

Revisão**Aplicação de modelos animais na pesquisa biomédica experimental**

Application of animal models in experimental biomedical research

Mariana Peluci Garcia Mendes^{1*} & Cristina Aparecida de Jesus Souza²

1. Aluna de iniciação científica do Instituto de Ensino e Pesquisa da Santa Casa de Belo Horizonte; 2. Docente do curso de Biomedicina do Centro Universitário UNA Belo Horizonte.

*Email: marianapeluci@gmail.com; Rua Pratinha, 37. Caiçara, apt:303 bloco: 01. Belo Horizonte - MG; CEP: 30750-250. Tel. 55 (31) 9 9113-5889

Resumo:

A utilização de animais na pesquisa biomédica com a finalidade de se compreender os fenômenos biológicos, sempre esteve presente na vida do ser humano. É um importante recurso que possibilitou inúmeras contribuições para o cuidado à saúde como a descoberta de vacinas e tratamentos para doenças que possuem impacto na saúde pública. Diversas espécies são empregadas na pesquisa biomédica e, a escolha da espécie mais adequada, depende do objetivo do estudo e deve ser baseada nas características do animal, sendo que, o camundongo e o rato são os animais mais utilizados em pesquisas. O estudo tem como objetivo discutir a importância da utilização de animais na pesquisa biomédica experimental. Foram realizadas pesquisas bibliográficas nas bases de dados da Scielo, LILACS, PubMed e Periódicos CAPES para pesquisa dos artigos e elaboração do trabalho, onde foram consultados 56 artigos publicados entre os anos 2000 a 2017. Foram utilizados os seguintes descritores para a busca: modelo animal, animais de laboratório, bioética,

pesquisa biomédica e experimentação animal. A utilização de modelos animais está presente em estudos relevantes de diferentes áreas da biomedicina, como por exemplo, em pesquisas a respeito do Zika vírus na área de virologia. Entretanto, pesquisas que utilizam animais em suas metodologias estão submetidas a aspectos éticos que resguardam o bem-estar animal, uma vez que há diretrizes para essa manipulação que estão presentes na Lei Arouca. A substituição dos modelos animais ainda é uma realidade distante, uma vez que existem poucos modelos *in silico* e *in vitro* viáveis para essa efetiva substituição e, em alguns estudos, os resultados obtidos *in vitro* podem ser diferentes dos resultados de experimentos *in vivo*, o que coloca em dúvida a confiabilidade dos testes *in vitro*. A utilização de animais na pesquisa biomédica experimental é uma ferramenta fundamental e necessária e que dificilmente haverá métodos alternativos que consigam representar a fisiologia humana e animal de forma absoluta.

Palavras-chave: Modelo animal, Animais de laboratório, Pesquisa biomédica.

Abstract:

The use of animals in biomedical research in order to understand biological phenomena has always been present in the life of the human being. It is an important resource that has made innumerable contributions to health care such as the discovery of vaccines and treatments for diseases that have an impact on public health. Diverse species are used in biomedical research, and the choice of the most appropriate species depends on the objective of the study and should be based on the characteristics of the animal, with the mice and rat being the most used animals in research. The objective of this study is to discuss the importance of animal utilization in experimental biomedical research. Bibliographic research was carried out in the databases of Scielo, LILACS, PubMed and CAPES journals for article research and elaboration of the study, where 61 articles published between 2000 and 2017 were consulted. The following descriptors were used for the search: animal model, laboratory animals, bioethics, biomedical research and animal experimentation. The use of animal models is present in relevant studies in areas other than biomedicine, such as research on the Zika virus in virology. However, research that uses animals in their methodologies is subject to ethical aspects that safeguard animal welfare, since there are guidelines for this manipulation that are present in the Arouca Law. The replacement of animal models is still a distant reality, since there are few viable *in silico* and *in vitro* models for this effective substitution

and, in some studies, the results obtained *in vitro* may be different from the results of *in vivo* experiments, which puts in doubt the reliability of *in vitro* tests. The use of animals in experimental biomedical research is a fundamental and necessary tool and there are hardly any alternative methods that can represent human and animal physiology absolutely.

Keywords: Animal model, Laboratory animals, Biomedical research.

Introdução

Desde a pré-história, o exercício da observação foi utilizado para se tirar conclusões sobre o organismo animal e empregá-la em seu próprio interesse. Mas, foi a partir do século XIX, que a experimentação animal tornou-se uma prática frequente e, foi reconhecida como importante metodologia científica (FRAJBLAT; AMARAL; RIVERA, 2008).

O termo “experimentação animal” se refere a toda metodologia que tem o objetivo de descobrir um princípio ou efeito desconhecido, testar uma hipótese ou demonstrar uma teoria já conhecida, utilizando-se animais para o experimento (PAIXÃO, 2001).

Modelos de animais vêm sendo desenvolvidos para o estudo científico e sua utilização engloba todos os campos das pesquisas biomédicas atuais. As contribuições trazidas pelos animais de laboratório para a pesquisa biomédica são imensuráveis, passando pela prevenção até a cura de doenças, além de possibilitarem o desenvolvimento de técnicas e

Mendes, MPG & Souza, CAJ

procedimentos cirúrgicos (FAGUNDES & TAHA, 2004).

Várias espécies são utilizadas atualmente no desenvolvimento de estudos científicos, entre elas, as mais comuns encontram-se: coelhos, camundongos, ratos e macacos. A escolha do modelo animal a ser trabalhado deve ser realizada durante o planejamento do projeto, pois, esta escolha dependerá do que será analisado e quais serão os objetivos a cumprir. (FAGUNDES & TAHA, 2004; CHORILLI, et al., 2007).

As condições éticas para utilização de animais para fins científicos vêm sendo discutidas, no Brasil, desde 1980. Entretanto, não havia nenhuma regulamentação para essa prática, sendo assim, eram utilizados princípios e diretrizes criadas por organizações nacionais e internacionais. Em 2008, foi aprovada a Lei Arouca (nº 11.794/08), que estabelece normas para a utilização de animais como modelos experimentais (SCHNAIDER & SOUZA, 2003; MIZIARA, 2012).

A fim de reduzir ou até mesmo extinguir a experimentação animal, métodos alternativos como, modelos *in vitro* e *in silico*, vem sendo desenvolvidos e utilizados na área da saúde. Entretanto, muitos dos experimentos *in vivo* ainda são necessários e utilizados atualmente, em várias áreas de pesquisa (CAZARIN et al., 2004; PERINI et al., 2010).

Esta revisão tem como objetivo discutir a importância da utilização de animais na pesquisa biomédica experimental.

