i) Órgãos em impressão 3D: “órgão em um chip” ou “organ-on-a-chip” (órgão bioimpresso) apresenta funcionalidade como tecido de forma precisa, no qual é mantido conectado a uma rede microfluidica para pesquisas farmacológicas e testes de vacinas. Estes podem substituir os animais usados no desenvolvimento de drogas e teste de toxinas pelo fato de

permitirem o estudo da fisiologia humana em um contexto específico. Todavia, ainda há uma limitação em integrar os órgãos 3D bioimpressos em um sistema único tendo objetivo de analisar os efeitos fisiológicos como um todo, estudos apontam o desenvolvimento de microssistemas biomiméticos com a possibilidade de apresentar a interação de drogas de administração oral, a funcionalidade de transportadores moleculares e de enzimas metabolizadoras presente nas células de vários órgãos. Esta bioimpressão pode ser aplicada na substituição animal em pesquisas na área de indústrias farmacêuticas, cosméticas e químicas (GENEROSO, SILVA, AMARAL, 2017).

- j) Modelos de cultura 3D mecanicamente sustentados: são culturas de células e órgãos fragmentados que mantêm a estrutura histológica dos tecidos, sustentados com insertos de membrana porosa. Um método recentemente aprimorado, é a cultura de células que têm contato com o ar in vivo, como os queratinócitos e epitélio respiratório com cocultura de fibroblastos que mimetizam o estroma celular adjacente, que auxiliam na compreensão de mecanismos de morfogênese e das características biológicas dos epitélios. Entretanto, também são aplicados como alternativa nos testes de novas drogas (COSTA et al., 2018).
- k) Cultivo em moldes de biopolímeros, cerâmica ou metal: Os moldes utilizados compreendem uma variedade de substâncias como moléculas de matriz extracelular, biopolímeros naturais, polímeros sintéticos ou híbridos, metais e cerâmicas. São usados fatores de crescimento para favorecer a divisão celular, assim como a sua diferenciação, tornando o modelo mais fisiológico possível. Esta alternativa de cultivo celular pode ser denominada de organóide, um exemplo deste são os Mini-brains (organoide de cérebros) criados a partir da modificação do modelo de indução de neuroectoderma em corpos embrionários originados por células tronco-embrionárias. O mesmo, possibilita o entendimento sobre a morfogênese do sistema nervoso. Este, teve aplicabilidade no estudo do mecanismo fisiopatológico do Zika vírus, bem como sua suposta contribuição para a microcefalia. Com isso, estes modelos de cultura celular são aplicados para compreender a morfogênese de outros tecidos e no entendimento no desenvolvimento de doenças (COSTA et al., 2018).
- l) Pele de laboratório: a pele 3D tem a composição mais próxima do fisiológica da pele humana, com isso, pode substituir a utilização de animais com maior relevância na indústria de cosméticos, como na avaliação de novos produtos de beleza e higiene, bem como testes de toxicidade cutânea e expressão de biomarcadores celulares. Esta pele equivalente já usada no estudo de melanomas e neoplasia de colo uterino. (PRESGRAVES, 2002; VASCONCELOS, 2016; BIOEMFOCO, 2018).

VANTAGEM E DESVANTAGEM DO USO DE ANIMAIS E MODELOS ALTERNATIVOS

Em relação aos medicamentos, a indústria farmacêutica ainda precisa testá-los em animais, com a finalidade de simular as reações complexas que podem ocorrer no organismo como um todo após o uso destas. Neste caso, é explícito a importância que os testes em animais trazem, uma vez que reduzem as reações adversas e evitam episódios trágicos, como os que ocorreram com a comercialização da máscara de cílios Lash Lure e da talidomida. Ambas as substâncias foram responsáveis pelo desencadear de efeitos toxicológicos. No caso da máscara de cílios, ocorreu cegueira e morte em consequência de não ter sido testada em animais quanto a sua segurança ocular. Já, a talidomida que foi comercializada sem a realização de todos os testes pré-clínicos, trouxe como

resultado situações ainda mais graves, como a falta ou encurtamento dos membros nos bebês após mulheres grávidas consumirem tal produto (PROFISSÃO BIOTEC, 2019).

