ENTENDENDO A EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL

A crítica científica ao uso de animais como modelos de pesquisa para a saúde humana

Prof. Dr. Thales de A. e Tréz
Instituto de Ciência e Tecnologia
Campus Avançado de Poços de Caldas
Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL-MG)

Outubro, 2013

Copyleft
Reprodução do conteúdo permitida, desde que citada a fonte.
Contato com o autor: thales.trez@unifal-mg.edu.br

APRESENTAÇÃO

Este material tem como principal objetivo divulgar informações importantes para a compreensão da corrente científica crítica à modelagem animal para fins de pesquisa e desenvolvimento de produtos voltados para o ser humano. Surge em um momento bastante oportuno da libertação de animais até então confinados em um instituto de pesquisa, e que está, no momento em que escrevo, suscitando uma série de reflexões das mais variadas naturezas. O material a seguir pretende esclarecer uma perspectiva científica sobre a relevância do uso de animais para fins de pesquisa. Este material é resultado de pelo menos 4 anos de pesquisa, e será, em breve, disponibilizado em livro, com uma linguagem menos acadêmica, com dados mais atualizados e cobrindo outras áreas de pesquisa mais específicas. Trata-se, portanto e por hora, uma leitura acadêmica, com informações importantes para aquel*s que queiram melhor argumentar contra o emprego de animais em pesquisas voltadas para o avanço das condições de saúde da nossa espécie. Para *s que tiverem interesse a leitura integral deste material, bem como às fontes bibliográficas, a tese encontra-se disponível para download[1].

E como educador que sou, defendo que é preciso conhecer a história da experimentação animal para que possamos compreendê-la nos tempos atuais. Por isso, o **capítulo inicial** trata justamente deste âmbito, concluindo, por fim, que esta prática é resultado de uma tradição na pesquisa científica, e que se preserva nos dias atuais a partir desta mesma força histórica. Perceberemos a "contemporaneidade do extemporâneo": o conceito de animal embutido nas práticas atuais como sendo necessariamente aquele do século XVII (quando do seu estabelecimento enquanto procedimento de pesquisa), e que não mais corresponde ao conceito de animal atualmente vigente (tanto do ponto de vista moral, quanto científico). O **segundo capítulo** aborda esta prática nos dias atuais, visando compreender o que leva grande parte da pesquisa científica a incorporar o animal como modelo de investigação, e a justificar, em uma roupagem mais contemporânea, um alegado "uso ético" – de onde o conceito dos 3Rs entra em cena, e bastante recentemente no contexto brasileiro. O **terceiro capítulo** apresenta a argumentação científica e pode ser considerada como a parte mais essencial desta obra. Pode ser uma leitura densa para pessoas mais leigas na área biológica, mas fiz o possível para que, com alguma atenção, os argumentos se façam compreensíveis. Para *s mais apressad*s, sugiro a leitura (cuidadosa!) deste capítulo, dado o volume de informações deste material como um todo.

Por se tratar de um "parto forçado", deixo as conclusões para quem ler este trabalho em sua inteireza. Em uma versão impressa ainda porvir (estou a procura de uma editora), apresentarei um fechamento mais apropriado. Por hora, e longe de esgotar o que entendo como um problema a ser urgentemente resolvido pela ciência, quero acreditar que este material lance luz sobre um tema ainda bastante caro a nossa própria humanidade.

Boa leitura!

Thales Tréz
Instituto de Ciência e Tecnologia
Universidade Federal de Alfenas

[1] **www.1rnet.org/literatura/thales_tese.pdf**, ou no sistema de busca de teses do site da Biblioteca Universitária da UFSC: **www.portalbu.ufsc.br**

Sumário

INTRODUÇÃO **4**

CAPÍTULO I

A dissecção do homem e do animal 9

Experimentando: a vivissecção 14

O uso médico do conhecimento anatômico 16

A importância da obra de Claude Bernard 17

CAPÍTULO II

Um olhar para o presente: o emprego de animais na pesquisa 20

Quais espécies e quantos animais são utilizados? 20

A indução da morte: os termos empregados 23

O legado da vivissecção 25

O uso de animais na atualidade: seu uso enquanto modelos 26

O valor preditivo do modelo 27

A escolha do modelo 28

O conceito dos 3Rs 30

O impacto dos 3Rs no Brasil 34

A lei 11.794/08 e o princípio dos 3Rs 36

Três princípios em um mesmo conceito 38

CAPÍTULO III

A complicação no desenvolvimento de novas drogas 41

A complicação do valor preditivo 45

A importância do valor preditivo 48

O recurso da predição retrospectiva 53

Sensibilidade e predição 56

Toxicologia preditiva: uma revisão sobre o Ensaio com Roedores 56

A complicação do ensaio com roedores 58

O uso de transgênicos nos ensaios com roedores 63

Um exemplo de impacto da precisão do LRB sobre as políticas de saúde humana – o programa REACH 64

Estudos de correlação e predição 65

O estudo de Olson e colaboradores 69

Críticas ao estudo 71

Aumentando a predição: animais transgênicos 71

O exemplo dos estudos sobre a doença de Alzheimer 73

Aumentando a predição: quimeras humano-animais 74

Aumentando a predição: primatas não-humanos 74

A complicação resultante das novas tecnologias e abordagens: os métodos substitutivos 76

Os métodos substitutivos e o argumento “sistêmico” 82

Outras complicações 82

INTRODUÇÃO

Situando o problema

Um fato. Cada vez mais a pratica da experimentação em animais vivos vem provocando consideráveis preocupações políticas e públicas (TAYLOR e colaboradores, 2008). É visível o posicionamento de alguns setores da sociedade civil organizada e de parte da comunidade acadêmica, que começaram, já há algum tempo, a exteriorizar suas opiniões frente aos experimentos que, por ano no Brasil, terminam com a vida de milhares de animais nas universidades e institutos de pesquisa. Para Markus (2008), o crescente debate dentro da comunidade científica é evidente inclusive em uma busca por artigos de revistas cientificas brasileiras. "O uso de animais em experimentação tem sido debatido de forma intensa" (p.24), concluiu a pesquisadora.

O contexto que vem provocando esta discussão é bastante complexo. A pressão social é um dos importantes fatores que atuam como promotores deste debate. Há um crescente envolvimento de setores da sociedade civil organizada neste tema – principalmente dos movimentos de defesa de direitos animais, que vêm se pronunciando cada vez mais contrariamente a este tipo de procedimento, através de produção de material educativo impresso, áudio-visual, sites, manifestações, etc. Não se pode negar também o impacto que a literatura (científica e não-científica) vem causando sobre a formação de opiniões em relação a esta temática. A tradução de uma série de obras, provenientes principalmente do campo da filosofia e do comportamento animal, vem trazendo ao público (inclusive acadêmico) uma série de reflexões críticas sobre a filosofia moral tradicional, denunciada como antropocêntrico-especista, bem como informações sobre a natureza subjetiva dos animais. Um trabalho de grande impacto que aborda esta temática foi o livro *Libertação Animal*, de do filósofo Peter Singer. Este livro foi publicado em 1975, e lançado no Brasil em 2004. Do mesmo autor, porém com uma abordagem mais voltada à filosofia, foi o livro *Ética Prática*, publicado em 1979, e lançado no Brasil em 1994. Uma série de outros trabalhos do campo da filosofia foi sendo traduzido ou publicado, contribuindo para uma expansão da crítica na relação dos humanos com os outros animais.

Aqui, uma consideração se faz necessária. A abordagem desta obra deliberadamente excluirá estes aportes do campo da filosofia moral, ou da ética. Para uns, isso pode ser considerado uma fragilidade do trabalho. Para outros, uma estratégia. A leitura desta obra ajudará a compreender a justificativa desta opção. Sem querer ser evasivo, penso que a temática envolve uma atuação em várias frentes, pela sua natureza complexa. A contribuição de uma visão eminentemente científica e epistemológica[2], pode oferecer uma perspectiva crítica adicional que, até o momento, inexiste na literatura brasileira. Os leitores perceberão, assim espero, que as reflexões de ordem ética estarão vivas nas entrelinhas desta obra, servindo de material para reflexão e, também espero, para futuras contribuições ao campo da ética e da filosofia moral.

Livros da área de comportamento animal também foram importantes nesse movimento de expansão de consciência. Para citar alguns que considero especialmente tocantes: Quando os elefantes choram (de Jeffrey Masson e Susan Mccarthy, publicado no Brasil em 1998); A expressão das emoções no homem e nos animais (de Charles Darwin, publicado no Brasil em 2000); A vida emocional dos animais (de Mark Bekoff, publicado no Brasil em 2010).

Outro fator, desta vez mais interno à ciência, é uma visível tendência de assimilação do conceito do 3Rs (Substituição, Redução e Refinamento) por parte da comunidade científica. Basicamente, este conceito vem sendo empregado como uma "ferramenta para aumentar a aceitação ética do trabalho científico" (BRYAN, 2010), onde se procura otimizar os experimentos com animais, através da redução do número de animais nos experimentos, da amenização ou erradicação de dor ou sofrimento infligido aos animais experimentais, e da substituição por outros métodos que não envolvam animais.

Um momento de grande importância, e que faz parte deste contexto de crescente debate, se deu com a aprovação da lei 11.794, conhecida como Lei Arouca, em 2008. A véspera de sua aprovação foi marcada por uma considerável tensão entre os que advogavam pela importância dos procedimentos e exigiam sua rápida aprovação (apresentada ao Congresso em 1995), e os que ansiavam por um maior aprofundamento do debate (e que viam a aprovação como uma legitimação dos experimentos com animais). Até então, não havia regulamentação

[2] A abordagem epistemológica está presente na íntegra da tese de doutorado, e foi aqui eliminada por motivos de recorte.

específica para as práticas didático-científicas com animais. Este contexto levou inclusive a situações onde municípios aprovaram leis que proibiam a experimentação animal em cidades como Rio de Janeiro e Florianópolis, respectivamente em 2006 e 2007. No caso do Rio de Janeiro, o projeto de lei 325/2005 foi vetado integralmente pelo prefeito, e a repercussão da lei na grande mídia foi considerável. A lei 7.486/2007, promulgada pela Câmara Municipal de Florianópolis, proibiu "o uso de animais em práticas experimentais que provoquem sofrimento físico ou psicológico", seja para fins de ensino ou pesquisa. A lei não chegou a entrar em vigor, mas também provocou alguns setores da comunidade científica. Marcel Frajblat, presidente do então "Colégio Brasileiro de Experimentação Animal" (COBEA), disse à Folha de São Paulo que acredita que este evento possa "ajudar a pressionar os deputados federais a votarem a Lei Arouca, que regulamenta as pesquisas com animais no país". Segundo o próprio pesquisador: "Enquanto existir esse vácuo federal haverá espaço para esses absurdos" (GIRARDI, 2007).

Frente a estes dois episódios, e a este "vácuo federal", parte da comunidade acadêmica reagiu. Conseguiram mobilizar uma bancada de deputados federais para pressionar pela aprovação da lei Arouca. No Rio de Janeiro,

> os pesquisadores também decidiram partir para a desobediência e ignorar a lei. "Continuaremos trabalhando com animais de laboratório, cujos protocolos foram aprovados pelos comitês de ética, e com animais das instituições de pesquisa", diz Marcelo Morales, presidente da Sociedade Brasileira de Biofísica (SBBf) e professor da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), um dos líderes da reação dos cientistas (MARQUES, 2008).

A partir da aprovação da Lei 11.794, em 2008, os pesquisadores já não poderiam mais ser ameaçados por eventuais leis municipais que proíbam a experimentação animal (CALDAS, 2009). De toda forma, uma série de opiniões, principalmente por parte da comunidade científica, veio à tona nos episódios do Rio de Janeiro e Florianópolis, e que em grande parte motivaram esta obra.

O uso de animais na pesquisa e o "argumento da necessidade"

De forma geral, no Brasil e no mundo parece haver uma postura favorável e possivelmente hegemônica da comunidade científica em relação ao emprego do modelo animal em atividades de pesquisa, sustentado no Brasil por um discurso cristalizado e quase uníssono. Acredita-se que o modelo animal é um "reagente" biológico capaz de predizer, com considerável confiança, os efeitos de determinadas substâncias ou intervenções quando então aplicados em seres humanos. Esta confiança é aumentada com as manipulações genéticas, que fazem o modelo animal supostamente ainda mais fiel ao que se espera de uma resposta do organismo humano. Hoje existem modelos animais apropriados para cada tipo de experimento, o que possibilita ainda mais a universalização dos procedimentos de pesquisa em animais (ANDRADE e colaboradores, 2002).

Esse movimento de harmonização (que visa estabelecer padrões cada vez mais universalizáveis de metodologias de pesquisa) em relação ao uso de animais na pesquisa parece ser acompanhado de um discurso cada vez mais enfático em relação ao método em questão, como observamos em Markus (2008, p.24), ao afirmar que "a importância da experimentação animal para o avanço de conhecimento é inegável". De fato, termos como "inegável", "imprescindível", "fundamental", "indiscutível" e "necessário" são comumente encontrados nas defesas e justificativas para a experimentação animal – muito provavelmente em resposta à crescente polemização e problematização destes procedimentos, mencionado anteriormente.

A pesquisa com animais é considerada por muitos autores como sendo não somente fundamental para a ciência, como também a principal responsável pelos avanços na saúde humana e animal (PETROIANU, 1996; ANDRADE e colaboradores, 2002; GUERRA, 2004; MARQUES e colaboradores, 2005; LIMA, 2008b; MORALES, 2008; D'ACÂMPORA e colaboradores, 2009). Segundo Marques e colaboradores (2009, p.70) "praticamente todo avanço na medicina humana e veterinária foi obtido através da pesquisa com animais". Também Rezende e colaboradores (2008, p.241) salientam que "os benefícios alcançados com a utilização de animais em pesquisa são inegáveis" e

“em grande parte os resultados da experimentação animal justificam a sua utilização em pesquisa” (p.238). Em um artigo publicado na Folha de São Paulo (2007), o então presidente da *Federação das Sociedades de Biologia Experimental (FESBE), Luiz Eugênio Mello, antes de concluir que o uso de animais na ciência é absolutamente necessário, faz a seguinte comparação:*

> *O uso de animais é tão básico para a ciência como é respirar para qualquer um de nós. Para explicar de outra forma, a interrupção da experimentação animal representaria a morte de parte importante da ciência, do ser humano e do planeta (Folha de São Paulo, 2007, grifo meu).*

Morales, considerando “muito difícil, quase impossível” abandonar o uso de animais na pesquisa (G1, 2010), indaga ainda em outro artigo:

> Até que ponto a sociedade está disposta a abrir mão do uso de animais em pesquisa com o risco de bloquear o avanço do conhecimento biológico, testes e desenvolvimento de novos medicamentos, vacinas e métodos cirúrgicos? (MORALES, 2008, p.33)

Da mesma forma, Guerra (2004), ao considerar implicitamente a *pesquisa com animais* como sinônimo de *atividade científica*, afirma que estas foram responsáveis pelas vacinas, antibióticos, conhecimento cirúrgico, etc., e estão associadas a descobertas de grande impacto social e aumento da longevidade dos seres humanos. Lima (2008) concorda:

> A consequência *imediata* do progresso determinado pelo uso de animais na ciência é atestada pelo aumento, no século XX, de aproximadamente 23,5 anos na expectativa de vida das populações. (p. 26, grifo meu)

Esta é também a opinião de Renato Sérgio Balão Cordeiro, então pesquisador titular da Fundação Oswaldo Cruz e coordenador do Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), que afirmou no jornal Correio Braziliense, sob o título “Heróis ou vítimas?”:

> Se os dados do IBGE mostram que a expectativa de vida do brasileiro em 2010 está se aproximando dos 73 anos, eu não teria dúvidas em afirmar que um dos fatores fundamentais para chegarmos a esse ponto foi a utilização de animais em avanços fundamentais da ciência biomédica (CORDEIRO, 2010, p.20).

O discurso contra o uso de animais é também visto ainda como um discurso *anti-científico* (ver PETROIANU, 1996). Guerra (2004), em relação aos leigos com compreensão precária sobre o avanço científico e a importância da ciência, afirma:

> A rejeição aos procedimentos da pesquisa científica não revela apenas amor aos animais, mas também uma aversão ao conhecimento científico (cientofobia) ou ao progresso tecnológico (tecnofobia) (p. 99)

As legislações que ameacem as práticas experimentais com animais são percebidas como prejudiciais ou impeditivas do avanço científico e tecnológico (SCHNAIDER & SOUZA, 2003). Alguns comentários provenientes de parte da comunidade científica e que vieram à tona em função dos episódios do Rio de Janeiro e Florianópolis (comentados anteriormente), sugerem esta ideia. Marcel Frajblat, anteriormente citado, sobre o episódio em Florianópolis, afirmou que a sociedade ainda não percebe a importância e os benefícios dos experimentos com animais (GIRARDI, 2007). Declaração similar foi feita por João Bosco Pesquero, professor da Unifesp, sobre o episódio no Rio de Janeiro:

> As pessoas se posicionam contra o uso de animais em pesquisas sem perceber que isso é fundamental para o desenvolvimento dos remédios que elas compram nas farmácias e que permitiu avanços que aumentaram a expectativa de vida da humanidade (MARQUES, 2008).