Metodologia

Trata-se de um levantamento de dados encontrados na literatura. Foram realizadas pesquisas bibliográficas, nas bases de dados da Scielo, LILACS, PubMed e Periódicos CAPES, a partir dos seguintes descritores: modelo animal, animais de laboratório, bioética, pesquisa biomédica e animal experimentação animal, onde foram consultados cerca de 56 artigos. Foram lidos e analisados os artigos encontrados na área da pesquisa biomédica em que havia modelo animal em suas metodologias.

Os critérios de inclusão foram artigos publicados entre 2000 a 2017, com os descritores acima especificados; artigos publicados no idioma português e inglês e artigos que relatavam a utilização de animais em pesquisas biomédicas experimentais. O período da busca foi de Julho de 2016 a Abril de 2017. Foram excluídos artigos que não atenderam os critérios acima especificados.

Resultados e Discussão

Os modelos experimentais utilizados em pesquisas possuem a finalidade de representar uma situação ou condição real. Esses modelos devem ser precisos e os mais semelhantes possíveis ao que se deseja estudar, uma vez que são ferramentas utilizadas para compreensão de fenômenos naturais, como doenças e mecanismos fisiológicos (FERREIRA; HOCHMAN; BARBOSA, 2005).

Há vários modelos experimentais descritos na literatura, entre os mais comuns: cultura de células e tecidos destinados à pesquisa *in vitro*;

animais de laboratório destinado à pesquisa *in vivo* e os cadáveres de seres humanos, que auxiliam no estudo anatômico (FERREIRA; HOCHMAN; BARBOSA, 2005).

Diversas pesquisas são executadas, tendo em suas metodologias modelos animais, com o objetivo de adaptar e aplicar os resultados a fim de compreender a complexidade da fisiologia e da doença nos seres humanos. O uso de animais na pesquisa experimental é citado desde o século V a.C. quando Hipócrates observou a similaridade anatômica de órgãos humanos doentes com os de animais (DANIELSKI et al., 2011; MIZIARA et al., 2012).

Posteriormente, Aristóteles (384-322 a.C.) executou experimentos comparando órgãos de humanos com os de animais, a fim de, constatar semelhanças e diferenças anatômicas e fisiológicas. Em 1514, Vesalius retomou as pesquisas experimentais em animais e questionou algumas teorias, como por exemplo, a circulação sanguínea estudada por um cientista cujo nome era Galeno. Entretanto, foi a partir do século XIX, que a aplicação de modelo animal em pesquisas se tornou uma prática contínua, permitindo inúmeras descobertas na área biomédica, proporcionando um significativo avanço da ciência (RAYMUNDO & GOLDIM, 2002; MIZIARA et al., 2012).

Até 1976, a experimentação animal se apresentou como uma atividade crescente, porém a partir desse período houve uma notável diminuição. A causa dessa diminuição pode estar relacionada à substituição de experimentos *in vivo* por métodos *in vitro*; ao aprimoramento da qualidade dos animais de laboratório,

portanto, maior otimização da utilização desses animais; ao alto custo de pesquisas contendo animais em suas metodologias e ao aumento de protestos contra a utilização de animais em pesquisas experimentais (PAIXÃO, 2001).

Os modelos animais têm sido utilizados em diversos campos da pesquisa biomédica. Foram os grandes responsáveis pelos conhecimentos e recursos que, atualmente, o ser humano possui a respeito das doenças para a prevenção e o tratamento das enfermidades. A descoberta da insulina e produção de algumas vacinas e soros são exemplos de recursos obtidos através da experimentação animal (CHORILLI; MICHELIN; SALGADO, 2007).

Pires e Chacra (2008) relataram que a descoberta da insulina ocorreu em 1921, em experimentos realizados em modelo animal, mais especificamente, em cães. Neste experimento, os cientistas tinham o objetivo de constatar que, a secreção exócrina pancreática tinha a capacidade de destruir a substância sintetizada pelas ilhotas de Langerhans. Os autores destacam a importância da descoberta da insulina no tratamento e na qualidade de vida dos portadores de diabetes mellitus. De acordo com a *International Diabetes Federation* (Federação Internacional de Diabetes) (2015), aproximadamente 415 milhões de pessoas são portadores desta doença, ou seja, a cada 11 pessoas 1 possui diabetes, e estima-se que até 2040 esse número elevará, em média, para 642 milhões de pessoas. O gasto direcionado com o diagnóstico, tratamento e ações preventivas contra essa doença, equivale a 12% das despesas globais destinadas a saúde. Considerando a relevância e o impacto que a

diabetes possui na saúde pública, pode-se considerar que a descoberta da insulina foi fundamental na compreensão e no tratamento da doença.

O uso de animais na pesquisa científica permitiu o desenvolvimento de vacinas e erradicação de diversas doenças, como por exemplo, a raiva. Babboni e Modolo (2011) relatam que Pasteur em 1881, em seus primeiros experimentos, utilizando coelhos, descobriu o alvo do vírus: o sistema nervoso central. Posteriormente, em 1885, Pasteur utilizando em seus experimentos como modelo animal cães e coelhos, estudou método de atenuação do vírus, permitindo a tentativa do tratamento preventivo contra a doença, desenvolvendo uma vacina. Ainda nesse ano, Pasteur teve sucesso no tratamento de uma criança que havia sido infectada através de uma mordida de um cão raivoso. Sabendo-se que esta é uma doença que provoca a morte de milhares de animais e humanos em todo o mundo, o estudo de Pasteur se destaca por ter obtido um grande avanço no mundo científico, por ter implementado um tratamento para uma doença letal como a raiva (ANTUNES et al., 2017).

Animais podem ser utilizados como modelo experimental, uma vez que, apresentam mecanismos patológicos, consideravelmente, similares aos das doenças que acometem os seres humanos. A escolha do modelo animal “ideal” deve levar em consideração sua similaridade anatômica, fisiológica e orgânica em relação aos seres humanos, a fim de se obter resultados mais aplicáveis (SCHNAIDER & SILVA, 2004; FERREIRA; HOCHMAN; BARBOSA, 2005).

Monteiro et al., (2009), relatam a existência de quatro classificações de modelos animais: (1) induzido, situação em que a doença a ser pesquisada é induzida experimentalmente; (2) espontânea, situação em que, através de alteração gênica de doenças humanas, estas ocorrem espontaneamente nos animais; (3) negativos, situação em que os animais não desenvolvem doenças específicas ou não respondem a estímulos específicos; (4) órfão, condição que ocorre espontaneamente nos animais e que não se assemelha a nada já descrito em seres humanos, porém, este modelo é adotado, quando tal situação é identificada no homem posteriormente.