Embora a contribuição que os modelos animais trazem para os estudos científicos, sua distância filogenética com humanos é extensa. De acordo com a agência federal americana Food and Drug Administration (FDA) os medicamentos aprovados em testes com animais são responsáveis por falhas em uma margem de 92% quando são transferidos para o modelo humano, apontando que nem todos os medicamentos que funcionam em animais terão a mesma eficácia nas pessoas. A utilização de células humanas *in vitro* pode diminuir o impasse de tal diferença entre as espécies, levando a um maior êxito nos testes clínicos (INDOLFO, 2019; PROFISSÃO BIOTEC, 2019).

Em contrapartida, existem fatores que impedem com que a substituição do modelo animal seja irrefutável. A ausência da ampla análise sistêmica pode prejudicar os resultados dos testes, dado que nenhuma metodologia alternativa sozinha é capaz de permitir que seja realizada uma complexa análise fisiológica (CERQUEIRA, 2008; PROFISSÃO BIOTEC, 2019).

A substituição do uso de animais pode apresentar vantagens em relação a custo e economia do espaço. Segundo Octávio Presgrave, pesquisador da Fundação Oswaldo Cruz, o método alternativo custa em média 30% o valor da pesquisa quando em animais, uma vez que estes exigem maior preparo estrutural de biotério, alimentação e controle de ambiente. Essas condições ocorrem devido aos animais suportarem grandes influências de ruídos, alterações de metabolismo em decorrência de modificações de temperatura, ciclo de luz, umidade, entre outros (CERQUEIRA, 2008; MORALES, 2008; INDOLFO, 2019).

Ademais, segundo Carlos Roberto Zannetti, coordenador do Laboratório de Imunologia Aplicada da Universidade de Santa Catarina, apesar de inúmeros modelos já disponíveis ao uso, muitas vezes a estrutura de biotério já está em funcionamento, e é mais simples utilizá-lo do que montar uma nova estrutura para o cultivo de linhagens celulares (CERQUEIRA, 2008; PROFISSÃO BIOTEC, 2019; CHAGAS et al., 2020).

É importante ressaltar que existe a preocupação com aqueles que manuseiam os animais de adquirirem doenças ocupacionais, pela presença de contaminações zoonóticas ou por desenvolvimento de reações alérgicas, uma vez que os animais podem produzir aerossóis e podem infectar e/ou traumatizar o operador por arranhões, mordidas ou outra forma de agressão (CHAGAS et al., 2020).

DISCUSSÃO

As pesquisas científicas com animais não têm como princípio o prazer, estes modelos são utilizados pelo fato de não terem alternativa. Por outro lado, os ativistas de proteção animal apoiam que este tenha uma vida livre e digna, afirmando já existir modelos alternativos que substituem o uso animal. Os questionamentos quanto ao uso de animais são em relação às condutas éticas e legais, uma vez que a ética traz que os animais possuem consciência e memória, são capazes de sofrer, sentem dor, possuem medo e lutam pela vida. Assim, de acordo com CHAGAS et al. (2020) o profissional que trabalha com o animal tem que conhecer as particularidades de cada animal para estabelecer um trabalho respeitoso.

É necessário ressaltar que não há ponto de vista certo ou errado. Entretanto, faz-se relevante a união das opiniões sob atmosfera técnica e científica, sem que haja cunho radical ou fundamentalista. De acordo com Morales (2008), o interesse por métodos alternativos cresce dentro da própria comunidade científica, com o intuito de reduzir os custos dos experimentos, se fazendo necessária a persistência na busca de modelos que possam substituir os animais nas pesquisas científicas, e para aquelas pesquisas que ainda necessitam destes que sejam realizadas com os mais critérios de proteção que garantam melhor qualidade de vida para os animais.

Com avanços nas áreas da saúde, química, genética, existem atualmente modelos de substituição que antigamente eram inimagináveis. Como foi o caso do teste de pirogênios que na década de 60 era insubstituível. Todavia, os pesquisadores Levin e Bang, no ano de 1964 tornaram isso possível com a descrição do modelo que hoje é conhecido como teste de LAL.