A FioCruz/INCQs[3] se manifestou diante da situação no Rio de Janeiro com uma carta dirigida à população, com o apoio da UFRJ e outras instituições de pesquisa. Alguns trechos podem ser destacados:

> (...) todos os esforços para descobrir vacinas para o dengue, a Aids, a malária, as leishmaniose e mais uma série de pesquisas que visam controlar outras doenças seriam jogados literalmente no lixo.
> (...) vacinas e medicamentos que já beneficiam milhões de pessoas primeiro precisam ser testados em animais antes de ser aplicadas em seres humanos.
> (...) Graças à utilização dos animais, descobertas fundamentais para a humanidade foram realizadas, milhões de mortes foram evitadas, seja no campo da hipertensão arterial, no câncer, nas patologias cerebrais (doenças de Parkinson e Alzheimer, retardamento mental), doenças parasitárias e infecciosas, na descoberta de novas vacinas (pólio, sarampo, difteria, tétano, hepatite, febre amarela, meningite), na descoberta de novos medicamentos, antibióticos, antivirais, remédios para o controle da dor e da asma, para o tratamento da ansiedade e distúrbios do sono, antiinflamatórios e analgésicos, sedativos, antidepressivos, diuréticos, hormônios anticoncepcionais, quimioterápicos, antiúlceras, antidiabéticos (insulina).
> (...) Apesar de o uso de animais ser ainda indispensável em algumas pesquisas, eles vêm progressivamente sendo substituídos por métodos alternativos. Outra informação relevante: em quase 80% dos experimentos usam-se camundongos nas pesquisas, e não cães, gatos, coelhos, cavalos, como erroneamente está sendo levado à opinião pública.
> (...) Consciente que a população carioca não aprovaria uma lei que prejudicasse a saúde dos seus filhos e da população em geral, é que a comunidade científica do Rio de Janeiro vem a público pedir o apoio da sociedade diante de uma situação que pode afetar negativamente a vida de milhões de pessoas (Jornal da Ciência, 2006).

Há inclusive um apelo para que a comunidade científica instrua a população dos benefícios oriundos dos experimentos com animais. Colli e Alves (2006) escrevem:

> Até há pouco tempo o cientista era visto como um benfeitor da humanidade. No entanto, no presente, ele é muitas vezes apontado como um profissional frio e calculista, sem sentimentos. Grupos que assim pensam estão equivocados, já que nenhum cientista, em sã consciência, teria prazer em maltratar animais. (...) É necessário que os cientistas, através de suas instituições representativas, como as sociedades científicas e as academias de ciências, *promovam campanhas de esclarecimento, divulgando a ciência e seus métodos*, para não perder o apoio da opinião pública para uma *atividade essencial ao progresso* e que, como tal, *deve ter o reconhecimento da sociedade* (p.29, grifo meu)

Em 2008, um convênio entre algumas entidades científicas, o Ministério da Ciência e Tecnologia (MCT) e o Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) criaram uma campanha publicitária tentando convencer a opinião pública da importância desses estudos. No vídeo principal da campanha[4], o narrador comenta:

> Existe uma estrada por onde todos vamos passar, e que segue sempre no mesmo sentido. Lutamos para ir adiante e não sermos interrompidos por falta de avanços científicos. Hoje, quase todos os medicamentos, vacinas e procedimentos da área da saúde são resultados de pesquisas com animais de laboratório. Tratar estes animais com ética e dignidade, além de ser correto, agora também é lei. A pesquisa científica segue novos rumos para que vidas não parem no meio do caminho. (transcrito)

No vídeo, pessoas aparecem caminhando em frente à câmera, cada uma acompanhada de textos como “eu superei o câncer”, “nós temos mais expectativa de vida”, “eu estou protegido pelas vacinas”, “eu ganhei com os

[3] Fundação Oswaldo Cruz / Instituto Nacional de Controle e Qualidade em Saúde
[4] Vídeo disponível no link http://www.eticanapesquisa.org.br/tvonline

avanços da cirurgia", enquanto outras pessoas aparecem paradas no caminho, simbolizando as pessoas que morreram em função da falta de tratamento adequado (figura 1). A propaganda tem basicamente dois motes: o de que "quase todos os medicamentos e vacinas são resultado de pesquisas com animais de laboratório", salvando muitas vidas, e que a lei 11.794 garante "ética e dignidade" no tratamento com os animais. O vídeo foi integralmente custeado com financiamento público, e estimado em cerca de R$ 1 milhão de reais (MIOTO, 2010). Segundo o pesquisador Marcelo Morales, um dos responsáveis pela campanha, o público "não tem noção" da importância dos experimentos com animais. Ele continua: "Muitos não sabem que, sem os animais, medicamentos contra diabetes e o coquetel anti-Aids, por exemplo, não seriam possíveis".

> O Brasil já é o 13º país do mundo em produção científica, especialmente na área médica, por isso a necessidade de uma campanha que esclareça ao cidadão comum que a maioria dos tratamentos só é possível graças a esse tipo de pesquisa [com animais] (CORREIO BRAZILIENSE, 2010, p.20)

Figura 1. Campanha do CNPq e do Ministério da Ciência e Tecnologia divulgando uma visão positiva dos experimentos com animais[5].

[5] Fonte: http://www.portaldosfarmacos.ccs.ufrj.br/imagens/animais/foto1.jpg

CAPÍTULO I

Um olhar para o passado: os animais na construção do conhecimento médico-anatômico humano

A opção teórico-epistemológica apresentada no capítulo anterior exige um olhar histórico em relação ao processo de construção do conhecimento, tendo aqui como foco o papel dos animais neste processo. A principal fonte histórica utilizada neste capítulo é o livro *Dissection and Vivisection in the European Renaissance* (1999), publicado por Roger French (professor de História da Medicina, do Departamento de História e Filosofia da Ciência *da* Universidade de Cambridge). Outras obras que tratam da história do conhecimento médico e anatômico - como *Vivisection in historical perspective*, de Nicolaas Rupke (1987); *História da medicina*, de Jean-Charles Sournia (1992) ou *Curso de História da Medicina – das origens aos fins do século XVI*, de Armando Tavares de Sousa (1996) - não oferecem a devida ênfase na relação entre o uso de cadáveres animais e humanos como em French. Nesta obra bastante completa e detalhada, o desenvolvimento do conhecimento sobre o corpo humano é explorado considerando-se o contexto social, intelectual e religioso da época. O autor afirma que a utilização de animais, ou de criminosos condenados, inicialmente não teve nenhuma relevância médica direta, sendo atribuída a crenças sobre o corpo e a alma, à natureza compartimentada da vida intelectual e acadêmica da época, e pressões de ordem econômica, como veremos no decorrer do presente capítulo. Assim, o recorte desta análise se dará principalmente no período e local da Europa renascentista.

É certo que animais eram utilizados muito antes em estudos diversos e em diferentes países, mas o contexto europeu da transição da Idade Média para a Idade Moderna foi marcante na apropriação e re-significação do lugar que o animal ocupou nos estudos de importantes anatomistas e fisiólogos, de onde a instituição científica do modelo animal foi afirmada substancialmente em produções clássicas e balizadoras do que se entende até hoje por experimentação animal. Uma justificativa para este recorte é também o fato de que outras tradições históricas do conhecimento médico diferiam substancialmente da perspectiva européia: a medicina árabe era apenas teórica (os árabes não dissecavam e não desenhavam o corpo humano), e a medicina na China e Índia não tinha por base a anatomia. Porém,

> Longe de ser uma evolução natural da medicina, os anatomistas medievais do ocidente iniciaram a construção de uma grande quantidade de conhecimento anatômico que não tinha uso direto na prática da medicina ou cirurgia (FRENCH, p.1)

A dissecção do homem e do animal

O expandir da cultura européia, ao final do século XV, para as Américas e outras partes do mundo, levou uma medicina cuja base era a anatomia, e uma anatomia fundamentada na dissecção. Esta cultura tinha características que tornaram tais práticas possíveis, o que possibilitou transcender de alguma forma muitos tabus sobre o corpo humano, desde a época renascentista. O corpo humano era tratado diferentemente neste continente. Segundo French, assim também era o animal, que serviu de "material para a vivissecção[6] experimental e demonstrações do século XV até o presente" (p.1).

A motivação original por trás do uso de animais no contexto renascentista foi simplesmente o conhecimento pelo conhecimento, segundo French. Os homens antes do século XVII "raramente paravam para considerar se estavam eticamente justificados em experimentar em animais" (p.2). Do ponto de vista religioso predominante, a Igreja inicialmente não objetava a mutilação de corpos humanos - ao final do período, no entanto, utilizou argumentos moralizantes alegando que tais procedimentos prejudicavam a integridade moral dos praticantes. Por outro lado, o argumento bíblico de que Deus deu ao homem domínio sobre os animais era a resposta a qualquer tipo de objeção que pudesse surgir em relação ao uso de animais para dissecção. A influência da filosofia era determinante nesta motivação. O ensinamento de Platão em relação à alma, como componente

[6] Termo de origem latina (vivus + sectio), que significa, literalmente, "cortar vivo". No período Renascentista, o termo empregado (e equivalente) era *viva sectio* (RUPKE, 1987).

importante do ser humano (e ausente nos animais), e ao corpo enquanto simples matéria (morada) da alma, favoreceu tais procedimentos. Aristóteles, cujos textos sobre animais se tornaram disponíveis durante o século XIII, também favoreceu os procedimentos experimentais com animais. O famoso médico grego Cláudio Galeno (129-200), que subsidiou muito da compreensão européia do corpo humano, foi bastante influenciado pela filosofia aristotélica. Sob influência religiosa da época, o anatomista francês Guy de Chauliac (1300-1368), por exemplo, alegava que o conhecimento anatômico reverenciava a Deus.

Assim, entre os séculos XII e XVI, a dissecção de animais para finalidades de ensino era rotina. Podemos dizer que a sistematização da dissecação de animais para finalidades de ensino teve seu epicentro na Itália, na escola médica de Salerno, no século XII – ainda que esta escola não tivesse a formalidade de estudos que se instaurava nos fins do século XII e começo do século XIII. O que se sabe é que porcos eram utilizados rotineiramente para o ensino de anatomia interna, pela sua alegada semelhança com o homem.

Um dos mais antigos manuscritos produzidos em Salerno é intitulado *Anatomia Porci*, escrito por volta de 1150. Uma versão ampliada deste manuscrito surgiu em 1650, por vezes atribuído à Galeno, e conhecida como *Anatomia Parva*, onde podemos identificar um dos primeiros registros que apontam para a idéia de extrapolação de informações entre espécies distintas:

> Uma vez que a estrutura interna do corpo humano era quase totalmente desconhecida, os médicos antigos, e especialmente Galeno, comprometeram-se a mostrar as posições internas dos órgãos através da dissecção de brutos. Embora alguns animais, como macacos, são parecidos conosco em sua forma externa, não há nenhum tão como nós parecido internamente como o porco, razão pela qual conduziremos uma anatomia sobre este animal (Anatomia Parva, *apud* FRENCH, p.15).

De forma geral, os manuscritos de Salerno sugerem que a anatomia estudada ali era baseada em porcos, provável herança do legado de Galeno (figura 2). Tal embasamento contribuiu a criar uma imagem do que seria o esperado para o corpo humano, ou em outras palavras, o que seria o "normal". Esta referência era importante para os estudos *post-mortem*. Apesar de não existirem muitos registros, no século XII e XIII, de exames desta natureza, o conhecimento que os médicos no século XIII tinham por "normal" era praticamente da anatomia animal. Segundo French, "nada era melhor para o ensino de anatomia humana que a dissecção de cadáveres humanos", e as necessidades que surgiam do contexto social (como a identificação da *causa mortis*) foram fundamentais para tais práticas se estabelecerem formal e curricularmente.

Figura 2. Galeno em uma performance pública de vivissecção de um porco[7].

A influência das clássicas obras de Galeno, como dito anteriormente, se deu por séculos na história, numa tradição que procurou sempre reverenciar os seus clássicos. Para Sharpe (1988), o estilo dogmático de Galeno, juntamente com a relutância da igreja em permitir a dissecação de cadáveres humanos, foram os principais fatores que preservaram os equívocos de Galeno por tanto tempo, e considera o pré-Renascimento como um período de

[7]Fonte da imagem: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/c/c9/Galen-Pig-Vivisection.jpg

estagnação no estudo da anatomia humana. Galeno foi uma autoridade em dois sentidos: "primeiro, em fornecer a autoridade técnica de que o experimento demonstrará o fato em questão e, segundo, prover uma autoridade moral ao fazê-lo" (FRENCH, 1999, p.111). Uma de suas obras, *De Sectis*, onde analisa as seitas médicas de seu tempo, oferece a justificativa dos chamados *empiricistas* para o uso de animais: queriam "fazer uma anatomia" de macacos e ursos, pela sua alegada similaridade com os humanos, e porque evitava-se, assim, o uso de humanos.

O próprio Galeno, que não era um *empiricista*, mas um *racionalista* e hipocrático, discutiu o princípio da extrapolação de animais para humanos, e em sua obra *De Usu Partium* omitiu o fato de que o uso de cadáveres humanos foi mínimo. De acordo com French, "quase que certamente toda anatomia de Galeno, exceto as estruturas superficiais, foi obtida de animais e dos escritos de outros" (p.38). Por ter se utilizado de animais em suas descrições anatômicas, causou sérios problemas a muitos anatomistas que ensinavam a anatomia galênica, mas que se utilizavam de material humano. Um dos exemplos é a descrição da *rete mirabili*, um complexo de veias e artérias muito próximos encontrada na base do cérebro de alguns vertebrados, mas que não existe no ser humano. A identificação de um espaço vazio (ou cavidade) do nervo ótico perdurou também por séculos. A lista de estruturas encontradas em animais e não em humanos é enorme, e foi severamente criticada pelo anatomista belga Andreas Vesalius, como veremos adiante.

A introdução e justificativa de um novo procedimento foram marca do anatomista Mondino de Luzzi (1270-1326), que foi o primeiro a comprometer-se com a dissecção de cadáveres humanos para finalidades de ensino. Apesar de introdutoriamente fazer referência a Galeno, sua obra *Anathomia corporis humani* é praticamente um manual de dissecção humana. Sua anatomia considera o todo humano como diferente do animal "na forma e posição dos órgãos, em comportamento e nas artes, e na natureza de algumas das partes" (p.40). Podemos afirmar que Mondino marcou o estabelecimento da anatomia como disciplina, com seus próprios limites e conhecimento profissional característico.

O século XIV estabeleceu a dissecção humana de forma regular, mas colocou o desafio de tratar de forma diferenciada a nomenclatura e descrição do conhecimento anatômico até então obtido indiscriminadamente de animais e humanos. Esta constante "agregação" de informações[8], proveniente da crença de um progresso cumulativo de conhecimento e que oferecia uma boa reputação para quem o dominasse, passou a se tornar confuso, especialmente no que diz respeito à terminologia. Mas ainda assim o uso de animais, mais tarde considerado como responsável por tanta confusão, ainda era comum, mesmo com a alta oferta de cadáveres humanos - na época, basicamente prisioneiros mortos por condenação ou então retirados ilegalmente dos cemitérios, como fazia Vesalius (GODDARD, 2003).

A prática com animais era justificada e defendida de várias maneiras, ainda que contraditórias. Apesar dos anatomistas reconhecerem de forma geral que a própria humanidade os prevenia de viviseccionar seres humanos, reconheciam que a vivissecção de seres humanos teria sido o melhor caminho a ser seguido. Mas nenhum anatomista antes do século XVII estendeu a sensação de pertencimento ao grupo dos animais, ao qual o homem pertencia:

> Na ausência da vivissecção humana, os anatomistas prontamente se voltaram a vivissecção de animais para seus estudos de função e eles eram também acostumados a dissecar animais para estudos morfológicos quando o material humano estava escasso. Ambas as ações fundamentavam-se na crença de que animais eram, em algum respeito, um adequado substituto do corpo humano, de que, em um certo sentido significativo, animais e homens *pertenciam* ao mesmo grupo: o homem era um animal (p.122)

Esta noção, de certa forma, antecipa a importante noção biológica de *analogia* (cuja definição e estabelecimento será visto no próximo capítulo) e apresenta dois importantes precedentes: a consideração do

[8] Alguns editores quase faliam com as impressões de obras comentadas, como o extenso comentário do anatomista italiano Gentile da Foligno (?-1348) sobre o *Cânon,* de Avicena (FRENCH, 1999).

homem como animal racional em Aristóteles, e a lista de Galeno sobre as espécies animais fisicamente similares aos humanos. Os médicos renascentistas aceitavam que o homem era um animal, e racionalizaram os corpos de forma a aproximá-los do ponto de vista morfológico e fisiológico. Mas essa aproximação possui, claro, limites: *na* natureza eram animais, mas *por* natureza eram diferentes. Outro limite foi de ordem teológica: Deus faz o homem diferente, pelo dom divino da razão. Assim, o anatomista tinha que explicar qual relação precisa havia entre o homem e os animais, e como a dissecção e a vivissecção entravam nesta relação. Assim, dissecar o corpo humano era principalmente uma performance religiosa. "Os detalhes físicos [do corpo humano] deveriam ser necessários em uma teologia sistemática lidando principalmente com a natureza de Deus e a relação do homem com Ele" (p. 131).

A justificativa teórica era Aristotélica na discussão sobre a natureza da alma. Nas *faculdades* da alma, homens e animais eram aproximados: ambos possuíam sistema digestório, produziam sangue, inspiravam ar, etc.. Num nível inferior, possuíam intestinos, estômagos, fígado, baço, etc.. Ficava claro que, neste nível pelo menos, a "dissecção e a vivissecção de órgãos das faculdades inferiores da alma revelariam o mesmo, seja nos homens ou animais" (p.124). Um mesmo argumento era aplicado a partes similares ou homogêneas: gordura era gordura em homens ou cães. Mas fica a questão: se a similaridade entre homens e animais, nestes níveis, era tão completa, porque a dissecção de humanos era tão necessária? À parte dos efeitos práticos e profissionais da importância da dissecção humana para os médicos, outros argumentos eram acessados: a natureza divina do corpo humano, que era tido como uma medida para outros animais pela sua alegada perfeição. Galeno era conhecido por ridicularizar o macaco, animal que utilizou como modelo para a anatomia humana. Considerava o macaco como "uma criatura ridícula, uma imperfeita e hilária imitação do homem". Seja como for, o anatomista do período renascentista se colocava de forma superior *em relação* aos animais, dentro da premissa de que o homem era *único*.

Dois importantes anatomistas do século XV, Gabriele de Zerbi (1445-1505) e Berengario de Carpi (1460–1530) acreditavam que a *natureza especial do corpo humano*[9] e de como este se distinguia dos animais era motivo de estudos extensivos, justificando o trabalho com cadáveres humanos. O apelo fazia jus à autoridade do anatomista e à filosofia cristã da época.