No estudo de Zheng et al, (2017), o modelo induzido é utilizado através de administração da droga estreptozotocina, via intraperitoneal, para induzir camundongos à diabetes após o período de cinco dias. A hiperglicemia foi comprovada através de um medidor de glicose sanguíneo.

Toledo et al., (2010) relatam que a próstata canina vem sendo alvo de estudos, uma vez que, a próstata canina possui semelhança morfológica e desenvolve lesões prostáticas cancerígenas semelhantes aos seres humanos. Portanto, o cão é um exemplo de modelo espontâneo, pois, desenvolve alterações genéticas prostáticas, espontâneas, que se assemelham aos seres humanos, tornando-o um importante modelo animal no estudo dessas doenças.

Os modelos negativos são utilizados para se compreender os mecanismos de resistência a certas doenças como demonstrado no estudo de Brown et al., (2008). Neste estudo, é

Mendes, MPG & Souza, CAJ

apresentado um modelo transgênico que é suscetível à tireoidite induzida por tireoglobulinas heterólogas como, a humana, porém, resistente a tireoidite induzida por tireoglobulinas de rato, situação contrária ao que ocorre naturalmente.

A doença de Marek, a Papilomatose e a encefalopatia espongiforme bovina (BSE), popularmente denominada, “doença da vaca louca” são exemplos de doenças que ocorrem espontaneamente nos animais e que apareceram posteriormente nos seres humanos. Doorbar (2016) relata que apesar da disponibilidade de modelos *in vitro* para doenças, e suas aplicações no estudo do HPV, o estudo do papilomavírus necessita de modelos *in vivo* para ser totalmente compreendido. Doorbar relata também que na literatura há muitos estudos sobre os papilomavírus animais, como o papilomavírus de coelho, o papilomavírus oral de coelho e, mais recentemente, papilomavírus do rato (MmuPV). Este vírus está associado ao desenvolvimento de câncer de colo de útero, o segundo câncer mais comum entre as mulheres, visto que, 90% das mulheres que apresentam esse tipo de câncer já tiveram contato com o HPV. Portanto, esses animais são fundamentais, uma vez que, podem ser utilizados como modelos órfãos, para se obter maior conhecimento e tratamentos para o papilomavírus humano (HPV) (SOUSA; PINHEIRO; BARROSO, 2008).

A aplicação de diferentes técnicas, associadas à utilização de diversas espécies de animais são essenciais para o conhecimento a respeito dos mecanismos biológicos, tanto dos seres humanos quanto de outros animais.

Muitos animais são utilizados para pesquisa experimental, sendo por ano aproximadamente, 15 milhões nos Estados Unidos, 11 milhões na Europa, cinco milhões no Japão, dois milhões no Canadá e menos de um milhão na Austrália. No Brasil, o número é desconhecido, porém, não é tão significativo diante dos países citados anteriormente (MORALES, 2008; ANDREOLLO et al., 2002).

De acordo com o Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA), o conceito de animal está relacionado a qualquer animal vertebrado vivo, das espécies pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata, como cita o Artigo 2º da Lei nº 11.794, de 2008, portanto, apenas animais que entram nessa categoria serão citados (Brasil, 2013). O quadro 1 relata as espécies mais utilizadas na pesquisa biomédica, suas características e os estudos comumente empregados.

Quadro 1: Espécies utilizadas, suas características e estudos que são mais empregados na pesquisa biomédica.

Animal	Características	Estudos
Cão	Porte Constituição anatômica.	Transplantes; Traumatismos; Cirurgias do baço; trato gastrointestinal.
Camundongo	Condição patológica semelhante aos seres humanos; Facilidade de manipulação do genoma e similaridade genética aos humanos.	Genética; Farmacologia; Bioquímica, Fisiologia e Biofísica.
Coelho	Mansidão; Facilidade de manipulação.	Oftalmologia; Cirurgias plásticas ou vasculares.
Primatas	Características evolutivas, biológicas e comportamentais semelhante à de seres humanos.	Comportamento e estudos mais aprimorados.
Ratos	Porte; Prolificidade; Fácil manipulação.	Áreas nutricionais; Sepses; Câncer; Cicatrização e Choques.
Suínos	Semelhanças aos seres humanos como: fisiologia digestiva; hábitos dietéticos; taxa respiratória; comportamento social; Estrutura e funções de órgãos (rim, pulmão e artéria coronária).	Treinamento de Cirurgia vídeo-laparoscópico (padrão-ouro); Transplantes; pesquisa sobre o fígado e úlcera péptica; Estudos de função cardíaca.

FONTE: (SCHNAIDER; SOUZA, 2003; SCHNAIDER; SILVA, 2004; MARIANO, 2003; CHORILLI; MICHELIN; SALGADO, 2007).

Das pesquisas realizadas em animais publicadas em bases de dados conhecidas, como MEDLINE, LILACS e PubMed, mais de 70% dos trabalhos publicados utilizaram ratos e camundongos. Depois de roedores, os animais mais utilizados em pesquisas experimentais são coelhos, cães, suínos e por últimos primatas não humanos. Pesquisas com modelos primatas animais são amplamente limitadas pelos comitês de ética e legislações (FAGUNDES & TAHA, 2004; ANDREOLLO et al., 2012; SHARP, 2017).

Aplicabilidade dos modelos animais

A pesquisa biomédica experimental se destaca, devido ao impacto que promove em relação à prevenção e ao diagnóstico de doenças, promoção e pesquisa em saúde. Além disso, ao utilizar o termo pesquisa em saúde, três elementos estão interligados, uma vez que, são interdependentes: (1) pesquisa clínica, no qual, o foco principal é o paciente, de forma isolada ou coletiva; (2) pesquisa dos sistemas de saúde, tendo como foco a saúde pública, como por exemplo, analisando parâmetros como, gestão e epidemiologia; (3) ciências básicas e biotecnologia, sendo que o foco é o estudo contínuo de doenças, métodos diagnósticos e tratamentos. As pesquisas biomédicas experimentais têm trazido contribuições significativas ao longo dos anos (ZAGO, 2004).

Entre as áreas que pertencem ao campo biomédico e que fazem constantemente a utilização de animais em suas metodologias, citadas por Buss (2002), encontram-se a Biotecnologia, a Farmacologia e Toxicologia, a Patologia, a Bacteriologia, a Virologia, a Imunologia básica e patológica, a Parasitologia e a Genética.