Haja vista, as pesquisas quanto aos meios alternativos devem continuar sendo uma responsabilidade ética da comunidade científica, mantendo a visão de proteção animal bem como a de não prejudicar a vida humana com declínio nos resultados de pesquisas. Com isso, precisamos ter a certeza de que os meios alternativos são eficientes e competentes, com a maior precisão, segurança e eficácia, sendo empregados desde que sejam bem definidos e validados.

Com isso, não é possível acreditar que todos os animais serão substituídos, mas não se devem esgotar tentativas. Por exemplo, experimentos que envolvem aprendizagem e memória ainda não apresentam propostas de substituição, o que não quer dizer que daqui a décadas isso não seja possível.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Torna-se evidente que o uso irresponsável de animais em pesquisas pode oferecer constante dor e sofrimento ao animal vulnerável às diversas manipulações humanas. Portanto, faz-se imprescindível a conscientização e empenhamento ético dos pesquisadores, uma vez que todas as formas de vida são dignas de respeito.

REFERÊNCIAS

ALVES, Maria Júlia Manso; COLLI, Walter. EXPERIMENTAÇÃO COM ANIMAIS: UMA POLÊMICA SOBRE O TRABALHO CIENTÍFICO. 2006. Disponível em: <http://cienciahoje.org.br/artigo/experimentacao-com-animais-uma-polemica-sobre-o-trabalho-cientifico/>. Acesso em: 09 ago. 2020.

ANDERSEN, Monica L.; WINTER, Lucile M.F. Animal models in biological and biomedical research - experimental and ethical concerns. Academia Brasileira de Ciências, [S.L.], v. 91, n. 1. set. 2017. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/0001-3765201720170238>. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0001-37652019000200701&tlng=en. Acesso em: 19 jul. 2020.

ANDRADE, A., PINTO, SC., and OLIVEIRA, RS., orgs. Animais de Laboratório: criação e experimentação [online]. Rio de Janeiro: Editora FIOCRUZ, 2002. 388 p. ISBN: 85-7541-015-6. Available from SciELO Books.

BARROS, Gilcelle Almeida de. O DIREITO DOS ANIMAIS E O BEM-ESTAR NA SUA UTILIZAÇÃO PARA FINS CIENTÍFICOS EM BENEFÍCIO DA SAÚDE HUMANA. 2018. Disponível em: <http://periodicos.fibrapara.edu.br/index.php/fibralex/article/view/62/65>. Acesso em: 09 ago. 2020.

BARROS, Kim Costa. Métodos alternativos para a substituição dos modelos animais na experimentação. 2007. 53 f. TCC (Graduação) - Curso de Curso Técnico de Nível Médio em Laboratório de Bodiagnóstico em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2007.

BIOEMFOCO. Fim da crueldade? As alternativas da ciência para o uso de animais em pesquisa. 2018. Disponível em: <http://bioemfoco.com.br/noticia/alternativas-uso-animais-pesquisa/>. Acesso em: 13 ago. 2020.

CERQUEIRA, Nereide. Métodos alternativos ainda são poucos e não substituem totalmente o uso de animais. 2008. Disponível em: http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?pid=S0009-67252008000200021&script=sci_arttext. Acesso em: 11 ago. 2020.

CHAGAS, Flávia Bernardo; DAGOSTINI, Fernanda Maurer. Considerações sobre a experimentação animal: Conhecendo as implicações éticas do uso de animais em pesquisas. Disponível em: <http://www.unesco.org/new/fileadmin/MULTIMEDIA/FIELD/Montevideo/pdf/RevistaBioetica6b.pdf#page=35>. Acesso em: 11 jun. 2020.

CHORILLI, Marlus; MICHELIN, Daniel C.; SALGADO, Hérica Regina Nunes. Animais de laboratório: o camundongo. *Journal of Basic and Applied Pharmaceutical Sciences*, v. 28, n. 1, 2007.