No século XV, especialmente após a queda de Constantinopla, quando muitos gregos passaram a morar na Itália, a reverência a Galeno passou a ser mais forte, e passou a se constituir o programa Helenista, que provocava a cultura crítica que se estabelecia em relação aos anatomistas clássicos. Atacar Galeno, mais do que nunca, passou a ser cada vez mais difícil.

Andreas Vesalius (1514-64), considerado o "pai da anatomia moderna", mudou a natureza da anatomia ao mostrar que Galeno se enganou ao dissecar macacos ao invés de humanos. Podemos afirmar que este anatomista se motivou em destruir o conhecimento herdado de Galeno: "Vesalius realizou estudos comparativos tendo como um dos objetivos mostrar que os escritos anatômicos de Galeno descreviam estruturas de animais e não do ser humano" (DELIZOICOV e colaboradores, 2004, p.450). Ele não apenas considerou o conhecimento anatômico de Galeno como equivocado, como também afirmou que este nunca havia dissecado um ser humano. Sua obra *De Humani Corporis Fabrica* tratou de se aprofundar no conhecimento anatômico à luz da dissecção de cadáveres humanos e, mais do que um tratado, a obra continha uma mensagem que, para a época, era bastante perturbadora: quebrar a tradição médica não apenas ao questionar a segunda maior autoridade na medicina, como também a fé depositada no professor em sala de aula. Esta tradição era dominante no ambiente de ensino, de onde o professor assegurava a obediência e fé de seus pupilos: "era na sala de aula, contudo, que o professor esperava de seus pupilos obediência e que aderissem a uma 'fé' médica que construiu uma tradição médica desde Hipócrates" (p.135).

> Antes de Vesalius, o trabalho mecânico de dissecar, realizado em grandes auditórios pelos "demonstradores" ou "barbeiros", tinha a finalidade de auxiliar os "expositores"

[9] Relacionada a três características principais: a postura ereta, a inteligência e as mãos.

> a inculcar nos estudantes as verdades encerradas nas obras de Galeno (DELIZOICOV e colaboradores, 2004, p.450).

As demonstrações foram perdendo espaço para o crescente papel das ilustrações, que começaram a surgir mais fortemente nesta época. A própria obra de Vesalius impressiona não apenas pelo detalhamento garantido pelas indicações, legendas e referências cruzadas com o texto, como pela concepção artística empregada (FRENCH, 1999). A noção de perspectiva foi fundamental neste aspecto, o que passou a garantir autoridade às ilustrações. No século XVI artistas começavam a demonstrar mais interesse nas incursões sobre o corpo. Leonardo da Vinci (1452-1519), por exemplo, realizou pelo menos 30 dissecções de cadáveres humanos. "Mas, como os anatomistas acadêmicos, ele também utilizava material animal e incorporou alguma coisa do que ele sabia dos livros clássicos, particularmente *De Usu Partium*, de Galeno" (p. 101). Na capa do livro de Vesalius, além de se perceber o caráter de espetáculo das dissecções, o corpo humano é o foco da incursão anatômica representada (figura 3).

Figura 3. Detalhe da capa da obra *De Fabrica*, de Vesalius[10].

Houve, naturalmente, uma reação à crítica de Vesalius. Todas praticamente voltadas à sua postura de ingratidão para com os antigos, e sua quebra de tradição. Na Idade Média, as discussões teóricas sobre a educação "enfatizavam o dever do estudante em sua fidelidade às doutrinas do professor". A tradição hipocrática ainda dava a este processo um tom parcialmente religioso, ao considerar o estudante como entrando em uma fraternidade. O contexto da tradição médica no Renascimento era Galênico-Hipocrático, fortemente racionalista e, agora, ameaçado pelos empiricistas.

Loys Vassé, três anos antes da publicação da obra de Vesalius, afirmou que aqueles que questionam ou negam seus professores "demonstram grande sinal de impiedade e uma alma ingrata" (FRENCH, 1999, p.177). O próprio Vesalius sabia da natureza "herética" das críticas que se dirigiam ao trabalho de Galeno. Ainda que tenha sido alvo de muitas críticas, Vesalius não foi o primeiro a se pronunciar contra os ensinamentos de Galeno. Cerca de 20 anos antes da publicação de sua obra, o médico suíço Paracelso (1490-1541) chocou seus colegas ao queimar os trabalhos de Galeno em público, afirmando que eram baseados em mentiras, e criticava seus colegas que seguiam a doutrina Galênica, pois atuavam como "professores da mentira" (SHARPE, 1988, p.147). Mas a repercussão de Vesalius foi maior, talvez por pertencer ao meio dos anatomistas. Um importante anatomista francês da época, Jacobus Sylvius (1478-1555), disse, ao perceber a disseminação da obra de Vesalius entre alemães, franceses e italianos:

> Eu imploro a majestade de César para que suprima este monstro da ignorância, ingratidão e arrogância, este mais pernicioso exemplar de impiedade, para que seu suspiro venenoso não infecte o resto da Europa (FRENCH, 1999, p. 179).

[10] Fonte da imagem: http://upload.wikimedia.org/wikipedia/commons/1/11/Vesalius_Fabrica_fronticepiece_detail.jpg

Este anatomista afirmava que Galeno não estava errado: na época em que ele realizava suas dissecções, o corpo humano era outro, mais perfeito. Essa crença em um processo natural de degeneração do corpo humano era comum na época, associada aos ensinamentos da igreja, pelos quais o mundo tinha apenas alguns milhares de anos e que chegaria ao fim muito em breve. As novas ilustrações que surgiam do corpo humano também eram criticadas à luz (ou à sombra) desta perspectiva: era inútil veicular representações do corpo humano degenerado. Essa degeneração foi inclusive sistematizada anatomicamente na obra de Sylvius, e compartilhada por muitos anatomistas da época.

Outros anatomistas, como Bartolomeu Eustáquio (1520-74), acusavam Vesalius de exagero. Galeno havia dissecado animais não-humanos como base para anatomia humana, mas nunca havia omitido tal fato. E ainda, que o próprio Vesalius se baseou em animais não-humanos ao estudar olhos, língua, laringe e rins. Gabrielle Falópio (1523–62), e Realdo Colombo (1515–59), seguidores de Vesalius, reconheceram erros desta natureza na sua obra. Vesalius também era conhecido por suas vivissecções, sendo o cão seu animal preferido: "Ele recomendava que após treinar em animais mortos, estudantes deveriam proceder para animais vivos, de forma a investigar a ação e o uso das partes. (...) Ele recomendava em particular o procedimento em uma porca ou cadela grávida" (MARSHALL, 1992, p.170). Na figura abaixo temos a ilustração de duas letras iniciais de sua obra "De Fabrica", onde pequenas figuras humanas (*putti*) puxam um cão pelas cordas, afim de abatê-lo para as práticas de dissecção.

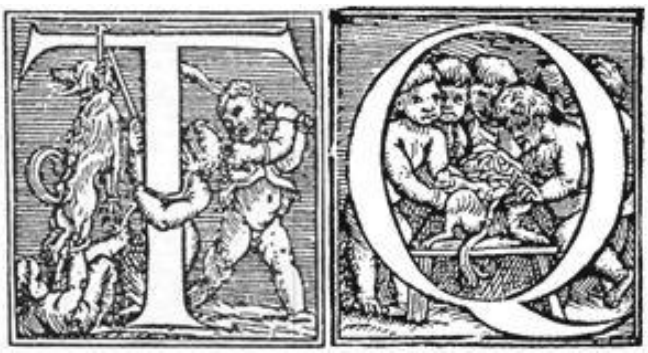

Figura 4. Imagens da obra *De Fabrica*, de Vesalius[11].

Independentemente destas considerações, o papel de Vesalius em ventilar a anatomia foi crucial. Isso de certa forma incitou um espírito de competitividade entre os anatomistas da época: Colombo proclamou ser o primeiro anatomista a descrever o olho baseado inteiramente em material humano (Galeno e Vesalius descreveram a musculatura ocular encontrada apenas em animais não-humanos), e Falópio o primeiro a descrever o terceiro ossículo auditivo. Isso passou a dar uma nova autoridade aos anatomistas, que se desvencilhavam do apelo à autoridade antiga. Os textos e publicações passaram a raramente fazer referência aos autores clássicos, buscando fundamento em autores contemporâneos. Outra mudança paralela foi o surgimento das especialidades em certas áreas do corpo, e das pesquisas (FRENCH, 1999), como será visto a seguir.

Experimentando: a vivissecção

Nos estudos em anatomia, o termo *pesquisa* ainda pode ser considerado anacrônico no século XVI. A vivissecção ganhou seu lugar a partir deste século, e era aplicada em três grandes áreas: movimento do coração, respiração e a formação do embrião.

Suspeita-se que os alexandrinos Heróphilus e Erasistratus realizavam vivissecção em humanos, mas há pouca evidência que isso tenha acontecido de fato. Para este fim, os cães eram os animais preferidos no período renascentista, substituindo os porcos de Salerno e os macacos nos trabalhos antigos. Ainda que, muito embora

[11] Fonte das imagens: http://www.flickr.com/photos/bookhistorian/4154494982 (letra T) e http://www.fromoldbooks.org/Vesalius-Fabrica/pages/650-detail-initial-letter-q/650-detail-initial-letter-q-q97-325x350.jpg (Letra Q)

numa tradição ainda Galênica, os anatomistas nesta época compreendiam a dissecção como uma preparação para a vivissecção, e que esta representava o funcionamento do corpo humano, a concepção de Vesalius era mais moderna, pois envolvia "o médico em atividades manuais e intelectuais em áreas como farmacologia e anatomia" (FRENCH, p.198).

Um dos grandes vivisseccionistas da época era Realdo Colombo. Suas preparações experimentais eram espetáculos nos quais ele costumava convidar ilustres personalidades ou autoridades da época. Em uma de suas reconstruções de um experimento com uma cadela prenhe, ele diz teatralmente:

> Vocês verão os fetos e suas membranas, o córion, alantóide e âmnio contendo suor e urina. Verão que Vesalius estava errado em atribuir membranas caninas às mulheres. Verão quão belo o feto se posiciona no útero, com suas patas formando uma cruz. E suplicação ao Deus onipotente com respeito à sua criação, rezar para que os fetos venham à luz. Verão algo que não acreditariam: a mãe, morrendo por causa do corte no útero, mostra mais solicitude aos seus filhotes do que por si própria. Ela uiva se você machuca um dos seus filhotes, mas é silenciosa e os lambe com grande piedade se os leva à sua boca (FRENCH, 1999, p. 204).

Colombo se preocupava em fazer das demonstrações experimentais um ato de revelar a beleza da natureza, provocando surpresa e admiração. Segundo ele, macacos, ursos e leões eram parecidos internamente com o homem, mas ficam raivosos quando cortados, e porcos, além de terem muita gordura, eram muito barulhentos. Assim, o cão era seu animal experimental que, segundo ele, era feliz em poder oferecer um espetáculo de coisas bonitas. A justificativa encontrada por Colombo à época era de que a vivissecção, assim como a dissecção, "revelava a sabedoria de Deus e gerava admiração por Ele" (FRENCH, 1999, p.210).

No período, a Reforma teve impacto na maneira como se percebia a natureza, e consequentemente, na forma de conceber a anatomia. Uma visão mais cristã se apresentava ao se referir ao corpo humano como templo de Deus, com um forte apelo racionalista. A anatomia na época da Reforma passou a assumir fortemente este novo discurso. A necessidade passou a ser a de investigar e descobrir as "causas, ações, poderes, faculdades e formas de tudo que é nascido no ar, terra ou água" (FRENCH, 1999, p.220). Na anatomia, a dissecção permitia identificar o lugar do ser humano no esquema divino das coisas: "sua relação com Deus, os anjos, animais e o resto do mundo físico". A noção cristã de que os animais foram feitos para uso humano foi reforçada, especialmente pelo naturalista Conrad Gesner (1515-1565). Para este, animais poderiam ser experimentados impiedosamente.

A anatomia passou a se tornar, a partir desta época, uma "disciplina progressiva, impulsionada principalmente pela dissecção de cadáveres humanos e pela vivissecção de animais" (FRENCH, 1999, p. 226).

Um nome de destaque neste período foi o de William Harvey (1578-1657), fisiologista inglês. Podemos afirmar que sua investigação sobre a circulação do sangue e o movimento do coração foi um marco na sistematização de procedimentos investigativos[12]. Sua obra, *Exercícios anatômicos sobre o movimento do coração e do sangue nos animais,* escrita em 1628, confirmou, até certo ponto, o que Colombo já havia falado sobre o movimento do coração e do sangue para os pulmões, e pôs fim a uma controvérsia iniciada por Galeno, que afirmava, entre outros equívocos, que o septo cardíaco interventricular era permeável. "Estava agora claro que o coração, sangue e fígado (e mesmo pulmões) não se comportavam como Galeno postulou, e que a evidência era a dissecção, vivissecção e os experimentos" (FRENCH, 1999, p. 250). Segundo Delizoicov e colaboradores (2004, p.455), a proposição de Harvey foi responsável por pelo menos três mudanças: (a) as práticas de dissecação e experimentação para o entendimento anatômico-fisiológico; (b) "a matematização dos fenômenos naturais, com a qual pode calcular o volume de sangue circulando no corpo" e (c) uma crença na perfeição do movimento circular, "a partir da qual propõe um movimento em um ciclo fechado" – contrariando Galeno, que propunha um sistema aberto.

[12] Para uma discussão epistemológica deste tema, ver Delizoicov e colaboradores (2004)

> Harvey tinha consciência do que significaria contradizer a doutrina centenária de Galeno. Mas, aos poucos, cautelosa e habilmente, soube convencer os membros do colégio de médicos da inegável correção de seus conceitos (p.455)

Ainda assim, como Vesalius, enfrentou resistência com a divulgação do seu livro. O anatomista parisiense Jean Riolan (1577–1657) resistiu à teoria da circulação sanguínea proposta por Harvey, por pelo menos 20 anos. Esta resistência se deve ao fato de que a circulação do sangue dentro do corpo humano ia na contramão dos ensinamentos de Galeno, ao qual Riolan ainda prestava muito respeito (FRENCH, 1999).

A sistematização de Harvey teve considerável influência na obra e pensamento de Renée Descartes (1595-1650). Segundo Delizoicov e colaboradores (2004, p.456), "Descartes foi o primeiro a demonstrar a coerência de seu trabalho com uma visão totalmente nova da natureza: a filosofia mecânica". Houve uma identificação com o sistema proposto por Harvey, muito provavelmente pela forte articulação deste sistema com o mecanicismo emergente à sua época, e "sem o qual sua análise do fluxo sangüíneo – empregando conceitos da hidráulica e, portanto, da mecânica – não teria sido interpretada da maneira como foi".

Descartes, no entanto, negava a idéia de propósito na natureza, e foi um dos primeiros a romper com a tradição aristotélica vigente entre os anatomistas. Descartes fez muito uso da vivissecção e dissecção de animais, e trocou muitas correspondências com investigadores de seu tempo. Nas discussões com Harvey, a crítica era a de que "números não eram parte da filosofia e que o trabalho de Harvey como filósofo deveria ser o de demonstrar causas" (FRENCH, 1999, p.261). De fato, Harvey não identificou a causa do movimento do sangue, apenas a demonstrou. De toda forma, a controvérsia entre Harvey e Descartes impulsionou as práticas de vivissecção: ela foi "importante para os filósofos e médicos que lutavam para compreender e decidir entre a nova filosofia de Descartes e a circulação de Harvey" (p.263).

O anatomista italiano Marco Aurélio Severino (1580-1656), inspirado por Harvey na necessidade da vivissecção, chegou a propor uma disciplina única, fundindo anatomia animal e humana, a *zootomia*. O conceito da analogia, que hoje sustenta fortemente a experimentação animal, pode ter surgido, ainda que de forma rudimentar, a partir do trabalho deste anatomista. O termo *similis* (referente à *similaridade*) usado por Severino, por exemplo, deriva de *simia* (macaco).

O uso médico do conhecimento anatômico

Os anatomistas antigos davam grande prioridade à filosofia nos estudos anatômicos, e pouca prioridade aos usos médicos do conhecimento gerado nas incursões proporcionadas pela dissecção. Este perfil mudou no final do século XVI com a Reforma, que junto com o discurso cristão, passou a se interessar pelos usos práticos deste conhecimento - o seu uso médico de fato. Podemos falar de uma *anatomia filosófica*, oriunda principalmente da influência Aristotélica dos conceitos de forma e função. Esta anatomia estaria a serviço de "investigar as ações e uso para a aquisição de conhecimento e para admirar a destreza artesanal da construção do corpo humano" (p.256).

A influência de Galeno ainda persistia, mas o discurso agora estava atualizado com um contexto pós-Reforma. O anatomista Jean Riolan, mencionado anteriormente pela sua posição contrária à teoria do movimento do sangue proposto por Harvey, ainda assumia que, na época de Galeno, os corpos eram maiores e mais fortes do que os da sua época. No entanto, a anatomia galênica nesta época ficava mais conspícua e distinta da anatomia aristotélica filosófica. Riolan foi um expoente desta transição entre uma anatomia com pouca aplicação prática e uma anatomia voltada aos usos e estudos mais práticos da medicina. O grande mérito de sua obra foi a combinação da anatomia com a patologia. A sistematização de uma anatomia patológica não existia até então, e foi inaugurada nas obras deste anatomista:

> O que Riolan fez em termos contemporâneos foi simples, porém pouco usual. Ele pegou a anatomia, a qual ele se referia como a dissecção voltada para o teatro

> anatômico, e combinou com a patologia. (...) Foi simples, e para nós parece natural o suficiente porque nós imediatamente associamos doenças com uma aparência patológica. Mas parece ter sido uma combinação das circunstâncias de Riolan que o levou a esta direção, e não um progresso natural da medicina (FRENCH, 1999, p. 255)

A aceitação do movimento do sangue, por Harvey, foi aceita dentro da crítica de que ela não tinha uso médico direto. Segundo French (1999), Harvey chegou à teoria da circulação do sangue pela anatomia filosófica, enquanto que "Riolan queria a virtude da anatomia médica" (p.256). A base desta anatomia consistia em comparar corpos saudáveis (normais) e doentes (anormais), vislumbrando um tratamento das anomalias identificadas.