Na área de imunologia básica e patológica, a pesquisa experimental apresentando como objetivo novos métodos de diagnósticos, baseado em imunoglobulinas presentes no soro vem se tornando constante. Antigamente, os autoanticorpos eram considerados marcas exclusivas de distúrbios autoimunes, porém hoje, essa concepção mudou. Sabe-se que os autoanticorpos são abundantes no soro de todos os seres humanos e que idade, gênero e doenças podem modificar os níveis séricos destes no organismo. Essas alterações séricas podem ser utilizadas a fim de se diagnosticar uma doença. Atualmente, o conhecimento a respeito das doenças, através do desenvolvimento de modelos animais como modelo de doenças, novos autoanticorpos estão sendo estudados (DUVAL et al., 2016).

A área de toxicologia é uma área em que, há uma maior demanda de animais, principalmente na pesquisa pré-clínica. A avaliação toxicológica pré-clínica de uma nova droga ocorre através de quatro etapas:

toxicidade aguda, doses repetidas, sub-crônica e crônica. Antes que se iniciem testes de novos fármacos em seres humanos, é obrigatório que essas etapas citadas, sejam executadas primeiramente em modelos animais, em no mínimo, três espécies diferentes, sendo que uma dessas espécies deverá ser não roedora (GOLDIM, 2007).

A biotecnologia teve ascensão na década de 80 quando, as grandes empresas do setor químico-farmacêutico reconheceram a eficácia da engenharia genética e começaram a investir em pesquisas. Essas pesquisas estavam direcionadas à saúde humana e objetivavam a produção de produtos terapêuticos e preventivos, como por exemplo, vacinas e kits para diagnóstico (AZEVEDO et al., 2002).

Essas tecnologias voltadas para a área da saúde contemplam conhecimentos de diversas áreas, como: imunologia, genética, biologia molecular, virologia e bacteriologia, a fim de, gerar produtos para proteção da população contra doenças infecciosas, trazendo a expectativa que futuramente, diversas doenças terão cura ou até mesmo poderão ser prevenidas (DINIZ & FERREIRA, 2010).

O desenvolvimento destas vacinas está em constante avanço. Tavares et al., (2009) relatam que há estudos de vacinas voltadas para prevenção de doenças parasitárias,

como por exemplo, giardíase e leishmaniose. Em sua pesquisa Yao et al., (2017) mencionam a disponibilidade e utilização de animais que apresentam o sistema imunológico mais semelhante aos seres humanos, para estudos pré-clínicos, cujo objetivo é a descoberta e aprimoramento de novas vacinas contra tuberculose (TB). Os autores utilizaram em seus experimentos modelo de camundongos TB humanizados e ao testar uma nova vacina contra a tuberculose via pulmonar ou via parenteral, foi visualizado que ocorre ativação de células T, mesma situação que ocorre em vacinas humanas. Através deste estudo constatou-se que esse modelo humanizado pode ser utilizado, a fim, de predizer a efetividade de novas vacinas contra a TB antes que realizem ensaios humanos que possuem custos elevados. A tuberculose, tendo como principal causador o *Mycobacterium tuberculosis*, provoca a morte de aproximadamente 1,5 milhões de pessoas/ano no mundo todo e, a grande preocupação, levando em consideração ao impacto à saúde pública é o aumento de novos casos da doença multirresistentes a fármacos e a dificuldade de tratamento. Portanto, pode-se notar a importância de estudos como o de Yao et al., (2017) que buscam a prevenção utilizando modelos de estudos, como o modelo animal, que possui mecanismo imunológico semelhante, para

se estudar uma doença tão relevante como a tuberculose (FERNANDES et al., 2016).

Corroborando com o estudo de Yao et al., Ernst (2016) relata que é importante que estudos a respeito da eficácia de vacinas e agentes terapêuticos sejam testados *in vivo*, ou seja, utilizando modelos animais, antes do estudo em seres humanos. O que justifica essa utilização de modelos animais para essa finalidade seria que, apenas esses modelos são capazes de prever reações adversas e uma efetiva prevenção imunológica.

É possível encontrar na literatura diversos modelos animais padronizados para doenças específicas, ferramentas muito utilizadas em pesquisas de diversas áreas, principalmente patologia, possibilitando maior elucidação a respeito das doenças e seus aspectos. Um exemplo disso é o estudo de Argenta e Pereira (2009), no qual, os autores demonstram vários modelos animais de aneurismas, sendo cães e suínos os animais mais utilizados. Os autores relatam que alguns destes modelos são importantes para estudar questões específicas do processo patológico do aneurisma. A importância desses modelos animais é referida também no estudo de Maltby et al., (2017), uma vez que, abordam modelos de asma severa que permitem a identificação de mecanismos patogênicos da doença e a realização de testes que avaliam a eficácia pré-clínica de novas

terapias. Os autores relatam que esses modelos trouxeram colaboração significativa para o entendimento de fenótipos alérgicos/eosinofílicos da asma e facilitaram o desenvolvimento de novas terapias mais específicas como, terapias anti-IL-5 e anti-IgE, componentes imunológicos que auxiliam no desenvolvimento da asma alérgica.

Para estudos na área de patologia, os camundongos são frequentemente utilizados, pois são modelos eficazes para o estudo de doenças infecciosas e para o estudo de testes de agentes terapêuticos. Os avanços nos estudos moleculares têm permitido a inativação de genes específicos, o que permite o estudo de diversas proteínas importantes envolvidas em patologias (Carvalho & Lopes, 2006; Ernst, 2016).

Para a área de Virologia, há modelos animais diferenciados, pois, certos vírus conseguem infectar apenas células humanas, portanto, animais utilizados regularmente na pesquisa biomédica experimental não são capazes de serem infectados por estes microrganismos. Atualmente, a fim de se estudar doença infecciosa causada por estes vírus existe o modelo de rato humanizado, citado anteriormente, no qual, células humanas e tecidos são enxertados no animal, permitindo que este seja um modelo adequado para estudos mais específicos (ERNST, 2016).