COSTA, Marianna Cavalheiro da; BARROS, Ana Paula Dantas Nunes de; LOUBACK, Rafaela de Assiz; ROSSI, Maria Isabel Doria. Modelos tridimensionais de cultura de células: aproximando o in vitro do in vivo. *Vigilância Sanitária em Debate*, [s.l.], v. 6, n. 1, p. 72-83, 28 fev. 2018. *Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência y Tecnología*. <http://dx.doi.org/10.22239/2317-269x.01047>. Disponível em: <https://visaemdebate.incqs.fiocruz.br/index.php/visaemdebate/article/view/1047/431>. Acesso em: 13 ago. 2020.

CUDISCHEVITCH, Clarice. História do método científico. 2018. Disponível em: [https://www.proficiencia.org.br/?page_id=1616#:~:text=0%20urgimento%20do%20m%C3%A9todo%20cient%C3%ADfico,12%2C%20o%20per%C3%ADodo%20do%20Renascimento.&text=Foi%20com%20Roger%20Bacon%20\(1214,cient%C3%ADfico%20foi%20come%C3%A7ando%20a%20urgir](https://www.proficiencia.org.br/?page_id=1616#:~:text=0%20urgimento%20do%20m%C3%A9todo%20cient%C3%ADfico,12%2C%20o%20per%C3%ADodo%20do%20Renascimento.&text=Foi%20com%20Roger%20Bacon%20(1214,cient%C3%ADfico%20foi%20come%C3%A7ando%20a%20urgir). Acesso em: 08 ago. 2020.

DISNER, Geonildo Rodrigo. Métodos alternativos à experimentação animal: aspectos éticos, históricos e legais no Brasil. *Evidência*, [s.l.], v. 19, n. 2, p. 259-274, 17 dez. 2019. Universidade do Oeste de Santa Catarina. <http://dx.doi.org/10.18593/eba.v19i2.20964>. Disponível em: <https://unoesc.emnuvens.com.br/evidencia/article/view/20964/14006>. Acesso em: 13 ago. 2020.

FERREIRA, Lydia Masako; HOCHMAN, Bernardo; BARBOSA, Marcus Vinícius Jardini. Modelos experimentais em pesquisa. *Acta Cirúrgica Brasileira*, [s.l.], v. 20, n. 2, p. 28-34, 2005. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/s0102-86502005000800008>.

FIOCRUZ. Animais de Laboratório. Disponível em: <http://www.fiocruz.br/biosseguranca/Bis/infantil/animaislaboratorio.htm>. Acesso em: 10 ago. 2020.

FONSECA, Marcos Augusto M. et al. Bioética na pesquisa de engenharia biomédica: diminuição do uso de animais em experimentos científicos. *Revista Interdisciplinar de Pesquisa em Engenharia*, v. 4, n. 1, p. 48-62, 2018. DOI: <https://doi.org/10.26512/ripe.v4i1.13448>. Disponível em: <https://periodicos.unb.br/index.php/ripe/article/view/13448>. Acesso em: 13 ago. 2020.

GENEROSO, Carolina Wood Fernandez Giugni; SILVA, Djúlio César Zanin da; AMARAL, Raíne Piva. Minicurso - Métodos Alternativos à Experimentação Animal. 2017. Universidade Federal de Alfenas / UNIFAL-MG. Disponível em: <https://www.unifal-mg.edu.br/pet/sites/default/files/Apostila%20M%C3%A9todos%20Alternativos-PET-Bio-UNIFAL.pdf> <https://www.unifal-mg.edu.br/pet/sites/default/files/Apostila%20M%C3%A9todos%20Alternativos-PET-Bio-UNIFAL.pdf>. Acesso em: 13 ago. 2020.

GUIMARÃES, Mariana Vasconcelos; FREIRE, José Ednézio da Cruz; MENEZES, Lea Maria Bezerra de. Utilização de animais em pesquisas: breve revisão da legislação no Brasil. Revista Bioética, [s.l.], v. 24, n. 2, p. 217-224, ago. 2016. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1983-80422016242121>.

HENRIQUES, Maria das Graças Müller de Oliveira; SAMPAIO, André Luiz Franco. Alternativas para animais de laboratório: sistemas in vitro. In: ANDRADE, Antenor; PINTO, Sergio Correia; OLIVEIRA, Rosilene Santos de. Animais de laboratório: criação e experimentação. Rio de Janeiro: Fiocruz, 2006. p. 337-343.