Alguns preceitos eram fundamentais nesta nova anatomia. O papel do anatomista não era mais um olhar estritamente funcional e estrutural (segundo uma tradição Galênico-Aristotélica), mas também, e enfaticamente, morfológico. Outro preceito era de que, como os espíritos e humores no corpo humano morto não se moviam, não era ocupação desta anatomia seu estudo, mas sim da fisiologia. Assim, se em Galeno não se podia diferenciar a anatomia da fisiologia (SOUSA, 1996), Riolan obteve este mérito. Esse olhar sobre o "exterior" (*morphos*) do corpo humano passou inevitavelmente a determinar as condições de sanidade do corpo. Tanto era assim que Riolan orientava médicos do seu tempo a examinarem o pulso, respiração e voz de noviços em monastérios.

> O que era feito com escravos era agora feito com amas-de-leite, como indicação de normalidade, e sinais de anormalidade eram buscados na forma, tamanho, aparência e assim por diante (FRENCH, 1999, p.258)

A importância da obra de Claude Bernard

Um importante nome a ser citado, já no pós-Renascimento, e que teve grande impacto com sua atividade de investigação (toda ela alicerçada na vivissecção), é o do fisiologista francês Claude Bernard (1813-1878), considerado como o pai da fisiologia experimental contemporânea (JUNIOR, 2002; TEIXEIRA, 2004). Rupke (1987), no entanto, acredita que outros fisiólogos franceses tiveram maior impacto sobre o estabelecimento e desenvolvimento da fisiologia da época, como Julien César Legallois (1770–1814), Jean Marie Pierre Flourens (1794-1867) e mesmo o mestre de Bernard, François Magendie (1783-1855). Rupke reconhece, no entanto, que Bernard foi o primeiro a sintetizar idéias sobre a natureza da ciência e da fisiologia, que culminou no seu livro publicado em 1865. A mesma opinião é compartilhada por Caponi (2001): Bernard "expõe, com claridade e precisão até então inéditas, as condições de possibilidade e os marcos metodológicos mais gerais desse âmbito da biologia" (p.376).

Assim, mais de um século depois da morte de Claude Bernard, suas afirmações metodológicas básicas são centrais para a teoria e prática da biomedicina, segundo Lafollete e Shanks (1994). Para estes autores, Bernard era um cientista sofisticado que se utilizou do que havia de melhor na ciência do seu tempo. Sua principal obra foi *Introdução ao estudo da medicina experimental*, publicada em 1865. Nesta obra, o fisiologista lançou os princípios do uso de animais como modelo de estudo e transposição para a fisiologia humana, além de estabelecer as regras e os princípios para o estudo experimental da medicina. Ele provocou situações físicas e químicas que resultavam em alterações nos animais semelhantes à de doenças em humanos. Enfatizava a aplicabilidade da experimentação animal aos humanos (FAGUNDES e TAHA, 2004, p.59). Segundo o próprio fisiologista,

> Experimentos em animais, com substâncias deletérias ou em circunstâncias prejudiciais, são muito úteis e inteiramente conclusivos para a toxicologia e higiene humanas. Investigações de substâncias medicinais ou tóxicas também são totalmente aplicáveis ao homem do ponto de vista terapêutico. (...) os efeitos destas substâncias são o mesmo em humanos e animais, a não ser por diferenças em grau (BERNARD, 1999. p.125)

Nesta obra, Bernard também se dedica a legitimar o uso de animais para fins científicos. Ao questionar retoricamente se temos o direito de experimentar em animais, Bernard é enfático: "Para mim, penso que temos este direito, total e absolutamente". E continua com a justificação:

> Seria estranho se reconhecermos o direito do homem de fazer uso dos animais em vários âmbitos da vida, para serviços domésticos, comida, e proibir o uso para sua própria instrução em uma das ciências mais úteis para a humanidade. Nenhuma hesitação é possível; a ciência da vida só pode ser estabelecida pelo experimento, e podemos salvar vidas apenas após sacrificar outras. Experimentos precisam ser feitos, sejam em humanos ou animais. Penso que médicos já fizeram muitos experimentos perigosos em humanos, antes de os estudá-los cuidadosamente em animais. Não admito que seja moral testar remédios mais ou menos perigosos, ou ativos, em pacientes em hospitais, sem antes experimentá-los em cães; devo demonstrar, mais adiante, que os resultados obtidos de animais podem ser todos conclusivos para humanos quando sabemos como experimentar adequadamente. Se é imoral, então, realizar um experimento em um humano quando este for perigoso a ele, ainda que o resultado seja útil aos outros, é essencialmente moral fazer os experimentos em um animal, ainda que doloroso ou perigoso, se este for útil ao homem (p.102).

Há uma preocupação, nesta passagem, com o uso de humanos em experimentos. Bernard afirma que os experimentos realizados em humanos são sempre os mais conclusivos, e que não há como negar isso. No entanto, para o fisiologista, "nem a lei moral nem o Estado permite fazer no homem os experimentos que os interesses da ciência imperativamente demanda" (p.123). E continua, de forma enfática: "do ponto de vista teórico, experimentos em animais de todos os tipos são indispensáveis, enquanto que do ponto de vista imediatamente prático, eles são altamente úteis à medicina".

Bernard reconhece que há diferenças entre homens e animais. Segundo ele, o homem possui faculdades inexistentes nos animais. Bernard oferece alguns exemplos: não podemos saber exatamente a sensação que os animais experienciam; animais possuem enfermidades desconhecidas ao homem; a suscetibilidade a inflamações de alguns órgãos não se dá no mesmo grau que no homem. Mas para o fisiólogo,

> Longe de serem motivos para abandonar a experimentação e de aplicar as conclusões das investigações patológicas feitas em animais às diferenças observadas em humanos, estas diferenças fornecem razões convincentes do contrário (p.125).

Para Bernard, estas diferenças eram basicamente quantitativas. "Ele pensava que as propriedades fundamentais das unidades vitais eram as mesmas para todas as espécies", afirmam Lafollete e Shanks (1994, p.202). Assim, ainda que o fígado varie de tamanho entre uma e outra espécie, elas respondem ao mesmo estímulo basicamente da mesma forma. A diversidade de respostas ao mesmo estímulo deve ser estudada "e eventualmente trazidas para leis determinísticas universais" (p.202). Para Bernard (1999), "apenas os estudos experimentais destas diversidades podem fornecer uma explicação para as diferenças individuais encontradas em homens, mesmo em raças diferentes ou em indivíduos diferentes da mesma raça" (p.125-126).

Bernard afirma, ainda, que há espécies de animais que podem ser mais apropriadas do que outras: "Para cada tipo de investigação devemos ser cuidadosos na escolha apropriada do animal. Isto é tão importante que a solução de um problema fisiológico ou patológico depende unicamente da escolha apropriada do animal para o experimento" (p.123).

O fisiólogo também situou o campo da pesquisa biomédica dentro do laboratório, denegrindo a medicina clínica. Segundo Bernard, "não podemos imaginar um físico ou químico sem o seu laboratório. Mas para o médico, não acreditamos ainda que ele precise de um laboratório; pensamos que hospitais e livros sejam o suficiente" (p.128). Segundo Lafollete e Shanks (1994), esta postura é condizente com o seu tempo, uma vez que "a medicina clínica nos seus dias era um pouco mais do que alquimia" (p.196).

Na Inglaterra, onde os processos de expansão da área da fisiologia já vinham ocorrendo, a partir de 1870 (ou seja, cinco anos após a publicação da obra de Claude Bernard) passa a haver uma mudança completa na fisiologia (O'CONNOR,, 1988). Segundo O'Connor (1988), o influente fisiólogo inglês Burdon Sunderson (1828-1905) tinha um busto de Claude Bernard em seu escritório, com quem teve aulas práticas em Paris. Este autor considera dois fatores fundamentais para a rápida expansão da fisiologia: a ideia de que "a fisiologia deve ser ensinada através de aulas práticas, e de que os fisiólogos devem conduzir experimentos em animais" (p.130) (figura 5). Burdon Sanderson fazia parte de uma geração mais nova de fisiólogos, que observaram de perto o trabalho de Claude Bernard, e que reconheceram a necessidade da experimentação em animais. Segundo O'Connor (1988), foram estes fisiólogos, no contexto Britânico, que "passaram a demandar laboratórios, equipamento e equipe para a pesquisa e para o ensino" (p.132).

Figura 5. Uma demonstração de fisiologia com vivisecção de um cachorro (pintura original a óleo de Emile-Edouard Mouchy, 1832)[13].

[13] Fonte da imagem: http://thechirurgeonsapprentice.files.wordpress.com/2011/08/fe063943110e6d52f7744e9c8391-1.jpg

CAPÍTULO II

Um olhar para o presente: o emprego de animais na pesquisa

A prática da experimentação animal no meio científico e acadêmico é uma atividade bastante freqüente, e como vimos no capítulo anterior, conta com um longo percurso na nossa história.

Atualmente, as finalidades do emprego de animais nos procedimentos científicos diferem-se basicamente em três grandes aplicações quando considerados em seus objetivos: ensinar, pesquisar e testar. O uso de animais para finalidades didáticas (ou de ensino) difere do uso em pesquisas no sentido de que o primeiro tem por finalidade a ilustração ou execução de procedimentos, fenômenos ou habilidades já previamente conhecidas, ao passo que na pesquisa há um engajamento na busca de conhecimentos ou habilidades até então desconhecidas. A finalidade da pesquisa ainda pode ser considerada como básica (ou fundamental) ou ainda aplicada. No primeiro caso, a pesquisa visa contribuir para a compreensão ou elucidação de fenômenos biológicos variados, enquanto que na pesquisa aplicada utiliza geralmente o conhecimento produzido pela pesquisa básica para o desenvolvimento de novas drogas, tratamentos ou testes de diagnósticos médicos. Neste trabalho, a relação entre estes dois tipos de pesquisa é compreendida como interdependente (SCHWARTZMAN, 2002). Nos uso em testes, os animais são utilizados para determinação de toxicidade, visando determinar se substâncias podem provocar danos à saúde humana ou mesmo a de outros animais.

Mais especificamente, há uma série de tipologias na literatura quanto às diferentes finalidades do uso de animais. Donna Yarri (2005) sugere três tipos de usos: (a) na *pesquisa*, referindo-se à pesquisa biomédica (básica e aplicada), espacial, armamentista, e nos campos da agricultura, etologia e psicologia; (b) nos *testes*, administrando substâncias em animais para determinar a toxicidade ou benefício para seres humanos; e (c) no ensino. Taylor e colaboradores (2008) identificam cinco tipos principais de usos: (a) aquisição de conhecimento biológico básico; (b) pesquisa médica; (c) descoberta e desenvolvimento de drogas, vacinas e instrumentos médicos; (d) testes de toxicidade de drogas, outros químicos e produtos de consumo; (e) no ensino e treinamento. Bernard Rollin (2009) discrimina sete tipos de usos: (a) básica, de natureza biológica, comportamental ou psicológica, que busca agregar conhecimentos; (b) aplicada, debruçada sob a formulação e testes de hipóteses, e com fins direcionados para tratamentos, terapias, diagnósticos, etc.; (c) desenvolvimento de novas substâncias e drogas; (d) pesquisa agrária; (e) testes para fins de segurança de produtos químicos diversos, incluindo drogas (toxicidade, carcinogênese, mutagênese e teratogênese); (f) uso para fins de ensino, e (g) para extração de produtos biológicos (soro, anticorpos, etc.). Rollin considera que existem algumas áreas de sobreposição entre estas categorias de uso.

Para Shanks e Greek (2009) existem nove formas de emprego de animais: (a) modelos preditivos para enfermidades humanas; (b) modelos preditivos para a avaliação de risco à exposição de substâncias ou drogas, principalmente no contexto da toxicologia e farmacologia; (c) para uso no ensino; (d) como fonte de peças biológicas (ex. válvula cardíaca de porcos); (e) como reatores biológicos (na produção de insulina, ou anticorpos monoclonais, por exemplo); (f) como fonte de tecidos ou órgãos para estudo de princípios biológicos básicos; (g) como aparatos heurísticos que possam provocar novas hipóteses biológicas/biomédicas; (h) para beneficiar a outros animais não-humanos (os estudos de campo com animais selvagens ou livres, como nas áreas de ecologia, etologia e zoologia, por exemplo, podem ser classificados neste ítem) e (i) para a produção de conhecimento científico por si só.

Quais espécies e quantos animais são utilizados?

Os animais utilizados em experimentos didático-científicos compõem uma ampla variedade de espécies vertebradas e invertebradas, e seu uso varia conforme os propósitos e a natureza do experimento. Segundo Braga (2010, p.171), “todo e qualquer animal que vier a ser utilizado como fim ou meio em uma investigação

experimental poderá ser considerado como animal de laboratório", que, segundo Silva e Espírito-Santo (2009), deve ser visto como um reagente biológico.

De forma geral, a fonte dos animais utilizados em experimentos didático-científicos é o biotério. Silva e Espírito-Santo (2009) definem o biotério como uma

> instalação onde os animais são criados e/ou mantidos, dotada de características próprias, que atendem às exigências de cada espécie, proporcionando-lhes bem estar e saúde para que possam se desenvolver e reproduzir, bem como para responder satisfatoriamente aos testes neles realizados (p. 132)

Os biotérios devem, idealmente, contar com instalações adequadas e específicas, equipamentos especiais e dispor de modelos animais adequados para cada tipo de pesquisa desenvolvida dentro da respectiva instituição. Quanto aos animais encontrados em um biotério, a classificação se baseia geralmente em seu status sanitário e genético. Assim, a seguinte classificação quanto ao padrão sanitário é apresentada por Silva e Espírito-Santo (2009) e Braga (2010):

a) Animais convencionais ou haloxênicos: sua microbiota é indefinida, e sua manutenção não exige barreiras sanitárias.

b) Livres de Patógenos Específicos ou Heteroxênicos: conhecidos também como SPF (Specific Patogen Free). Não possuem microbiota patógena, e são mantidos em ambientes com barreiras sanitárias rigorosas.

c) Gnotobióticos: o termo gnotobiótico vem de "vida conhecida", ou seja, possuem uma microbiota associada definida, e exigem uma barreira sanitária absoluta.

Quanto ao padrão genético temos ainda:

a) Outbred, não consanguíneos, heterogênicos ou exocriados: possuem alta diversidade genética (heterozigose) em uma mesma colônia. Neste grupo encontram-se aproximadamente 75% dos ratos e camundongos utilizados em experimentos (BRAGA, 2010)

b) Inbred, consangüíneos, isogênicos, ou endogâmicos: neste grupo as variações genéticas entre as gerações são mínimas, possuindo uma baixíssima diversidade genética (cerca de 99% de homozigose através do cruzamento entre irmãos de um mesmo casal por 20 gerações, e 100% após 150 gerações). Podem ser também hibridizados a partir de cruzamento entre duas linhagens inbred distintas..

c) Transgênicos: animais da categoria anterior que tiveram seu genoma modificado pela inserção de material genético de outra(s) espécie(s), ou simplesmente manipulado.

Baumans (2004) oferece um gráfico onde podemos encontrar as espécies mais utilizadas no meio científico (gráfico 1). Neste gráfico, assim como em vários levantamentos, o rato e o camundongo encontram-se como as espécies animais mais utilizadas em experimentos científicos. Segundo Fagundes e Taha (2004), "cerca de 85% dos artigos da Medline e 70,5% dos artigos da Lilacs[14] são referentes a ratos e camundongos", dado corroborado cinco anos depois por Monteiro e colaboradores (2009). Mais de 95% dos trabalhos científicos utilizam estas duas espécies (BRAGA, 2010; OLIVEIRA e PITREZ, 2010). Segundo Chorilli e colaboradores (2007, p.11), "o camundongo é, inquestionavelmente, o mais intensamente utilizado e o mais profundamente conhecido cientificamente". Os motivos para esta escolha e uso preferencial serão discutidos mais adiante.

[14] Medline - National Library of Medicine (Estados Unidos), atualmente PUBMED; Lilacs - Literatura Latino Americana e do Caribe em Ciências da Saúde.

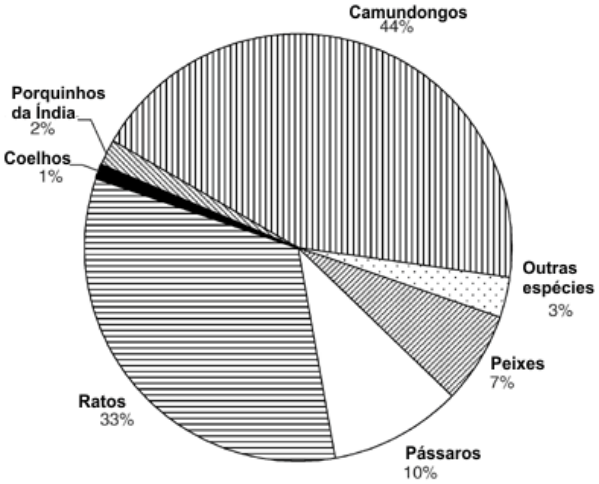

Gráfico 1. Proporção das espécies de animais utilizadas em pesquisa, testes e ensino (BAUMANS, 2004).

No Brasil, um levantamento feito em 2003 pelo Centro de Gestão e Estudos Estratégicos, ligado ao Ministério da Ciência e Tecnologia, obteve as espécies mais produzidas em mais de 60 biotérios no Brasil, vinculados a universidades e institutos de pesquisa. O gráfico 2 ilustra este levantamento.