Hawiecki et al., (2017) relatam que o rápido desenvolvimento de modelos de ratos para Zika vírus já proporcionou importantes informações, como o conhecimento a respeito de transmissão congênita e as consequências da infecção por esse vírus. Os estudos com estes modelos têm revelado que o Zika vírus, em camundongos, causa altos títulos virais e demonstram sintomas neurológicos, congênitos e oculares que condizem com os sintomas manifestados no atual surto. No estudo de Nguyen et al., (2017), a pesquisa é direcionada à compreender a transmissão do vírus materno-fetal humana e as consequências, e foram utilizadas como modelo animal quatro fêmeas de macacos Rhesus grávidas. Os macacos tiveram viremia prolongada em 3 das 4 gravidezes e diminuiu a velocidade de crescimento fetal da cabeça no último mês de gestação. Nesse modelo animal, podem-se avaliar fatores de risco e testar intervenções terapêuticas para interromper a infecção fetal. Os resultados podem sugerir que a transmissão materno-fetal na gravidez humana pode ser mais frequente do que é relatado atualmente. Desde 2015, 40 países relataram transmissão vetorial do Zika vírus na região das Américas. O Brasil teve o maior número de casos relatados em todo mundo, sendo mais de 200.000 casos até final de Dezembro de 2016 e, a maioria dos casos tiveram microcefalia e outros defeitos de

nascimento associados. Diante de uma doença que possui um impacto tão grande na saúde pública se faz necessário um amplo estudo a fim de, compreender a patologia, o que faz com que os estudos citados anteriormente sejam tão importantes (FARIA et al., 2017).

Os estudos utilizando modelo animal podem trazer contribuições para várias áreas, até mesmo para a ciência forense humana. Barington, Jensen e Skovgaard (2017) relatam a importância de estabelecer o tempo que as contusões apresentam e a força utilizada para causar uma lesão para a patologia forense humana. Os autores investigaram a expressão de mais de 50 genes diferentes na gordura subcutânea e tecido muscular de hematomas experimentais em suínos, a fim de, examinar se as assinaturas de expressão de genes verificadas eram capazes de determinar hematomas de acordo com a idade e a força de impacto. Através dos experimentos pôde-se concluir que a assinatura de expressão de genes verificados na gordura subcutânea refletia a idade da lesão e era de certa forma, capaz de classificar lesões obtidas por forças diferentes. Estes resultados podem fornecer informações importantes para a ciência forense humana uma vez que, há similaridade fisiológica e imunológica da pele humana e porcina.

Princípios éticos da experimentação animal

A utilização de modelo animal na pesquisa biomédica é fundamental, uma vez que, implicações éticas impossibilitam pesquisa em seres humanos, a fim de, se estudar princípios fisiológicos, gerar e aprimorar tratamentos e métodos de diagnósticos (DAMATTA, 2010).

O processo experimental animal também apresenta questões éticas envolvidas, desde o planejamento do projeto, escolha do modelo animal a ser utilizado, número de animais necessários, entre outros. Ética é um valor essencial para que haja um equilíbrio entre o avanço da ciência biomédica e o bem-estar animal. A palavra Bioética retrata a aplicação dos princípios éticos, ou seja, critérios que conduzem o comportamento adequado do ser humano, a área da biologia e da Medicina (FRAJBLAT; AMARAL; RIVERA; 2008).

A realização de pesquisas científicas tem o principal objetivo de buscar a prevenção e o tratamento efetivo de doenças que acometem os seres humanos. Os princípios éticos atualmente assumem dois aspectos: o favorável, devido o empenho em prevenir ou aliviar o sofrimento dos seres humanos, e contrário à ideia do animal como modelo biológico, levando em consideração o sofrimento animal

(REZENDE; PELUZIO; SABARENSE, 2008).

No século XIX, a experimentação animal se intensificou e acompanhando essa situação, surgiram as primeiras sociedades protetoras dos animais. A primeira organização a ser fundada foi na Inglaterra, em 1824, e recebeu o nome de *Society for the Preservation of ruelty to Animals* (Sociedade para a Prevenção de Crueldade Contra Animais). Posteriormente, no Reino Unido, em 1876, a primeira lei que regulamentava a utilização de animais na pesquisa foi proposta mediante ao *British Cruelty to Animal Act*. (Ato sobre Crueldade Britânica com Animais) (RAYMUNDO & GOLDIM, 2002).

Em 1959, dois cientistas Russel e Burch, formularam o princípio dos 3 RS, que incentivava a implantação de três ações à experimentação animal: (1) *replacement* (substituição), refere-se a substituição do modelo animal por modelos *in vitro* ou outros modelos alternativos, (2) *reduction* (redução) refere-se a redução da utilização de animais em cada experimento e, (3) *refinement* (refinamento) referente ao refinamento das técnicas visando à minimização do sofrimento animal e dor desnecessária. Esses princípios serviram como metas na criação de leis referente à experimentação animal em vários países, inclusive, no Brasil (REZENDE;

PELUZIO; SABARENSE, 2008; DAMY et al., 2010).

No Brasil, em 1991, o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), foi fundado e foi elaborado um documento, no qual, recebera o nome de Princípios Éticos na Experimentação Animal. Este apresentava orientações sobre, como deveria ser a conduta de profissionais que, lidavam com animais para fins científicos (DUARTE, 2007).

Através desse documento foi decretado à obrigatoriedade da implantação de um Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) em cada instituição que realiza experimentação animal. Como norma obrigatória, cada CEUA deverá ter como integrante, um médico veterinário, profissionais docentes e pesquisadores da área de pesquisa específica autorizados ao cargo (PIMENTA & SILVA, 2001; DUARTE, 2007).

O comitê de ética tem o papel de avaliar a proposta de cada trabalho a ser desenvolvido e que possui em sua metodologia o modelo animal, em uma determinada instituição, levando em consideração a necessidade do uso de animais e a relevância do trabalho (FEIJÓ; BRAGA; PITREZ, 2010).

A utilização de animais na pesquisa levou ao desenvolvimento de uma ciência que estabelece limites e garante o bem-estar dos animais, denominada, ciência de

animais de laboratório. Esta ciência contempla a aplicação da medicina veterinária e da ciência animal para a manipulação destes animais (CLOTET; FEIJÓ; OLIVEIRA, 2011).

No Brasil, até 2008, não havia regulamentação para o uso de animais em pesquisas e a conduta perante as experimentações eram de acordo com leis e princípios formulados por organizações nacionais e internacionais. Porém, em 2008 foi sancionada a Lei Arouca, que prevalece até os dias atuais (MIZIARA et al., 2012; OLIVEIRA & GOLDIM, 2014).

A Lei Arouca estabelece normas para a utilização de animais em pesquisas experimentais. Uma das normas estabelecidas exige que, instituições que realizam experimentação animal deverão ter um ambiente adequado para a hospedagem desses animais. Portanto, é fundamental a implantação de biotérios adequados a esses animais, que não lhe causem estresse e dê as condições necessárias para garantir o bem-estar animal (MIZIARA et al., 2012).