INDOLFO, Nathalia. Métodos alternativos ao uso de animais de experimentação. Disponível em: <https://profissaobiotec.com.br/metodos-alternativos-animais-experimentacao/>. Acesso em: 11 ago. 2020.

LINHAGENS isogênicas, consanguíneas, endocriadas ou endogâmicas (do inglês - inbred strain). 2015. Disponível em: <https://www.unifesp.br/campus/sao/cedeme/modelos-animais/camundongos/isogenico>. Acesso em: 21 jul. 2019.

MÉTODOS alternativos ao uso de animais de experimentação. Disponível em: <https://profissaobiotec.com.br/metodos-alternativos-animais-experimentacao/>. Acesso em: 11 jun. 2020.

MORALES, Marcelo M. MÉTODOS ALTERNATIVOS À UTILIZAÇÃO DE ANIMAIS EM PESQUISA CIENTÍFICA: MITO OU REALIDADE? Ciência e Cultura. São Paulo, 2008. Disponível em: http://cienciaecultura.bvs.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0009-67252008000200015. Acesso em: 05 ago. 2020.

NEVES, Silvânia Meiry Peris et al. Manual de Cuidados e Procedimentos com Animais de Laboratório do Biotério de Produção e Experimentação da FCF-IQ/USP. 2013. 234 f. Tese (Doutorado) - Curso de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2013.

PEREIRA, Lygia da Veiga. ANIMAIS TRANSGÊNICOS - NOVA FRONTEIRA DO SABER. Ciência e Cultura, [s. l.], v. 60, n. 2, 2008.

PRESGRAVES, O. A. F. Alternativas para animais de laboratório: do animal ao computador. In: ANDRADE, A.; PINTO, S. C.; OLIVEIRA, R. S. (Orgs.) Animais de laboratório: criação e experimentação. Rio de Janeiro: Ed. Fiocruz, 2006. p. 361-367.

PROFISSÃO BIOTEC (org.). Métodos alternativos ao uso de animais de experimentação. 2019. Disponível em: <https://profissaobiotec.com.br/metodos-alternativos-animais-experimentacao/>. Acesso em: 4 ago. 2020.

REGIS, Arthur Henrique de Pontes. Experimentação Animal: panorama histórico e perspectivas. 2012. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/3615/361533259006.pdf>. Acesso em: 09 ago. 2020.

REZENDE, Angélica Heringer de. Experimentação animal: ética e legislação brasileira. 2008. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1415-52732008000200010&script=sci_arttext&tlng=pt. Acesso em: 5 ago. 2020.

SCHANAIDER, Alberto. Uso de animais em cirurgia experimental. Acta Cirurgica Brasileira, SP, 2004. DOI 10.1590/S0102-86502004000400014. Disponível em: https://www.scielo.br/scielo.php?pid=S0102-86502004000400014&script=sci_arttext. Acesso em: 19 jun. 2020.



TAVARES, Aline. Pesquisadores descobrem que coronavírus infecta células do coração e vão usá-las para testar medicamentos: colaboração entre pesquisadores do instituto de ciências biomédicas e do instituto de biociências da usp busca desenvolver modelos celulares mais relevantes para descoberta de fármacos e estudos de doenças infecciosas, incluindo a covid-19. Colaboração entre pesquisadores do Instituto de Ciências Biomédicas e do Instituto de Biociências da USP busca desenvolver modelos celulares mais relevantes para descoberta de fármacos e estudos de doenças infecciosas, incluindo a COVID-19. 2020. Disponível em: <https://ww3.icb.usp.br/pesquisadores-descobrem-que-coronavirus-infecta-celulas-do-coracao/?fbclid=IwAR1jSgTFjBnA06saCjfhF300N7UQPJNA6xuQ-2Gw7D5YDPusoWBaVC6QMk0>. Acesso em: 13 ago. 2020.

VASCONCELOS, Yuri. Pele de laboratório. 2016. Disponível em: <https://revistapesquisa.fapesp.br/pele-de-laboratorio/>. Acesso em: 4 ago. 2020.