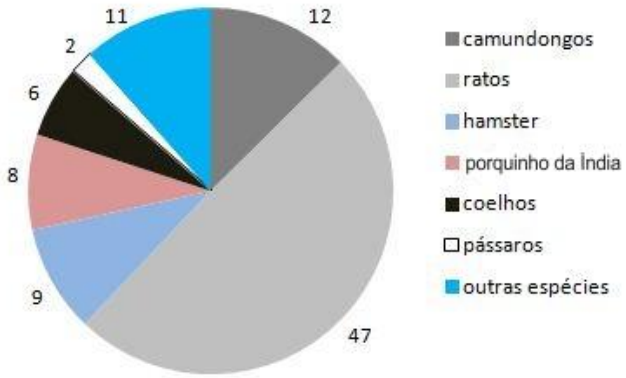

Gráfico 2. Proporção das espécies produzidas em biotérios de produção e experimentação no Brasil. "Outras espécies" se referem a cães (3%), primatas (3%), *Calomys* (roedor) (2%), ovinos (2%) e marsupiais (1%). (CGEE, 2003)

Em relação à quantidade de animais mortos para os fins de pesquisa, testes e ensino, é bastante difícil estimar este valor num nível mundial. Baumans (2004) sugere que este uso esteja entre 75 e 100 milhões anuais. Segundo Taylor e colaboradores (2008),

> Muitos países não coletam ou publicam nenhuma estatística, e alguns outros produzem informação mínima, como os Estados Unidos, que publica cenários que excluem a maioria das espécies utilizadas em pesquisa e testes (pg. 327).

Como espécies mais utilizadas, as autoras se referem não somente a camundongos e ratos, como também pássaros, peixes, répteis e anfíbios – espécies não contempladas nas estatísticas oficiais dos Estados Unidos. Um levantamento feito por estas autoras para o ano de 2005, em 37 países, a partir de registros oficiais e publicações, e aplicando um modelo estatístico para outros 142 países, chegou ao número de 58,3 milhões de animais. Considerando ainda os animais mortos para outros fins relacionados à pesquisa (como obtenção de tecidos, animais utilizados na produção de linhagens modificadas geneticamente, e "descarte" de animais produzidos em excesso pelos biotérios), a estimativa total chega aos 115,3 milhões – considerada ainda como subestimada pelas autoras (op cit.). Considerando que os animais utilizados em experimentos didático-científicos são, via de regra, mortos ao final dos mesmos, podemos afirmar que mais de 200 animais por segundo são mortos em atividades desta natureza, a um custo estimado em torno de 14 bilhões de dólares anuais (HARTUNG, 2009).

No Brasil não existe estimativas do número de animais utilizados em ensino e pesquisa. Com a lei 11.794/08, que passou a regulamentar o uso de animais para finalidades didáticas e científicas, passou a haver a obrigatoriedade das Comissões de Ética no Uso de Animais (CEUAS) nas instituições com atividades de ensino ou pesquisa com animais. Este novo cenário pode facilitar a quantificação do número de animais utilizados no país, uma vez que se exige das CEUAs a manutenção de "cadastro atualizado dos procedimentos de ensino e pesquisa realizados, ou em andamento, na instituição", através de seus respectivos protocolos.

É certo que mais animais são utilizados em experimentos científicos do que didáticos, mas pela falta de dados quantitativos sobre este uso, esta proporção é desconhecida. Uma pesquisa de Tréz (2000) pode dar uma pista sobre esta relação (gráfico 3). Entre 1993 e 1999, dados sobre o uso de animais para fins de ensino e pesquisa foram adquiridos junto ao Biotério Central da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

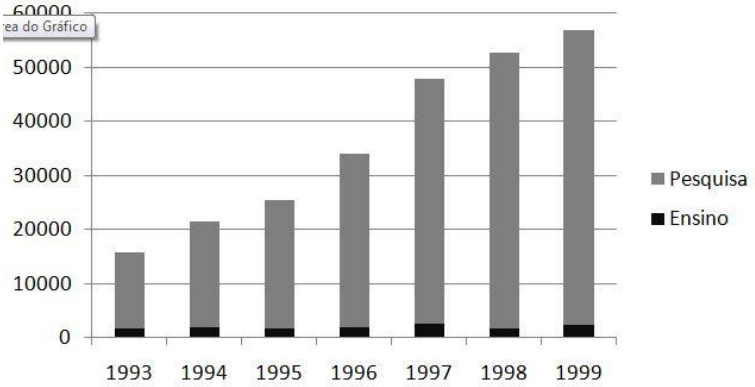

Gráfico 3. Número de animais utilizados pela Universidade Federal de Santa Catarina entre os anos de 1993 e 1999 (TRÉZ, 2000).

Apesar de se tratar de um registro consideravelmente desatualizado, podemos notar a discrepância numérica entre ambas as finalidades. Nesta pesquisa, o uso de animais no ensino corresponde a uma média de 5% do total utilizado na pesquisa. Esta proporção não é muito diferente da estimada por Baumans (2004), onde o uso de animais no ensino corresponde a 1% do total dos animais utilizados para fins científicos (gráfico 4).

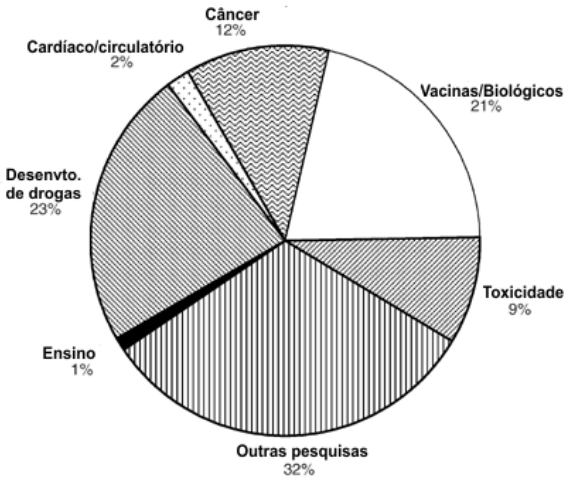

Gráfico 4. A proporção do número de animais utilizados de acordo com a finalidade (BAUMANS, 2004).

A indução da morte: os termos empregados

Será pouco provável, no meio científico, escutar que um pesquisador "exterminou" ou "matou" animais em um experimento. Neste meio, o termo mais aceito, pelo menos em teoria, para se referir à indução da morte dos animais experimentais é frequentemente denominada como "eutanásia". A tradução do termo eutanásia, que

deriva do grego *eû* (bom) e *thánatos* (morte), é "boa morte", ou morte sem sofrimento. Stainki e Ferrão (2010) consideram a eutanásia um método aplicado para interromper a vida de um animal, "tendo como principais indicações casos de doença incurável, processos de dor e sofrimento extremos" (p.232). Segundo os autores, é preciso distinguir a eutanásia de outros termos, como sacrifício (morte com finalidade religiosa), abate (morte com finalidade de consumo humano ou erradicação de doenças) e eliminação (morte com fins de erradicação de pragas ou animais indesejáveis). Apesar dessa diferenciação, podemos encontrar facilmente o termo "sacrifício" sendo empregado em publicações científicas, como verificado em uma busca em diferentes bases de dados entre os anos de 2008 e 2010 (tabela 1). Esta tabela indica que o termo *eutanásia* é relativamente pouco empregado em relação ao termo *sacrifício*, ainda em voga. Este termo, do latim *sacrum facere*, diz respeito a oferenda de um animal ou produto de colheita "feita a uma divindade para lhe tributar homenagens, ou para reconhecimento do seu poder, ou ainda para lhe aplacar a cólera" (MICHAELIS, 2011). Seu significado ainda pode se referir a um "ato de abnegação, inspirado por um veemente sentimento de amizade ou de amor" (*op cit*.).

	Descritor	**2010**	**2009**	**2008**
Scielo*	[*sacrificados*]	38	43	40
	[*eutanasiados*]	10	9	11
LILACS**	[*sacrificed*]	74	95	88
	[*euthanized*]	31	32	38
MEDLINE**	[*sacrificed*]	1500	1566	1389
	[*euthanized*]	555	456	491

Tabela 1. Emprego do termo *sacrifício* e *eutanásia* em artigos científicos em diferentes bancos de dados. (*) Pesquisa no portal Scielo, limitado ao Brasil; (**) Pesquisa no portal http://regional.bvsalud.org

Segundo Manzano e colaboradores (2007), ao contrário da eutanásia humana, a eutanásia animal "é permitida e indicada quando o bem-estar animal estiver ameaçado, quando o animal constituir ameaça à saúde pública ou animal, e quando o animal for objeto de ensino ou pesquisa" (pg.155). Esta definição está em total acordo à estabelecida pelo artigo 2 da resolução 714 do Conselho Federal de Medicina Veterinária (CFMV, 2002).

A eutanásia animal pode dar-se através de meios físicos como atordoamento, deslocamento cervical, decapitação com guilhotina, tiro, choque elétrico, maceração ou irradiação por microondas; ou químicos, através de produtos inaláveis ou injetáveis (RIVERA, 2010). Cada um destes procedimentos é indicado dependendo da espécie animal sendo utilizada, e da finalidade do experimento. São considerados como métodos inaceitáveis de eutanásia a incineração *in vivo*, embolia gasosa, traumatismo craniano, hidrato de cloral (para pequenos animais), clorofórmio, gás cianídrico e cianuretos, descompressão, afogamento, exsanguinação sem sedação prévia, imersão em formol, bloqueadores neuromusculares e estricnina (CFMV, 2002).

Embora bem estabelecido no repertório científico, o emprego do termo *eutanásia* não se dá num cenário isento de conflitos. Há diversas críticas em relação ao emprego deste termo nos procedimentos com animais de laboratório, principalmente a partir de profissionais oriundos da área da filosofia. Segundo um deles, o filósofo Tom Regan (1985), existem três critérios fundamentais para se caracterizar a eutanásia: (1) a morte é provocada da forma mais indolor possível; (2) quem mata acredita verdadeiramente que a morte é do interesse de quem morre; (3) aquele que mata não deve ser beneficiado com a morte do outro. O autor afirma que o termo eutanásia poderia ser utilizado junto ao termo "não-voluntária" em casos onde a condição de vida do animal atingiu um estado irreversível de comprometimento, e apenas por causas naturais. Nas palavras da filósofa Sônia Felipe (2007):

> Matar um animal em estado natural de agonia física ou sofrimento, quando tal estado é causado por eventos naturais, ambientais ou biológicos, tais como os processos degenerativos e irreversíveis do envelhecimento, ou outras anomalias para as quais não há cura, com a finalidade de propiciar alívio, quando a dor ou sofrimento não podem cessar a não ser fazendo-se cessar toda atividade mental, tirar-lhe, então, a vida, de modo indolor, seria eutanásia (....). Quaisquer outras formas de execução de animais devem ser vistas, pura e simplesmente, como extermínio (...). Interesses alheios estão por detrás dessas execuções, não o interesse dos próprios animais (p.83).

Segundo a filósofa, o termo eutanásia "deveria ser empregado somente para designar a morte que serve para beneficiar o interesse daquele que morre" (p.81), do contrário, no caso da morte de animais de laboratório, falsifica-se o conceito ético de eutanásia, o que "impede o aprofundamento da reflexão sobre a moralidade das práticas experimentais que envolvem sofrimento e biocídio" (p.83).

O legado da vivissecção

Segundo Caponi (2001), Claude Bernard foi o responsável pelo estabelecimento de uma disciplina que, a partir da publicação de sua principal obra em 1865, iria se desenvolver nos anos seguintes. Até hoje a referência a Claude Bernard é presente na literatura científica que justifica o emprego de animais em atividades de pesquisa. Fagundes e Taha (2004) reconhecem que este fisiologista "lançou os princípios do uso de animais como modelo de estudo e transposição para a fisiologia humana" (p.59), assim como enfatizava a aplicabilidade dos dados obtidos em experimentos em animais para os humanos. Lima (2008b) identifica os trabalhos de Bernard e de seu mestre François Magendie como impulsionadores do "uso de animais na experimentação e contribuíram para o desenvolvimento da fisiologia e farmacologia" (p.26). De acordo com o próprio Bernard (1999, p.101):

> em nosso tempo, e especialmente sob a influência de Magendie, a vivissecção adentrou na fisiologia e na medicina de uma vez por todas, como um método habitual ou indispensável de estudo.

Simões e colaboradores (2011) mencionam Bernard, ao afirmar que "para se estudar um determinado parâmetro em um organismo, todas as outras variáveis devem ser mantidas constantes, lançando assim as bases para a pesquisa experimental moderna". Alves e Colli (2006) apresentam o que hoje está consagrado e aceito como o *conceito da analogia*, a partir dos fisiologistas clássicos:

> Para entender o funcionamento de um órgão ou tecido, os antigos fisiologistas, como Bernard, o retiravam de um animal e observavam os efeitos de sua ausência. Essa técnica pioneira, embora causasse sofrimento, permitiu que esses pesquisadores fizessem muitas descobertas sobre as funções dos órgãos, levando a avanços no conhecimento preciso de suas funções e no diagnóstico e no tratamento de diversas doenças humanas. Afinal, em todos os vertebrados – humanos ou não – os rins filtram o sangue e formam urina, o estômago digere os alimentos, o pâncreas produz enzimas digestivas e assim por diante. Não podemos nos esquecer que todos eles descendem de um tronco evolutivo comum (p.26).

A advertência contra o uso de humanos em experimentos é também relembrada a partir da obra de Bernard, como podemos ver em Schanaider e Silva (2004): "nunca executar uma experiência no homem, que possa produzir malefício" (p.446). Bernard, importante lembrar, defendia o uso de humanos em experimentos, mas sempre depois de se estudar cuidadosamente em animais (RAYMUNDO e GOLDIM, 2002).

Como vimos no começo deste capítulo, a importância do uso de animais é amplamente reconhecida e valorizada pela maioria da comunidade científica. Nas palavras de Alves e Colli (2006), este uso

> foi fundamental na pesquisa e no desenvolvimento de medicamentos como anestésicos, antibióticos, anticoagulantes, insulina e drogas para controlar a pressão sangüínea ou a rejeição em transplantes, entre outros. (...) também é relevante nos casos de muitos medicamentos, de vacinas (para difteria, poliomielite, meningite bacteriana e outras); de procedimentos como os próprios transplantes, a transfusão de sangue, a diálise renal e a substituição de válvulas cardíacas; e, finalmente, de tratamentos para asma, leucemia e outras doenças (p.26).

O uso de animais na atualidade: seu uso enquanto modelos

Muitos pesquisadores reconhecem que "a melhor forma para conhecer e compreender cada vez mais a espécie humana, do aspecto psicossocial ao orgânico, é realizando estudos em seres humanos" (OLIVEIRA e PITREZ, 2010, p.68). Ballatori e Villalobos (2002, p.207) concordam, no entanto, que: "embora a biologia humana seja idealmente estudada a partir de reagentes e tecidos humanos, em muitos casos tais estudos não são possíveis nem éticos".

A opção por utilizar animais se deu principalmente em função de abusos cometidos em pesquisas com seres humanos, e fatores religiosos que determinavam a proibição do uso de humanos em experimentos (SILVA e ESPÍRITO-SANTO, 2009). Segundo Damatta (2010):

> Questões éticas impossibilitam o uso de seres humanos em investigações fundamentais para o entendimento da fisiologia do organismo, assim como para o desenvolvimento de novos tratamentos e dispositivos médicos. Portanto, o uso de animais em pesquisa tem sido crucial para gerar novos conhecimentos e tratamentos para organismos vertebrados (p.210).

Em muitas passagens é possível identificar a idéia de que animais são utilizados em experimentos como substitutivos de seres humanos (MARTINS e colaboradores, 2010; D'ACÂMPORA e colaboradores, 2009; ALVES e COLLI, 2006; PEREIRA, 2007b). Por exemplo, D'Acâmpora e colaboradores (2009, p.425) consideram que "animais experimentais são criados para ser usados no ensino e na pesquisa de forma a substituir o ser humano nestas atividades específicas". Segundo Alves e Colli (2006), "o uso de animais em projetos de pesquisa deve ser uma alternativa ao uso de seres humanos e ser indispensável, imperativo ou requerido" (p.28). Ainda, animais podem ser utilizados como modelos de pesquisa preditivos para seres humanos. Para Hau (2008), um conceito chave para compreender o uso de animais enquanto modelos é o da "analogia".

> Um modelo não deve ser considerado como a afirmação da identidade com o que está sendo modelado, mas um conjunto convergente de diversos tipos de analogias entre o fenômeno "alvo" a ser compreendido e o sistema que está sendo estudado como um substituto para o fenômeno alvo (p.3).

Segundo Barlow e colaboradores (2002), o uso de métodos baseados em animais como preditivos para o ser humano é aceito com naturalidade por parte da comunidade científica.

> Os modelos são mapas de territórios não explorados e servem de base para encontrar o caminho de um destino. Na sua falta, chegar ao destino é mais difícil. Como exemplo, modelos experimentais desenvolvidos em animais de laboratórios (na sua grande maioria utilizando ratos e camundongos) são utilizados na ciência para o entendimento da origem de doenças (que afligem humanos e não humanos). Dessa compreensão surgem hipóteses sobre os mecanismos de doenças que, uma vez confirmadas, podem ser revertidas em benefício da sociedade na forma de novos medicamentos,

> tratamentos mais adequados de doenças, aperfeiçoamento de técnicas cirúrgicas, programas de vacinação etc. (LIMA, 2008b, p.26)

A maioria dos tratamentos e substâncias de interesse médico é testada em animais por uma série de motivos: (a) a manipulação ambiental e genética nos animais não poderia ser realizada com humanos; (b) tratamentos não precisariam ser desenvolvidos em humanos, se dados preliminares em animais não demonstrarem utilidade clínica; (c) por exigência de órgãos regulatórios preocupados com a avaliação de risco de substâncias; e (d) os animais oferecem *insights* sobre as causas e mecanismos de doenças, e podem promover novos tratamentos (HACKAM, 2007).

O valor preditivo do modelo

Dada a longa trajetória histórica do emprego de animais na pesquisa, conforme exposto no capítulo anterior, é possível afirmar que, atualmente, o valor preditivo do modelo animal é fortemente alicerçado sob uma crença de proximidade ou similaridade entre as espécies, como afirmam Schanaider e Silva (2004, p.442): "Quanto mais [o animal] se aproxima, em suas características fisiológicas, anatômicas e orgânicas ao ser humano, maior a aplicabilidade das conclusões obtidas".

Em 1929, o famoso fisiólogo dinamarquês August Krogh escreveu: "para um grande número de problemas haverá um ou mais animais a escolher, nos quais tais problemas podem ser mais convenientemente estudados" (KROGH, 1929). A leitura do código genético humano, finda no começo do século XX, reforçou ainda mais as idéias de Bernard e Krogh, pois inferiu-se que o genoma humano é similar ao de outras espécies. Segundo Ballatori e Villalobos (2002), esta descoberta "ofereceu talvez a validação mais forte das afirmações de Bernard e Krogh".