Ao se falar em aspectos éticos, a metodologia para realizar a eutanásia dos animais utilizados em pesquisas científicas é um assunto muito discutido. O CONCEA define eutanásia como a prática de provocar a morte de maneira controlada e assistida com o objetivo de aliviar a dor ou o sofrimento do animal. Sabe-se que os

métodos de eutanásia são escolhidos de acordo com a espécie, raça, tamanho, estado de domesticação, comportamento, presença de dor ou doenças, grau de excitação cerebral. A manipulação correta do animal é fundamental para minimizar a dor ou o sofrimento (CONCEA, 2015).

Os aspectos éticos abrangem apenas animais do Filo Chordata, Subfilo Vertebrata, como aqueles citados anteriormente, por considerá-los seres capazes de, sentir dores e ter experiência característica de sofrimento (OLIVEIRA & GOLDIM, 2014).

É importante ressaltar que, a publicação de estudos experimentais é fundamental, mesmo que não apresentem resultados estatisticamente significativos, pois, esses dados evitam que haja utilização desnecessária de animais em estudos redundantes (DAMY et al., 2010).

A pesquisa biomédica e as novas perspectivas

Nos últimos anos, a busca de métodos alternativos, ou seja, procedimentos que não utilizam animais como metodologia científica, tem recebido um grande destaque. Métodos alternativos são conceituados como qualquer método que, pode ser utilizado com a finalidade de redução ou substituição da utilização de animais, sendo estes aplicados na pesquisa

biomédica e/ou em outras áreas (PEREIRA & SANTOS, 2016).

Rodrigues et al (2011) relata:

“Como alternativas para a pesquisa pode-se ter culturas de células e tecidos (*in vitro*), simulações de computadores e bioinformática, tecnologia DNA recombinante e nanotecnologia.”

Knop e Maria (2016) apontam também que a análise de dados existentes na literatura evita a reprodução de experimentos, em animais, já realizados anteriormente.

Como citado anteriormente, um dos métodos que pode em alguns casos, substituir o uso de animais são as pesquisas *in vitro* que, podem apresentar algumas vantagens em relação à pesquisa *in vivo*. O experimento *in vitro* pode limitar o número de fatores que causam alterações no resultado final, conseqüentemente, a obtenção de dados significativos mais facilmente (ROGERO et al., 2003).

Pesquisas que utilizam ou que buscam criar modelos *in vitro* confiáveis têm ganhado espaço nos estudos científicos. Ito et al., (2017), utilizam-se células endoteliais microvasculares cerebrais humanas (hCMEC / D3), como modelo *in vitro* da barreira hematoencefálica humana (BHE). O objetivo deste estudo foi estudar a sinalização da insulina na BHE. Através desse estudo utilizando modelo *in vitro*,

constata-se que a sinalização da insulina na BHE contribui para a manutenção da homeostase, regulando a proliferação celular e a integridade da junção apertada.

Outro exemplo que demonstra o avanço na descoberta de novos modelos *in vitro* é o estudo de Keric et al (2017), na qual, visa criar um modelo confiável de coágulos sanguíneos *in vitro* para estudar a dose ótima e o tempo do fármaco, ativador de plasminogênio de tecido recombinante (rtPA). Este fármaco é utilizado como tratamento alternativo para a hemorragia intracerebral espontânea. O autor e colaboradores demonstram um novo modelo de coágulo para estudo *in vitro* e demonstram que através desse modelo a terapia para hemorragia intracerebral espontânea com rtPA pode ser mais eficiente usando menor quantidade de rtPA, em tempos de incubação mais curtos.

Porém, a validação e a legitimação desses métodos substitutivos são realizadas de maneira rigorosa por instituições governamentais, como relatam Knop & Maria (2016). Os autores alegam que para se validar métodos substitutivos, há uma série de critérios para serem avaliados como, eficácia, segurança, toxicidade, especificidade, sensibilidade e valor preditivo para cada teste. Em seu estudo, Presgrave (2010), expõe que métodos alternativos *in vitro* aprovados e com objetivo de substituir totalmente

experimentos com animais, ainda são vistos como uma meta a ser cumprida, e não como realidade. Outra alternativa que o autor relata para diminuir a utilização de animais na pesquisa é a experimentação *in silico*, que se refere à utilização de softwares na suposição de efeitos através de bancos de dados.

A pesquisa de Antonioletti et al., (2017) demonstra como o desenvolvimento de métodos *in silico* estão progredindo, uma vez que, evidencia o desenvolvimento de um software de simulação denominado BeatBox. Esse programa é capaz de representar de forma realística a biofísica e anatomia e eletrofisiologia cardíaca e, poderá ser utilizado na compreensão de algumas disfunções cardiovasculares mal compreendidas, como por exemplo, as arritmias cardíacas. Porém, ainda é uma tecnologia de alto custo.

A modelagem molecular é outro método alternativo que tem permitido a introdução de fármacos na indústria farmacêutica e, conseqüentemente, a cura de doenças. Essa metodologia estuda a interação ao nível molecular de uma substância com seu receptor, em seus aspectos qualitativos e quantitativos. Permite uma análise da estrutura molecular aplicada em determinado sistema biológico, além disso, pode-se prever a potencialidade de moléculas viáveis a compostos bioativos (SCOTTI et al., 2007)

O pesquisador do Laboratório de Biotecnologia da Reprodução/Biotério da Universidade do Vale do Itajaí e presidente do COBEA, Marcel Frajblat citado por Cerqueira (2008), afirma que é muito difícil a produção de um modelo alternativo que represente de forma precisa a fisiologia do corpo humano ou animal. Portanto, ele conclui que algumas fases da experimentação científica poderão ser substituídas, mas, que ainda haverá necessidade da experimentação animal. Essa afirmação corrobora com o estudo de Araújo et al (2016), que demonstram a discrepância entre resultados *in vitro* e *in vivo* e a importância de se utilizar animais na pesquisa biomédica. Em seus experimentos foi constatado que os testes *in vitro* não são suficientes para caracterizar um agente esquistossomicida, se comparado ao teste *in vivo* realizado neste estudo, em camundongos. Os autores relatam que os testes *in vivo* são necessários uma vez que, resultados a respeito da ação de esquistossomicidas são diferentes quando realizados *in vitro* e *in vivo*.

A utilização de animais para fins científicos ainda é necessária, uma vez que, muitos experimentos *in vivo* ainda são insubstituíveis e ainda não possuem métodos alternativos viáveis para uma substituição absoluta (Pereira & Santos, 2016).