A idéia, segundo Shanks e Greek (2009, p.105), é a seguinte:

> Estudamos um sistema físico e a forma como este responde a perturbações de forma a fazer predições sobre como outro sistema físico responderá em circunstâncias similares (uma vez que diferenças de tamanho e massa sejam compensadas).

Estes autores discutem o uso de modelos animais como modelos preditivos a partir de uma caracterização abstrata do que seriam *modelos análogos*, descrito da seguinte forma:

> X (o modelo) é similar a Y (o sujeito modelado) em respeito a uma série de propriedades (a, b, c, d, e). X tem uma propriedade adicional "f". É provável que Y também tenha a propriedade "f" (SHANKS e GREEK, 2009. p. 105).

Partem então para uma elaboração do conceito de *modelos analógicos causais*. Segundo os autores, estes modelos são amplamente empregados em vários tipos de pesquisa biomédica, assim como em outros campos científicos. No caso em questão, segundo Overmier e Carrol (2001),

> quando o pesquisador concebe desafios aos animais, e estuda uma cadeia de causas que, através da analogia, pode ser associada com desafios para humanos, o pesquisador está usando um modelo animal (*apud* Shanks e Greek, 2009).

As características destes modelos devem respeitar às seguintes prerrogativas:

> 1) as propriedades compartilhadas (a,b,c,d,e) devem ser propriedades causais - ou seja, elas devem ser efeitos de várias causas que são por si mesmas capazes de provocar efeitos; 2) a propriedade *f* projetada do modelo para o sistema modelado deve permanecer em uma relação causal às propriedades (a,b,c,d,e) no modelo; 3) não deve haver uma *desanalogia* causal relevante entre o modelo e o sujeito modelado (SHANKS e GREEK, 2009. p.106, grifo meu).

Desta forma, segundo Shanks e Greek (2009), situar a propriedade *f* em uma relação causal com as outras propriedades dá alguma razão para se supor que esta propriedade será encontrada no sistema a ser modelado.

Quanto à *desanalogia*, Shanks e colaboradores (2009) exemplificam: não deve haver propriedades (g,h,i) únicas, ao modelo ou ao sistema modelado, que possam interagir causalmente com as propriedades compartilhadas (a,b,c,d,e), "uma vez que tais propriedades podem comprometer a utilidade preditiva do modelo". Sendo os sistemas modelados dotados de características complexas, como organismos ou economias, por exemplo, "existem várias formas em que as desanalogias podem ocorrer", como veremos no próximo capítulo.

A escolha do modelo

Ainda que Pereira (2007) afirme que não há regras quanto à escolha do modelo animal mais adequado nas investigações, e a possibilidade de extrapolação dos dados obtidos do mesmo para o ser humano, Fagundes e Taha (2004) estabelecem alguns critérios gerais: um animal utilizado como modelo animal deve permitir estudos de seu comportamento e/ou fenômenos biológicos, bem como a investigação de um processo patológico espontâneo ou induzido. Além disso, o fenômeno estudado/observado no animal deve ser semelhante ao que é observável no ser humano, em um ou mais aspectos.

> um modelo é um objeto de imitação, algo que represente alguma coisa ou alguém, algo que seja semelhante ou imagem de outro (...). Um modelo deve ter características suficientes para ser semelhante ao objeto imitado e ter a suficiente capacidade de ser manipulado sem as limitações do objeto imitado (FAGUNDES e TAHA, 2004. p.60).

Para Schanaider e Silva (2004), definir a escolha de um modelo não é uma tarefa fácil. Através da anatomia comparada de vertebrados, e de sua proximidade filogenética, pode-se conceber a generalização para o modelo – tese sustentada também por Hau (2008). Porém, segundo os autores, "a literatura é escassa nestes aspectos e geralmente restrita a poucos livros de veterinária e zoologia" (p.442).

Para Hau (2008), a seleção do modelo depende de vários fatores ligados à hipótese sendo testada, mas geralmente aspectos de ordem prática, associados ao projeto, à equipe, e às instalações de pesquisa costumam ser determinantes nesta escolha. Para Petroianu (1996), que defende que a escolha do modelo deva estar ligada ao objetivo da pesquisa, buscando-se subsídio na literatura para fundamentar a escolha, existem modelos de animais mais apropriados de acordo conforme os objetivos da pesquisa (quadro 2).

Animal	**Objetivo da pesquisa**
Camundongo	choque, sepse, queimaduras, obesidade, megacolon e câncer
Rato	choque, sepse, obesidade, peritonite, câncer, úlceras gástricas, operações intestinais, sistema imunológico, baço, cicatrização e transplante de órgãos.
Coelho	estudos sobre a pele,choque, inflamação, colites, operações vasculares e transplantes.
Cão	choque, má absorção, colites, pancreatites, operações hepáticas ou esplênicas e transplantes.
Porcos	estudos sobre o fígado, úlcera péptica e transplante.
Cavalos	hematologia
Macacos	investigações comportamentais e pesquisa mais sofisticadas.

Quadro 2. Exemplos da relação entre o modelo animal escolhido e o objetivo da pesquisa, de acordo com Petroianu (1996).

Segundo Barlow e colaboradores (2002), a seleção das espécies animais mais apropriadas ainda está longe de ser a ideal, mas é o melhor que se tem disponível. A escolha do modelo, segundo os autores, é muito mais baseada em princípios de praticidade (facilidade de uso, manuseio, criação, dados disponíveis, etc) "do que qualquer conhecimento sobre sua relevância aos humanos com respeito à substância em questão". Segundo Schnaider e Souza (2003, p.279), os principais critérios para a escolha do modelo são: "facilidade da alimentação, do manuseio, da execução do procedimento técnico e o custo operacional".

> Não basta selecionar a espécie, também é preciso avaliar os custos para compra de matrizes ou de amostras compatíveis com a metodologia dos grupos experimentais (isogênicos, knock out, etc). O custo para aquisição de animais, não obstante variável de acordo com sua procedência, fornecedor e característica, situa-se em torno de R$ 10 reais para o rato, R$ 40,00 para o coelho (em geral R$ 13,00/kg), cerca de R$ 300,00 a 400,00 para o cão com pedigree[15]. Há que se ter consciência do dispêndio na montagem de uma infra-estrutura apropriada para a manutenção dos animais em laboratório (SCHANAIDER e SILVA, 2004, p.442-443)

Como citado anteriormente, o camundongo e o rato são as espécies mais utilizadas como modelo em investigações científicas. Segundo Morales (2008), o uso destes animais "têm sido priorizados devido ao seu pequeno tamanho e também pelo fato de se reproduzirem rapidamente" (p.34). O uso destes animais é uma prática tão disseminada no meio científico, que

> os pesquisadores são geralmente hesitantes em considerar outros animais como modelos em seus desenhos experimentais, mesmo em áreas onde os roedores apresentam desvantagens significativas (BALLATORI e VILLALOBOS, 2002. p.207).

O uso de roedores começou no final do século XIX, e a partir do século XX linhagens específicas destes animais começaram a ser produzidas, com características biológicas específicas (OLIVEIRA e PITREZ, 2010; CHORILLI e colaboradores, 2007). O uso de roedores se dá principalmente nos "estudos biológicos em ciência básica (...); pesquisa, desenvolvimento e controle de qualidade para medicina humana e veterinária; e toxicologia/eficácia/segurança de fármacos" (OLIVEIRA e PITREZ, 2010).

Além de camundongos e ratos, a pesquisa de Fagundes e Taha (2004) apontou que as espécies mais comumente citadas em algumas das principais bases de artigos científicos[16] se estendem, por ordem decrescente, a coelhos, cães, suínos e primatas. Nas bases Scielo e Lilacs, o cão é o animal mais utilizado, seguido dos coelhos, suínos e primatas. Segundo os autores, isso provavelmente se deve à facilidade de obtenção destes animais na América Latina – possibilidade reforçada pelo fato dos cães serem, na maioria das vezes, sem raça definida. Segundo Oliveira e Pitrez (2010), "animais de maior porte (porcos, cães, gatos e macacos) podem ser importantes para responder perguntas específicas sobre doenças humanas específicas". No entanto, segundo Damatta (2010), "animais de médio porte (porco e cão) são excelentes modelos para experimentação; no entanto, necessitam de instalações elaboradas e têm custo elevado".

O fator "porte" pode ser determinante na escolha do modelo animal. Não é por acaso que o rato e o camundongo são os animais mais utilizados. Seu porte pequeno, alta taxa reprodutiva e curto período de vida o tornam mais econômicos para criação e manutenção (BRAGA, 2010). Em relação ao camundongo, Chorilli e colaboradores (2007) afirmam:

---

[15] Os custos indicados correspondem à época da publicação citada (2004).
[16] Lilacs, Medline(PUBMED), Scielo (Scientific Electronic Library Online) e Cochrane.

> Sua introdução como animal de laboratório deve-se principalmente ao fato de ser pequeno, muito prolífero, ter período de gestação curto, ser de fácil domesticação e manutenção. Logo, tornou-se o mamífero mais usado na experimentação animal (p.12).

O conhecimento genético das espécies é também bastante valorizado nesta equação, o que permite avaliar sua similaridade com o ser humano. No caso do camundongo, dados atuais indicam que 75% dos seus genes possui equivalentes em humanos (CHURCH e colaboradores, 2009) e que 90% do seu genoma total pode ser alinhado com regiões específicas e determinadas do genoma humano (SPENCER, 2002). Além disto, há pesquisas (GUNTER e DHAND, 2002) indicando que 99% dos genes destes animais tem análogos nos seres humanos[17]. Outros exemplos de similaridade genética seguem: gatos possuem 90% de genes homólogos com humanos (PONTIUS e colaboradores, 2007); em chimpanzés, a similaridade genética com os humanos é de 96 a 98% (CSAC, 2007), 80% em vacas (*Bos taurus*) (BGSAC e colaboradores, 2009), 60% em moscas-da-fruta (*Drosophila sp*.) (SPENCER, 2002b) e 60% em galinhas (*Gallus gallus*) (ICGSC, 2004).

Andrade e colaboradores (2002) afirmam que hoje existem modelos animais apropriados para cada tipo de experimento, o que possibilita ainda mais a universalização dos procedimentos de pesquisa em animais.

O conceito dos 3Rs

O que vemos na literatura parece sugerir que não houve, desde a publicação de Claude Bernard, nenhum momento de questionamento que comprometesse a perspectiva vivisseccionista, mas sim, uma *expansão* desta perspectiva. Considerando o ano de 1865 como o marco da primeira geração do segundo momento, marcado principalmente pelo interesse no uso médico do conhecimento, aspecto comum aos dias de hoje na pesquisa aplicada, é possível afirmar que, atualmente, está se constituindo a sétima geração de pesquisadores[18], cujos pressupostos e práticas continuam dando sequência a este legado.

Em 1959, o zoólogo William Russell e o microbiologista Rex Burch publicaram o livro *The Principles of Humane Experimental Technique* (Os princípios da técnica experimental humanitária). Esta obra é fruto de um projeto iniciado em 1954 (BALLS, 1994), tendo como seu idealizador Charles Hume, fundador da Federação de Universidades pelo Bem-Estar Animal (UFAW), e como coordenador o imunologista e prêmio Nobel Peter Medawar (ZURLO e colaboradores, 1996; ROWAN, 1994).

Nesta obra os autores apresentam e elaboram o que se entende atualmente pelo conceito dos 3Rs, referindo-se aos princípios de redução (*reduction*), substituição (*replacement*) e refinamento (*refinement*) do uso de animais em atividades científicas. Este conceito tem como principais objetivos a otimização do número de animais utilizados em experimentos (do ponto de vista quantitativo), a substituição do uso de animais em experimentos sempre que possível, e a alegada humanização dos procedimentos - do ponto de vista qualitativo (TREZ, 2010). Segundo Cazarin e colaboradores (2004), enquanto o refinamento e a redução são objetivos a curto-prazo, a substituição é a meta máxima a ser alcançada. Segundo Testing e colaboradores (1998), esta perspectiva oferece uma estrutura para o "aperfeiçoamento das condutas e da aceitação ética das técnicas experimentais em animais". Segundo os próprios Russel e Burch (1959):

> Parece haver um conflito irreconciliável entre a ciência e a medicina, e aqueles que advogam um tratamento humanitário com animais inferiores. (...) no momento, é amplamente reconhecido que o tratamento mais humanitário possível de animais experimentais, longe de ser um obstáculo, é na verdade um pré-requisito para um experimento animal exitoso (*texto online*).

---

[17] De uma linhagem específica de camundongos isogênicos (C57Bl/6j)

[18] O intervalo entre uma geração e outra foi calculado tendo como base o tempo de formação de um pesquisador na carreira acadêmica, estipulado aqui arbitrariamente numa média de 25 anos.

Os autores também introduziram o conceito *humanitário* às práticas científicas: uma relação íntima entre a eficiência na experimentação e a humanidade (no sentido humanitário) é estabelecida como uma constante na obra de Russel e Burch. Segundo Goldberg (2010), a melhor ciência é a humanitária, e para a prática da ciência humanitária deve-se empregar o conceito dos 3Rs. Para Russell e Burch (1959),

> Se tivermos que escolher um critério para a escolha de experimentos, o critério da humanidade é o melhor que podemos possivelmente inventar... os maiores experimentos científicos sempre foram os mais humanitários e os mais esteticamente atraentes, expressando o senso de beleza e elegância que é a essência da ciência em sua forma mais exitosa (*texto online*).

Zurlo e colaboradores (1998) identificam uma das principais características desta ciência humanitária, no enfoque dos 3Rs:

> O único experimento animal aceitável é aquele que usa o menor número possível de animais [redução] e causa o mínimo possível de dor ou estresse [refinamento], é consistente com o alcance de um propósito científico justificável, e é necessário porque não existe outra forma de se chegar a este propósito [substituição] (p.880).

Nesta citação está contida a essência do conceito dos 3Rs, que será detalhado a seguir.

O princípio da *substituição* diz respeito a qualquer método científico que empregue material não-senciente e que possa substituir o uso de vertebrados. Existe a substituição do tipo *absoluta* (onde nenhum animal é utilizado) e *relativa* (onde o animal é utilizado, mas sem qualquer tipo de sofrimento[19]). Um maior aprofundamento deste princípio será desenvolvido na seção 4.3.3, ao final do presente capítulo.

O princípio da *redução* considera um redimensionamento estatístico de um desenho experimental, com a finalidade de reduzir o número de animais empregados em um experimento. Segundo Russell e Burch (1959), este é o princípio de aplicação mais imediato e mais vantajoso em termos de eficiência. Segundo os autores, "a redução é desejável em qualquer procedimento (...), que empregue um grande número de animais em um laboratório". Conforme os mesmos autores, uma das formas mais gerais de por em prática este princípio é escolher de forma correta as estratégias de planejamento e desenvolvimento das linhas de pesquisa. Mais especificamente, o pesquisador deve estabelecer limites para o número de variáveis sendo analisadas, utilizar animais geneticamente homogêneos, e controlar e manter os procedimentos experimentais de forma minuciosa. Chamam a atenção para as diferenças encontradas entre animais experimentais, afirmando que o controle destas diferenças é crucial para a redução do número de animais em um experimento:

> Se a variação fisiológica entre indivíduos animais puder ser controlada, e métodos estatísticos utilizados para otimizar este controle, o número de animais necessários para os ensaios pode ser reduzido dramaticamente (p.67)

Um exemplo da valorização deste tipo de princípio, operando na pesquisa, é exibido nesta "carta ao editor", publicada recentemente no Jornal Brasileiro de Pneumologia :

> Li o manuscrito "Efeitos da quercetina na lesão pulmonar induzida por bleomicina: um estudo preliminar", de Martinez et al., e parabenizo os autores. Entretanto, gostaria de comentar certos aspectos do manuscrito. Neste estudo experimental, quatro diferentes grupos de hamsters, constituídos por 16, 16, 20 e 27 animais, respectivamente, totalizando 79, foram usados. Entretanto, *para se obedecer ao*

[19] O uso de animais sob anestesia profunda, e em procedimento terminal, é considerado por Russell e Burch (1959) como uma técnica de substituição relativa. "Tais procedimentos são totalmente livres de desumanidade", segundo os autores. Os outros tipos de substituição relativa incluem o uso isolado de células, tecidos ou órgãos de vertebrados.

> *princípio de que se deve usar o menor número possível de animais* em qualquer experimento, o pesquisador deveria ter usado 5-10 animais por grupo. Devido a questões éticas, o número de animais a serem usados em estudos experimentais *deve ser reduzido ao mínimo necessário para se fazer uma análise estatística e fornecer resultados cientificamente confiáveis e válidos* (KARAPOLAT, 2008, p.989, grifo meu)

O *refinamento* é o tratamento aplicado ao protocolo de pesquisa após verificar a possibilidade de redução e/ou substituição. Este último princípio tem por objetivo "simplesmente reduzir a um mínimo absoluto a quantidade de estresse imposto aos animais que ainda estão sendo utilizados" (RUSSELL e BURCH, 1959, p.85) – estresse este comumente causado por uma diversidade de procedimentos, como os de anestesia (considerado o refinamento mais importante pelos autores), analgesia, indução de morte, extração de sangue, injeções, etc. "A aplicação deste princípio inevitavelmente aumentará a eficácia [do experimento], e pode incidentalmente provocar a redução [do número de animais]", segundo Russell e Burch (1959).

Segundo Testing e colaboradores (1998), o refinamento é também alcançado oferecendo aos animais experimentais um ambiente em que eles possam se sentir confortáveis e seguros. Segundo Mezardi e colaboradores (2004),

> Russell e Burch basearam seus estudos em critérios para a dor experimentada pelos animais, enquanto os parâmetros fisiológicos e endócrinos forneciam medidas objetivas de estresse, e o comportamento do animal servia como indicador do bem-estar (p.25).