Conclusão

A utilização de animais sempre esteve presente na vida dos seres humanos e contribui de maneira incontestável para a pesquisa biomédica. Além disso, os modelos animais são responsáveis pelos recursos mais efetivos e definitivos que a ciência dispõe hoje para investigação de métodos preventivos e tratamento de doenças.

Mediante a perspectiva deste trabalho conclui-se que a utilização de animais na pesquisa biomédica é de extrema importância e é necessária devido à falta de métodos alternativos que possam substituir efetivamente os experimentos que possuem modelo animal em sua metodologia.

Referências bibliográficas

- ANDREOLLO NA, SANTOS EF, ARAÚJO MR, LOPES LR. Idade dos ratos versus idade humana: Qual é a relação? Arq Bras Cir Dig, São Paulo, 25(1), 49-51, 2012.
- ANTONIOLETTI M, BIKTASHEV VN, JACKSON A, KHARCHE SR, STARY T, BIKTASHEVA IV. BeatBox—HPC simulation environment for biophysically and anatomically realistic cardiac electrophysiology. Plos One, 5(12), p.36-46, 2017.
- ARAÚJO N, COUTO FFB, ZANI CL. Avaliação da atividade esquistossomicida do carvacrol em experimentos *in vitro* e *in vivo*. Revista de Patologia Tropical, 2(45), 179-191, 2016.
- ARGENTA R & PEREIRA AH. Modelos animais de aneurisma de aorta. Jornal Vascular Brasileiro. Porto Alegre, 8(2), 148-153. 2009.
- AZEVEDO N, FERREIRO LO, KROPF SP, HAMILTON WS. Pesquisa científica e inovação tecnológica: a via brasileira da biotecnologia. Revista de Ciências Sociais, Rio de Janeiro, 1(45), 139-176, 2002.

Mendes, MPG & Souza, CAJ

- BABBONI SD & MODOLO JR. Raiva: Origem, importância e aspectos históricos. *Cient Ciênc Biol Saúde*, (13), 349-356, 2011.
- BARINGTON K; JENSEN HE, SKOVGAARD K. Forensic aspects of gene expression signatures for age determination in bruises as evaluated in an experimental porcine model. *Forensic Science, Medicine, And Pathology*, 2(13), p.151-160, 2017.
- BRASIL. Art. 2º da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008.
- BROWN NK, DANIEL JM, VLADIMIR BR, CHELLA SD, YI-CHI MK. A novel H2A-E+ transgenic model susceptible to human but not mouse thyroglobulin-induced autoimmune thyroiditis: Identification of mouse pathogenic epitopes. *Cellular Immunology*, 1(251), 1-7, 2008.
- BUSS PM. Prefácio. In: Andrade A, Pinto SC, Oliveira RS. *Animais de laboratório criação e experimentação*. Rio de Janeiro: Editora Fiocruz, 1-2, 2006.
- CARVALHO THF & LOPES OU. O emprego de camundongo geneticamente modificado como modelo de estudo para doenças cardiovasculares. *Medicina (Ribeirão Preto. Online)*, 1 (39), 110-116, 2006.
- CAZARIN KCC & CORRÊA CL, ZAMBRONE FAD. Redução, refinamento e substituição do uso de animais em estudos toxicológicos: uma abordagem atual. *Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas*. 3(40), 289-299, 2004.
- CERQUEIRA N. Métodos alternativos ainda são poucos e não substituem totalmente o uso de animais. *Cienc. Cult.*, São Paulo, 2(60), 47-49, 2008.
- CHORILLI M, MICHELIN DC, SALGADO HRN. Animais de laboratório: O camundongo. *Rev. Ciênc. Farm. Básica Apl.* 1(28), 11-23, 2007.
- CLOTET, J, FEIJÓ AGS, OLIVEIRA MG. *Bioética: uma visão panorâmica*. Porto Alegre, Editora PUCRS 280, 2011.
- CONSELHO NACIONAL DE CONTROLE DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CONCEA). *Diretriz brasileira para o cuidado e a utilização de animais em atividades de ensino ou de pesquisa científica – DBCA*. Brasília/DF, p. 4, 2016.
- DAMATTA RA. Modelos animais na pesquisa biomédica. *Scientia Medica*, Porto Alegre, 3(20), 210-211, 2010.
- DAMY SB, CAMARGO RS, CHAMMAS R, FIGUEIREDO LFP. Aspectos fundamentais da experimentação animal - aplicações em cirurgia experimental. *Rev Assoc Med Bras*, São Paulo, 56 (1),.103-111, 2010.
- DANIELSKI JCR, BARROS DM, CARVALHO F, ANTONIOLO H. O uso de animais pelo ensino e pela pesquisa: prós e contras. *Revista Eletrônica de Comunicação, Informação & Inovação em Saúde*, 1(5), 72-84, 2011.
- DINIZ MO, FERREIRA LCS. Biotecnologia aplicada ao desenvolvimento de vacinas. *Estudos Avançados*, 70(24), 19-30, 2010.
- DOORBAR J. Model systems of human papillomavirus-associated disease. *The Journal Of Pathology*, 2(238), 166-179, 2015.
- DUARTE KMR. *Protocolos e Normas para Uso de Animais de Laboratório para Produção de Anticorpos e Soros*. Boletim de Indústria Animal, Nova Odessa (SP), 2(64), 167-177, 2007.
- DUVAL F, VEGA DEC, GAMBOA IG, GARZA MTG, PONZ F, SÁNCHEZ F, GALVÁN GA, CUEVAS JEM. Detection of Autoantibodies to Vascular Endothelial Growth Factor Receptor-3 in Bile Duct Ligated Rats and Correlations with a Panel of Traditional Markers of Liver Diseases. *Disease Markers*, (2016), 1-7, 2016.
- ERNST W. Humanized mice in infectious diseases. *Comparative Immunology, Microbiology And Infectious Diseases*, (49), p.29-38, dez. 2016
- FAGUNDES DJ & TAHA MO. Modelo animal de doença: Critérios de escolha e espécies de animais de uso corrente. *Acta Cirurgica Brasileira*, 1(19), 59-65, 2004.
- FEIJÓ A, BRAGA LMG, PITREZ, PMC. Animais na pesquisa e no ensino: aspectos éticos e técnicos. *EDIPUCRS*, 1º edição, cap 2, 2010.
- FERREIRA LM, HOCHMAN B; BARBOSA MVJ. Modelos experimentais em pesquisa. *Acta Cirurgica Brasileira*, 2(20), 28-34, 2005.
- FRAJBLAT, M, AMARAL VLL, RIVERA EAB. *Ciência em animais de laboratório*. Cienc. Cult., São Paulo, 2(60), 44-46, 2008 .
- GOLDIM, JR. A Avaliação ética da investigação científica de novas drogas: a importância da caracterização adequada das fases da pesquisa. *Rev Hcpa*, 1(27), 66-73, 2007.

- INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION (IDF). What is diabetes – Facts & Figures. Belgium, 2015. Disponível em: <<https://www.idf.org/about-diabetes/what-is-diabetes.html>>. Acesso em 25 de maio de 2017.
- ITO S, YANAI M, YAMAGUCHI S, COURAUD PO, OHTSUKI S. Regulation of tight-junction integrity by insulin in an *in vitro* model of human blood-brain barrier. *Journal Of Pharmaceutical Sciences*, 1(17), 1-35, abr. 2017.
- KAWIECKI AB, MAYTON EH, DUTUZE MF, GOUPIL BA, LANGOHR IM, DEL PIERO F, CHRISTOFFERSON RC. Tissue tropisms, infection kinetics, histologic lesions, and antibody response of the MR766 strain of Zika virus in a murine model. *Virology Journal*, 1(14), 2017.
- KERIC N, BORNWASSER JM, WERKMEISTER HM, KANTELHARDT SR, KÖNIG J, KEMPSKI O, GIESE A. Optimization of catheter based rtPA thrombolysis in a novel *in vitro* clot model for intracerebral hemorrhage. *Biomed Research International*, (2017), 1-8, 2017.
- KNOP, LB & AUGUSTO MD. Métodos substitutivos e a experimentação animal: um enfoque inovador. *Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório*, São Paulo, 2(4), 101-114, 2016.
- MALTBY S, TAY HL, YANG M, FOSTER PS. Mouse models of severe asthma: Understanding the mechanisms of steroid resistance, tissue remodelling and disease exacerbation. *Respirology*. 22(5), 2017.
- MARIANO M. Minipig (minipig) na pesquisa biomédica experimental. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 5(18), 387-391, 2003.
- MIZIARA ID, MAGALHÃES ATM, SANTOS MA, GOMES EF, OLIVEIRA RA. Ética da pesquisa em modelos animais. *Braz. J. Otorhinolaryngol*. São Paulo 2(78), 128-131, 2012.
- MONTEIRO R, BRANDAU R, GOMES WJ, BRAILE DM. Tendências em experimentação animal. *Revista Brasileira de Cirurgia Cardiovascular*, 4(24), 506-513, 2009.
- OLIVEIRA EM & GOLDIM JR. Legislação de proteção animal para fins científicos e a não inclusão dos invertebrados – análise bioética. *Rev. Bioét*, Porto Alegre, 1(22), 45-56, 2014.
- PAIXÃO, RL. "Experimentação animal: razões e emoções para uma ética". 2001. 151 f. Tese de Doutorado, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, 2001.
- PEREIRA LC; SANTOS AG. Utilização de métodos alternativos à experimentação animal em pesquisa. *Revista da Sociedade Brasileira de Ciência em Animais de Laboratório*, São Paulo, 1(4), 22-31, 2016.
- PERINI, JAL, STEVANATO FB, SARGI SC, VISENTAINE JEL, DALALIO MMO, MATSHUSHITA M, SOUZA NE, VISENTAINER JV. Ácidos graxos poli-insaturados n-3 e n-6: metabolismo em mamíferos e resposta imune. *Rev. Nutr.*, Campinas, 6(23), 1075-1086, 2010.
- PIMENTA, LG & SILVA AL. Ética e experimentação animal. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 4(16), p.255-260, 2001.
- PIRES AC, CHACRA AR. A evolução da insulínoterapia no diabetes melito tipo 1. *Arq Bras Endocrinol Metab*, São Paulo, 2(52), 268-278, 2008.
- PRESGRAVE AFO, CALDEIRA C, GIMENES I, FREITAS CBRJ, NOGUEIRA STB, OLIVEIRA DEN, OLIVEIRA AG, SILVA RS; ALVES EN, PRESGRAVE RF. Métodos alternativos ao uso de animais: uma visão atual. *Ciência Veterinária nos Trópicos*, (13), 106-117, 2010.
- RAYMUNDO MM & GOLDIM JR. Ética da pesquisa em modelos animais. *Rev. Bioética*, 1(10), 2002.
- REZENDE AH; PELUZIO MCG, SABARENSE CM. Experimentação animal: ética e legislação brasileira. *Revista de Nutrição*, 2(21), 237-242, 2008.
- RODRIGUES GS, SANDERS A; FEIJÓ, AGS. Estudo exploratório acerca da utilização de métodos alternativos em substituição aos animais não humanos. *Rev. Bioét*, Porto Alegre, 2(19), 577-596, 2011.
- ROGERO SO, LUGÃO AB, IKEDA TICRUZ AS. Teste *in vitro* de citotoxicidade: estudo comparativo entre duas metodologias. *Materials Research*, 3(6), 317-320, 2003.
- SCHANAIDER A & SILVA PC. Uso de animais em cirurgia experimental. *Acta Cirúrgica Brasileira*, 4(19), 441-447, 2004.
- SCHNAIDER TB & SOUZA C. Aspectos éticos da experimentação animal. *Revista Brasileira de Anestesiologia*, 2(53), 278-285, 2003.
- SHARP LA. The Moral Lives of Laboratory Monkeys: Television and the Ethics of Care. *Culture, Medicine, And Psychiatry*, 2(41), 224-244, 2017.

Mendes, MPG & Souza, CAJ

TAVARES AM, SANTOS DM, OLIVEIRA CI, BRODSKYN CI. Estratégias de vacinação contra leishmaniose visceral e cutânea: lições dos modelos experimentais. *Gazeta Médica da Bahia*, Salvador, 3(79), 110-121, 2009.

YAOY, LAI R, AFKHAMI S, HADDADI S, ZGANIACZ A, VAHEDI F, ASHKAR AA, KAUSHIC C, JEYANATHAN M, XING Z. A novel virus-vectored respiratory mucosal vaccine enhances anti-tuberculosis immunity in a humanized model system. *J Infect Dis Jix*, 1-35 2017.

ZAGO, MA. A pesquisa clínica no Brasil. *Ciência & Saúde Coletiva*, 2(9), 363-374, 2004.

ZHENG M, ZOU C, LI M, HUANG G, GAO Y, LIU H. Folic Acid Reduces Tau Phosphorylation by Regulating PP2A Methylation in Streptozotocin-Induced Diabetic Mice. *Int. J. Mol. Sci, China*; 18(861) 1-13, 2017.