É neste sentido que o pesquisador Wothan Tavares de Lima, então coordenador da Comissão de Ética e Experimentação Animal do Instituto de Ciências Biomédicas da USP, afirma que os cientistas devem utilizar o animal com "respeito". Deve-se

> fornecer ao animal um espaço mínimo para o seu desenvolvimento, em um ambiente apropriado, o mais próximo possível do seu habitat natural. Além disso, no momento do sacrifício, deve-se ministrar doses de analgésicos, para minimizar o desconforto do bicho, entre outras práticas adequadas (MAIA, 2007)

Assim, o conceito de *bem-estar animal* é pertinente a este princípio, estando o mesmo comumente atrelado às recentes iniciativas de melhoramento nas condições de criação de animais em biotérios (cuidados especiais com macro e microambiente), e no manuseio de animais (incluindo métodos de indução de morte, e cuidados especiais na pós-intervenção), conforme pode ser constatado em muitos manuais voltados à práticas com animais de laboratório e de bioterismo (como, por exemplo, em MEZADRI e colaboradores, 2004 e ANDRADE e colaboradores, 2002). No "Manual sobre cuidados e usos de animais de laboratório" (publicado pela primeira vez em 1963 pelo Conselho Nacional de Pesquisa dos EUA, e revisado constantemente desde então), não há nenhuma referência à obra de Russell e Burch. No entanto, na introdução deste importante documento, revela-se o objetivo da obra: "promover o tratamento *humanitário* dos animais utilizados em pesquisa biomédicas e comportamentais" (NCR, 2003, grifo meu). Ainda, como objetivos dos princípios adotados pelo manual, observa-se a atenção para a quantidade de animais utilizadas nos experimentos (assim como a espécie e a qualidade da mesma), e a prevenção do desconforto, angústia, dor; o uso apropriado de sedação, analgesia e anestesia, e o manejo adequado dos animais. Apenas o princípio da substituição não se encontra presente nesta obra.

Balls (2007) afirma que a obra de Russell e Burch foi bem recebida quando de sua publicação, mas o conceito dos 3Rs demorou para ser reconhecido e aceito. Segundo Rowan (1994), o livro de Russell e Burch "desapareceu" da literatura científica nos anos sessenta. Balls (2006) considera esta década como a "década da escuridão" (p.29). A influência desta obra começa a ser mais fortemente percebida apenas a partir dos anos 80 (BRYAN, 2010; CAZARIN e colaboradores, 2004). Segundo Cazarin e colaboradores (2004):

> Todo este movimento em prol do programa 3Rs resultou na fundação de diversas instituições, no oferecimento de encontros/seminários e no crescente estímulo de publicações científicas, a fim de promover o desenvolvimento, a validação e a discussão de alternativas para a substituição das técnicas usuais (p.291).

Várias instituições de cunho científico, em diferentes países, adotaram o conceito dos 3Rs como fundamentos de suas atividades. A primeira instituição a ser estabelecida com base nos princípios foi o Fundo para Substituição de Animais em Experimentos Médicos (FRAME), em 1969. Vinte anos depois, foi criado na Alemanha o Centro para Documentação e Avaliação de Alternativas aos Experimentos com Animais (ZEBET). Segundo Balls (2007), foi nos anos 90 que os 3Rs passaram a ter maior alcance: estabeleceu-se na Europa o Centro Europeu de Validação de Métodos Alternativos (ECVAM), ligado à União Européia, em 1991, e o Comitê de Coordenação Inter-Agência para Validação de Métodos Alternativos (ICCVAM), vinculado ao governo dos Estados Unidos, em 1994. Em 2005, o Centro Japonês de Validação de Métodos Alternativos (JACVAM), vinculado ao governo japonês, passou a compor a lista de comitês científicos voltados a avaliação de métodos alternativos. Ainda que o foco no *replacement* seja evidenciado nestas organizações, os princípios de redução e refinamento fazem parte dos princípios de todas elas.

O congresso mundial que tem como base o conceito dos 3Rs, e que congrega pesquisadores de várias áreas de investigação, é o Congresso Mundial de Alternativas e Uso de Animais nas Ciências da Vida. Desde sua primeira versão, em 1993, foram realizados 8 congressos mundiais sobre os 3Rs em diferentes países[20]. No último, realizado em agosto de 2011, no Canadá, os seguintes temas foram:

> Tema 1 – Segurança e eficácia nos testes de químicos, farmacêuticos e biológicos: Desenvolvimentos internacionais nos 3Rs e testes regulatórios; Desenvolvimento de métodos alternativos, incluindo farmacêuticos e biológicos; Translação de dados de testes de alto rendimento para avaliação de risco.
>
> Tema 2 – Leis e políticas sobre o uso de animais, engajamento público e ética: participação pública na elaboração de políticas; compreensão do termo “alternativas”; conflitos entre os três Rs.
>
> Tema 3 – Incorporação dos 3Rs na educação e treinamento: como ao ciência é escrita e publicada; associando a nova ciência (genômica, abordagens computadorizadas) às alternativas; avaliando o mérito pedagógico do uso de animais.
>
> Tema 4 – Bem-estar animal para o refinamento e ciência de alta qualidade: associando os 3Rs ao bem-estar animal; bem-estar de animais de fazendas e os 3Rs; bem-estar de animais selvagens e os 3Rs.
>
> Tema 5 – Substituição e redução em pesquisa básica: identificando ciências emergentes e seu potencial de avanços com alternativas na pesquisa biomédica; biologia sistêmica como uma abordagem futura para compreender as doenças humanas e animais (8th World Congress on Alternatives and Animal Use in the Life Sciences, 2011).

A relevância destes princípios pode ser também explicada pelo papel que desempenham na qualidade da atividade científica. De acordo com Flecknell (2002),

> Tem sido reconhecido que a adoção dos 3Rs pode aumentar a qualidade da ciência. Experimentos propriamente desenhados, que minimizam a variância, oferecem

[20] Os locais de realização deste evento foram: Baltimore, EUA (1993); Utrecht, Holanda (1996); Bologna, Itália (1999); New Orleans, EUA (2002); Berlim, Alemanha (2005); Tókio, Japão (2007); Roma, Itália (2009) e Montreal, Canadá (2011).

> condições padronizadas e otimizadas de cuidado animal, e minimizam estresse e dores desnecessárias, geralmente produzem dados melhores (p.73).

Balls (2009) considera que estes princípios devem ser um conceito unificador, "um desafio, e uma oportunidade para colher benefícios de todo o tipo – científicos, econômicos e humanitários". Neste sentido, é importante salientar o papel conferido à educação (científica) e treinamento dos cientistas, como forma de assegurar a implementação exitosa do conceito dos 3Rs (ZURLO e colaboradores, 1996). A advertência feita por Goldberg (2010) também preconiza a necessidade deste trabalho de cunho educativo: ainda que a maioria dos cientistas não tenha tido contato com os 3Rs em sua formação, por se tratar de um princípio relativamente recente, deve-se garantir que todos os pesquisadores que utilizem modelos animais, tenham informação e familiaridade com estes conceitos.

O impacto dos 3Rs no Brasil

No Brasil, a discussão sobre os 3Rs começou a tomar corpo somente na década de 90 - e ainda se passariam quase 20 anos até que o país começasse a adotar estes princípios (ZOLNERKEVIC, 2009). Foi nesta década, inclusive, que surgiram os primeiros Comitês de Ética no Uso de Animais (CEUAs), segundo Petroianu (1996). Atualmente o conceito dos 3 Rs vem orientando não apenas as práticas de ensino e pesquisa em universidades (DINIZ e colaboradores, 2006), como também as ações das CEUAs (SCHATZMAYR e MÜLLER, 2008). "Todos os biólogos e biomédicos precisam se informar sobre os 3Rs", afirmou o pesquisador Roberto Sogayar, fundador da primeira Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) do país, na UNESP de Botucatu (SP), em 1996 (ZOLNERKEVIC, 2009, p. 30). A presença destes princípios é comumente observada nos documentos normativos que balizam os objetivos e funcionamento de alguns CEUAs vinculados a universidades, como nos exemplos abaixo:

> CEUA/UFSC: "(...) buscando sempre o *refinamento* de técnicas e a *substituição* de modelos, que permitam a *redução* no uso de animais." (CEUA-UFSC, 2011).
>
> CEUA/PUCRS: "(...) o CEUA aceita os princípios éticos que emergem da teoria dos 3 Erres proposta por Russell e Burch" (CEUA-PUCRS, 2010, p.417)
>
> CEUA/UFPR: "incentivar a adoção dos princípios de refinamento, redução e substituição no uso de animais em ensino e pesquisa científica" (CEUA-UFPR, 2011)

No site do Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), que regulamenta todos os CEUAs nacionais, o único documento disponibilizado para download é o "Código Australiano de práticas para o cuidado no uso de animais para fins científicos"[21]. Este código tem como princípios gerais os 3Rs. No Brasil, a referência ao conceito dos 3Rs pode ser encontrada com freqüência também em algumas entidades científicas. Um dos colegiados mais importantes no tema da experimentação animal, o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA), abandonou este nome em 2008 para adotar o nome de Sociedade Brasileira de Ciência de Animais de Laboratório (SBCAL) – a logomarca também sofre modificação, como mostra a figura 6. Sua missão passou a ser, entre outras, a de "promover o uso ético do animal de laboratório" (redução e refinamento), "proteger os animais de laboratório do uso inadequado" (refinamento) e "incentivar o desenvolvimento e uso de alternativas" (substituição).

[21] Disponível em http://www.mct.gov.br/upd_blob/0213/213969.pdf

Figura 6. À esquerda, logomarca do antigo COBEA, que em 2008 passou a se chamar SBCAL, com a logomarca à direita[22].

Segundo Rivera (2010, p.75), "a ciência de animais de laboratório[23] é uma área relativamente nova", e "foi uma das primeiras a se preocupar em utilizar animais sem causar-lhes sofrimento ou dor desnecessários". Segundo Hau (2008), a ciência de animais de laboratório ocupa-se do estudo do uso científico, ético e legal de animais na pesquisa biomédica. Rivera em seguida ainda cita Charles Hume, idealizador do projeto dos 3Rs (mencionado anteriormente): "os animais mais adequados para uma pesquisa científica são aqueles que, além de saudáveis, são dóceis e que se encontram confortáveis e contentes".

Os cuidados especiais que passaram a orientar a criação dos animais em biotérios, e a sua manipulação (ligados ao princípio do refinamento), são encontrados com freqüência em manuais nacionais de animais de laboratório. Na apresentação à edição em português do "Manual sobre cuidados e usos de animais de laboratório", um membro da faculdade de medicina da USP escreveu: "temos um dever fundamental nesta relação [entre homens e animais]: temperar com *humanidade* nosso trato com os objetos de nossa investigação" (NCR, 2003, p.XIV. grifo meu).

Recentemente, a Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) assinou um termo de cooperação com a Anvisa (Agência Nacional de Vigilância Sanitária), com o objetivo de desenvolver e validar métodos alternativos nos testes de segurança e pré-clínicos. Segundo uma das pesquisadoras da Fiocruz, a ideia deste acordo é ampliar os casos em que o uso dos animais não seja mais necessário, e, onde a substituição for improvável (como nos testes de potencial de câncer ou teratogênese – segundo a pesquisadora), pensar "na redução e no refinamento, buscando diminuir dor e sofrimento [dos animais]" (NUBLAT e RIGHETTI, 2011).

Este acordo pretende ser o embrião do Centro Brasileiro de Validação de Métodos Alternativos (Bracvam), idéia apresentada por Presgrave e colaboradores (2010) no 7º Congresso Mundial sobre Alternativas ao Uso de Animais nas Ciências da Vida, ocorrido em Roma em 2009, onde, segundo Zolnerkevik (2009), pelo menos 20 pesquisadores brasileiros apresentaram trabalhos. De acordo com Presgrave e colaboradores (2010),

> A necessidade de validar e estabelecer métodos alternativos de acordo com os 3Rs tem impulsionado um grande número de laboratórios a desenvolver estudos nesta área. Atualmente cerca de 15 a 20 grupos estão trabalhando com métodos alternativos. Estes grupos fazem parte de laboratórios federais, universidades, indústria e laboratórios privados (p.47).

Segundo estes autores, a participação do Instituto Nacional de Controle de Qualidade em Saúde (INCQS[24]) em congressos internacionais sobre alternativas é freqüente, sendo formado por cerca de 20 profissionais e estudantes

[22] Fontes das imagens: http://vsites.unb.br/ib/ceua/COBEA_arquivos/cobea_logosmall.gif (COBEA) e www.cobea.org.br (SBCAL)
[23] Segundo Hau (2008), a ciência de animais de laboratório ocupa-se do estudo do uso científico, ético e legal de animais na pesquisa biomédica.
[24] Unidade da Fiocruz

> trabalhando em métodos alternativos, principalmente na substituição de animais em testes de irritação dérmica, ocular e mucosa, e em testes de pirogênio e sensibilização, assim como em controle de vacina (p.49).

Atividades como apresentações de pôsters, palestras, mesas-redondas, organização de eventos, publicações de artigos e estudos de pós-graduação são parte do trabalho do grupo (PRESGRAVE e colaboradores, 2010). Quanto à organização de eventos, este grupo do INCQS organizou dois encontros nacionais sobre métodos alternativos, conhecidos como EMALT (Encontro sobre Métodos Alternativos ao Uso de Animais para Fins Regulatórios). A primeira versão deste evento ocorreu em 2005, e a segunda em 2010. A referência ao conceito dos 3Rs é enunciada logo no início da apresentação do segundo encontro.

Dentro das atividades propostas para o Bracvam por Presgrave e colaboradores (2010), destaca-se: (a) participação em cooperações internacionais; (b) promoção de eventos, congressos, seminários, "e quaisquer outras rotas de disseminação de informação científica para organizações regulatórias, indústrias, academia e outras instituições relacionadas à alternativas"; e (c) publicação de artigos.

Ao que tudo indica, parece haver uma crescente orientação para o emprego do uso destes princípios nas práticas de pesquisa. A importância da educação científica, neste aspecto, parece ser fundamental para a disseminação destas ideias, que será avaliada mais adiante, ao final desta obra.

Para Rivera (2001), um dos deveres específicos dos cientistas é "sempre" utilizar o conceito dos 3Rs em suas práticas. Sogayar reforça: "todos os biólogos e biomédicos precisam se informar sobre os 3Rs" (ZOLNERKEVIC, 2009). Para isso, a criação de uma disciplina específica sobre os 3Rs vem sendo inclusive ventilada (idem).

Esta aparente tendência, e visível reconhecimento dos 3Rs, é possível de ser observada, como será visto a seguir, numa análise da lei Arouca (11.794/08), que regulamenta a prática da experimentação animal no Brasil.

A lei 11.794/08 e o princípio dos 3Rs

A obra de Russell e Burch foi gradativamente se tornando um marco em suas considerações sobre o uso de animais na pesquisa, a ponto de, na década de 80, ser incorporada formalmente na legislação inglesa que regulamenta o uso de animais (FLECKNELL, 1992), e ter seus princípios integrados na diretiva 86/609/EEC da União Européia, que orienta as legislações desta comunidade em relação às práticas científicas com animais (BOO e colaboradores, 2005). Para Schatzmayr e Müller (2008), as leis que regulamentam a prática do uso de animais, principalmente a partir da década de 70, assumiram como pano de fundo estes princípios.

É neste contexto que a primeira regulamentação brasileira sobre a utilização de animais em ensino e pesquisa surge, em outubro de 2008. A lei 11.794, conhecida também como Lei Arouca, tramitou como projeto por cerca de 13 anos, e envolveu, à véspera de sua aprovação, grande mobilização por parte da sociedade civil organizada, e de muitos setores científicos, como universidades, a Academia Brasileira de Ciências, a Fiocruz, o Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (Cobea/SBCal), e diversos conselhos profissionais federais (SCHATZMAYR e MÜLLER, 2008). Este dispositivo legal foi "arduamente acusado por defensores dos animais de representar um retrocesso na legislação nacional", uma vez que poderia ampliar a extensão das práticas de experimentação animal (PITHAN e GREY, 2010, p.135). Anos antes da aprovação, Marques e colaboradores (2005) conclamam a comunidade científica para uma pressão junto aos governantes visando a aprovação da lei, para garantir uma legislação "onde a questão da pesquisa científica possa ser mais bem contemplada" (p.263). Estes autores identificam, no longo e moroso processo de trâmite que a lei passou, a "interferência" das sociedades protetoras de animais.

Esta lei não faz uma referência direta ao conceito dos 3Rs, e tampouco sugere sua implementação (Filipecki e colaboradores, 2011). Tréz (2010b), no entanto, identificou o papel do princípio dos 3Rs no corpo da lei Arouca – influência esta já previamente reconhecida (mas não identificada) por Marques e colaboradores (2009), e não

reconhecida por Bonella (2009). De acordo com Tréz (2010b), a lei apresenta um desequilíbrio na aplicação dos três princípios, e apesar de não os mencionar diretamente, é possível identificar como os mesmos estão representados ao longo de seus 27 artigos e 6 capítulos:

Refinamento: é o princípio mais representado no corpo do texto. Excertos que sugerem este princípio são encontrados principalmente no capítulo IV, que dispõe sobre as condições de criação e uso de animais em experimentos científicos e didáticos:

> Art. 14. O animal só poderá ser submetido às intervenções recomendadas nos protocolos dos experimentos que constituem a pesquisa ou programa de aprendizado quando, antes, durante e após o experimento, *receber cuidados especiais*, conforme estabelecido pelo CONCEA.
>
> (...) § 5º Experimentos que possam causar dor ou angústia desenvolver-se-ão sob *sedação, analgesia ou anestesia adequadas.*
>
> (...) § 7º É *vedado o uso de bloqueadores neuromusculares ou de relaxantes musculares* em substituição a substâncias sedativas, analgésicas ou anestésicas.
>
> § 8º É *vedada a reutilização do mesmo animal* depois de alcançado o objetivo principal do projeto de pesquisa
>
> § 9º Em programa de ensino, sempre que forem empregados procedimentos traumáticos, vários procedimentos poderão ser realizados num mesmo animal, desde que todos sejam executados *durante a vigência de um único anestésico* e que o animal seja sacrificado antes de recobrar a consciência.
>
> (...) Art. 15. O CONCEA, levando em conta a relação entre o *nível de sofrimento* para o animal e os resultados práticos que se esperam obter, poderá restringir ou proibir experimentos que importem *em elevado grau de agressão* (BRASIL, 2008, grifo meu).

Substituição: este princípio é representado duas vezes no corpo da lei. O artigo 5º do capítulo II (das competências do CONCEA) estabelece o monitoramento e avaliação de "técnicas alternativas que substituam a utilização de animais em ensino e pesquisa". No artigo 14º do capítulo IV, há um reforço deste princípio em relação às práticas didáticas:

> § 3º Sempre que possível, as práticas de ensino deverão ser fotografadas, filmadas ou gravadas, de forma a permitir sua reprodução para ilustração de práticas futuras, evitando-se a *repetição desnecessária* de procedimentos didáticos com animais (BRASIL, 2008, grifo meu).

De acordo com Machado e colaboradores (2009), esta lei oferece pouca ênfase nas alternativas. Acrescenta ainda que um dispositivo legal que exigia a demonstração da não-existência de métodos substitutivos, foi excluído da sua versão final.

Redução: segundo Tréz (2010b), é o princípio menos observado, tendo sido identificado em apenas um excerto da lei, e associado diretamente ao conceito de refinamento (art. 14º, capítulo IV):

> § 4º O número de animais a serem utilizados para a execução de um projeto e o tempo de duração de cada experimento será *o mínimo indispensável* para produzir o resultado conclusivo, *poupando-se, ao máximo, o animal de sofrimento* (BRASIL, 2008, grifo meu).

Em retrospecto, e segundo a análise acima, chama de fato a atenção que a Lei Arouca, promulgada no Brasil num momento em que, em nível internacional, a implementação do conceito dos 3Rs já se encontrava avançada na maior parte da comunidade científica, tenha incorporado tão pouco desta perspectiva.

Uma possível explicação para o atraso na aplicação deste conceito pode ser atribuída a sua recente chegada no Brasil, e a conseqüente falta de uma discussão mais ampla e aprofundada sobre cada um dos princípios. Esta questão será melhor esclarecida nesta pesquisa a partir dos dados e das entrevistas, que contemplarão este conceito.

Três princípios em um mesmo conceito

Os três princípios estabelecidos por Russell e Burch possuem naturezas distintas em relação ao papel que o modelo animal cumpre em sua teoria. Como vimos anteriormente, o tema 2 do "8º Congresso Mundial de Alternativas e Uso de Animais nas Ciências da Vida", realizado em 2011, incluiu os "conflitos entre os três Rs", atestando que não há uma relação harmoniosa entre estes princípios. A importância desta discussão não deve ser minimizada, em que pese a grande aceitação e disseminação do conceito dos 3Rs em laboratórios e legislações ao redor do mundo. A seguir, vários aspectos destes conflitos serão ressaltados, procurando-se vinculá-los, ainda que de forma preliminar neste capítulo, a possíveis complicações que estejam ocorrendo no EP vigente e hegemônico na atualidade, o EP vivissecionista.

Uma das possibilidades de conflito está no reconhecimento da validade do animal enquanto modelo preditivo pelos princípios de *refinamento* e *redução* – ou seja, o conceito da analogia e da extrapolação de dados entre diferentes espécies segue sendo reconhecido como válido a partir destes princípios. Por outro lado, o princípio da *substituição* abre a possibilidade para que métodos que não envolvam animais vertebrados, em seus desenhos experimentais, possam ser estabelecidos no lugar dos métodos convencionais. Duas possibilidades de ideias e práticas surgem a partir desta última consideração, e que podem se configurar como complicadores do EP vivisseccionista: (a) o modelo animal é preditivo para o ser humano, mas outros métodos também podem ter valor preditivo suficiente para que entrem em cena no lugar do, ou associados ao, modelo animal; (b) o modelo animal não é preditivo para o ser humano, e outros métodos podem e/ou devem ser utilizados. No próximo capítulo iremos explorar as complicações em que o princípio da substituição se encontra, afim de entender seu contexto, afim de explorar esta ideia que parece representar uma complicação ao EP hegemônico.

De toda forma, em função da natureza distinta entre os princípios, se faz necessário distinguir o conceito de *método alternativo* e *método substitutivo*. No enfoque dos 3Rs, um método alternativo diz respeito a "qualquer método que pode ser usado para reduzir, refinar ou substituir experimentos animais" (WORTH e BALLS, 2004, p.623). Já o conceito de *método substitutivo*, ainda dentro do enfoque dos 3Rs, diz respeito exclusivamente ao princípio da substituição: qualquer método científico que empregue material não-senciente e que possa substituir métodos que façam uso de vertebrados (RUSSELL e BURCH, 1959). Assim, todo método substitutivo é um método alternativo, mas não vice-versa. A apropriação do conceito de método substitutivo no Brasil é coerente em algumas passagens:

> Em geral, quando se fala de métodos alternativos, pensa-se simplesmente na substituição de animais vivos. Entretanto, além da substituição, a redução e o refinamento (...) *também são considerados como alternativas*, de acordo com princípio dos 3Rs (CERQUEIRA, 2008, p.47, grifo meu)

Também em Morales (2008, p.33): "o interesse por métodos alternativos cresce dentro da própria comunidade científica na tentativa de diminuir o número de animais utilizados em experimentação" (MORALES, 2008, p.33). Morales considera ainda os esforços de refinamento, e a "a substituição de mamíferos por outras espécies (anfíbios, répteis, bactérias, leveduras, vírus, etc)" (idem). Segundo o autor, este termo "tem causado

grande confusão, pois nos leva a acreditar que a ciência pode deixar de utilizar animais e substituí-los, em grande parte dos experimentos, por outros métodos" (idem).

No entanto, é possível identificar na literatura científica brasileira o uso do termo "método alternativo" em referência exclusiva ao termo substituição, como em Cazarin e colaboradores (2004). Como ação e meta fundamental dos 3Rs, as autoras colocam que a substituição visa "desenvolver métodos alternativos à experimentação animal, tais como ensaios *in vitro*, inclusive com utilização de células humanas" (p.291). Esta mescla dos conceitos está presente em muitas das passagens abaixo, juntamente com um certo ceticismo em relação aos métodos alternativos/substitutivos:

> Os métodos alternativos exigem *muito tempo, muito dinheiro e muita paciência* para serem desenvolvidos. Ainda não há metodologias ou conceitos válidos para o desenvolvimento de tais métodos (Ekaterina Rivera, em CERQUEIRA, 2008, p.48-49).
>
> Para [Marcel Frajblat], *será muito difícil conseguir produzir um método alternativo que reproduza precisamente o funcionamento do corpo humano ou animal*. "Algumas etapas do processo científico poderão ser substituídas, mas, provavelmente, haverá a necessidade do teste em animais. A abolição do uso dos animais deve vir junto com a abolição da necessidade de seu uso. Não podemos abolir o uso de animais enquanto houver esta necessidade" (Marcel Frajblat, em CERQUEIRA, 2008, p.49, grifo meu)
>
> Há, porém, áreas, como as que pesquisam o comportamento, a dor, a cirurgia experimental e a ação de drogas, em que *não é possível usar alternativas* (RIVERA, 2001, p.11, grifo meu).
>
> Modelos desenvolvidos em computadores, animais inferiores ou órgãos isolados, *todos apresentam grande limitação* e, em grande parte, não podem ser considerados alternativas satisfatórias (nem razoáveis). (MARQUES e colaboradores, 2005, p.265, grifo meu)
>
> Modelos alternativos, como os experimentos com órgão isolados, seres inferiores e os ligados à tecnologia são *muito limitados e raramente substituem os animais* apropriados a cada trabalho científico. (PETROIANU, 1996, p. 8, grifo meu)
>
> *Apesar dos esforços* despendidos para encontrar métodos alternativos ao uso de animais, *poucos avanços* foram obtidos para que fosse possível excluir essa prática na pesquisa científica. Apesar de continuarmos perseguindo esse objetivo, em um futuro mais próximo, a *meta mais realista* seria reduzir o número de animais utilizados em propósitos científicos associando diferentes técnicas às alternativas já existentes e, sempre que possível, refinar as técnicas para que o desconforto seja reduzido ao mínimo. O *mais sensato*, portanto, é admitir que existem métodos complementares, mas que não podem ser considerados substitutivos (MORALES, 2008, p.36, grifo meu).

Um dos motivos para este ceticismo está provavelmente localizado na fala de Frajblat mencionada por Cerqueira (2008), logo acima, onde o pesquisador afirma que os métodos alternativos não reproduzem com precisão a complexidade de um organismo considerado em sua totalidade. Segundo Bailey (2005), é freqüente o argumento da necessidade de um modelo sistêmico ("do sistema como um todo") para justificar o uso de animais. Este é o fundamento *do argumento "sistêmico"*[25], que pode ser encontrado em algumas referências no Brasil. De acordo com Sogayar, "você precisa de um sistema imunológico, de um *organismo completo* para produzir vacinas e testar remédios" (ZOLNERKEVIC, 2009, p.30, grifo meu), pois "*in vivo*, vários fatores do próprio organismo podem

[25] O termo *sistêmico* neste caso não é empregado no sentido do *pensamento sistêmico* ou da *teoria da complexidade*, mas sim fazendo alusão a relação dos sistemas dentro de um mesmo organismo.

interferir nos resultados" (MORALES, 2008, p.35). Este argumento pode ser condensado nesta passagem de Morales (2008, p.33):

> Estudos de moléculas e células certamente trazem novos conhecimentos, mas, isoladamente, estão longe de trazer a compreensão do funcionamento de organismos complexos como o dos mamíferos, onde está incluída a espécie humana.

Segundo Barlow e colaboradores (2002), existe uma necessidade de maximizar a informação obtida a partir de estudos com animais, e de reduzir o número de animais ao "mínimo necessário". Mas, segundo os autores, "os modelos baseados em animais permanecerão um componente chave na identificação de toxicidade para humanos".

> O fato que em recentes anos tem havido um progresso tremendo nos testes *in vitro*, *as vantagens de se estudar um organismo inteiro*, com todas suas funções metabólicas e sistemas de órgãos intactos, permanece clara (p.184, grifo meu)

Conforme apresentei no capítulo anterior, há uma série de fundamentações empregadas atualmente para justificar o emprego de animais em atividades científicas. No entanto, é possível identificar na literatura científica o surgimento de críticas que estão comprometendo a centralidade do modelo animal no processo de pesquisa. Neste capítulo focarei nos principais argumentos que ameaçam este modelo, atualmente hegemônico - principalmente na questão do valor preditivo do modelo animal – o que traz considerações importantes sobre o princípio da analogia e, por conseguinte, sobre a extrapolação de dados de animais para humanos. Para isso, uma das práticas mais consagradas no âmbito do emprego de animais, que é o seu uso em processos de desenvolvimento de novos fármacos para fins terapêuticos em humanos, será o ponto de partida desta discussão. Por fim, apresentarei outros complicadores que podem ser identificados como atuantes no processo de problematização destas práticas. De forma a compreender melhor estas complicações, iniciarei esta seção explicando o processo de desenvolvimento de novas drogas[26], afim de facilitar a problematização a partir de um processo bem definido e estabelecido no campo da pesquisa.

A complicação no desenvolvimento de novas drogas

De acordo com Lin (2008), a busca por novos medicamentos pode ser funcionalmente dividida em duas etapas: a descoberta e o desenvolvimento. Na primeira etapa se identifica ou valida algum tipo de terapêutica para uma determinada doença, assim como se mapeia as atividades biológicas da substância candidata *in vitro* ou *in vivo*. Na segunda etapa, o foco passa a ser na farmacocinética e na farmacodinâmica da droga em estudo. Assim, o desenho geral de pesquisa e desenvolvimento de uma nova droga, de sua concepção à sua comercialização, segue um padrão, e é dividido basicamente em dois momentos*: pré-clínico* e *clínico*. O quadro abaixo ilustra este esquema.

	Descoberta/Testes pré-clínicos	**Testes clínicos**			
		Fase I	**Fase II**	**Fase III**	**Fase IV**
Anos	6,5	1,5	2	3,5	Pesquisa pós-comercialização
População testada	Estudos *in vitro* e em animais	20 a 100 voluntários sadios	100 a 500 pacientes voluntários	1000 a 5000 pacientes voluntários	
Objetivo	Acessar segurança, atividade biológica e formulação	Determinar segurança e dosagem	Avaliar eficácia, investigar efeitos colaterais	Confirmar eficácia, monitorar reações adversas	
Taxa de sucesso	5000 compostos avaliados		5 entram em testes		

Quadro 4. O processo de desenvolvimento de novos fármacos (SPILKER, 2001, *apud* QUENTAL e SALLES FILHO, 2006).

Segundo Rawlins (2004), a etapa pré-clínica envolve quatro tipos de investigação: (a) o *screening* farmacológico, que explora os efeitos farmacológicos potenciais de uma droga em processos biológicos que não sejam aqueles processos pretendidos para o tratamento terapêutico; (b) a investigação farmacocinética, realizada em espécies comumente usadas em testes toxicológicos, e visando estudar os processos ADME (Absorção, Distribuição, Metabolismo e Eliminação de uma substância) [27]; (c) o teste de toxicidade por dose única e dose repetida; (d) os testes de toxicidade especiais, como os de mutagenicidade, carcinogenicidade, etc. Destes estudos, o primeiro é considerado como o de maior importância, ainda que o autor "não tenha encontrado uma análise robusta (...) de seu poder preditivo" ou de qualquer limite objetivo de segurança que surja deste tipo de estudo (p.362). Mas são os testes de toxicidade (b,c,d), segundo o autor, os que merecem maior atenção. Um dos

[26] Aqui, os termos fármaco, droga ou medicamento serão utilizados de forma equivalente.
[27] Basicamente o que "o organismo faz com o fármaco" (PEREIRA, 2007a).

questionamentos sobre estes testes, entre os de ordem de regulamentação e metodologia, é sobre até que ponto a sua realização em animais reflete de forma similar a possível toxicidade em humanos e, em caso positivo, qual o poder preditivo destes testes. Rawlins (2004) posiciona-se criticamente em relação ao fundamento desta prática:

> Os estudos pré-clínicos de segurança, empregados no desenvolvimento de uma nova droga, estão mais principalmente embasados em uma plausabilidade biológica do que qualquer forma de avaliação quantitativa do poder preditivo. Esta abordagem é incoerente, e inadequada, para o século XXI (p.361)

O fluxograma abaixo (figura 7), organizado por Dowty e colaboradores (2011), ilustra os testes empregados no processo pré-clínico para ADME, incluindo os sistemas animal e humano, que podem variar de acordo com o tipo de substância sendo desenvolvida.

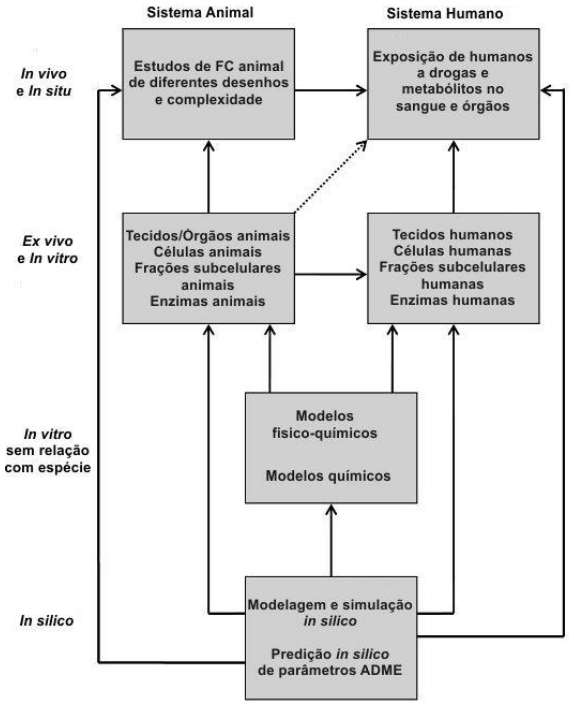

Figura 7. Fluxograma dos instrumentos ou testes pré-clínicos preditivos para o comportamento de novas drogas, em relação a ADME. Legenda: (FC) farmacocinética (DOWTY e colaboradores, 2011).

Nesta figura, temos no canto superior direito o recipiente final do processo, que é o próprio ser humano (neste caso, os participantes dos testes clínicos). As vias para se chegar ao mesmo podem ser diversas (descritas aqui conforme o início e o final da sequencia ilustrada, de baixo para cima): 1) diretamente dos modelos *in silico* (ou seja, realizado no computador, ou via simulação computadorizada), que, segundo a leitura do esquema, são as baterias iniciais dos testes pré-clínicos; 2) passando pelos ensaios *in vitro* de natureza químico-física (que visam analisar as propriedades das substâncias através de técnicas como a espectrometria, por exemplo); 3) ensaios *in vitro* e *ex vivo*, onde material biológico humano ou animal, de diferentes níveis de complexidade (órgãos, tecidos, células, enzimas, etc.) são utilizados nos experimentos; e, por fim, 4) em experimentos *in vivo*, onde o sistema de uma ou mais espécies animais não-humanas são empregados enquanto instrumentos de estudo farmacocinético[28]. É possível observar que neste fluxograma há caminhos que prescindem da etapa com animais, e que esta etapa é apenas uma das etapas possíveis no desenho experimental. No entanto, e como vimos, seu emprego é considerado como fundamental por muitos pesquisadores, conforme vimos no capítulo introdutório.

[28] Farmacocinética é basicamente o caminho que uma substância percorre no organismo, que está intimamente relacionado à ADME.

Uma pesquisa realizada por Munos (2009) revelou que a quantidade de novas drogas aprovadas pela FDA[29] no mercado permaneceu constante nos últimos 60 anos, apesar de terem ocorrido significativos aumentos dos investimentos nesta área. Segundo o autor, esse fato revela limitações nos processos de pesquisa e desenvolvimento destas substâncias, que podem ser avaliadas sob diferentes aspectos.

O custo do desenvolvimento de uma droga aumentou consideravelmente nos últimos 30 anos (MUNOS, 2009; RAWLINS, 2004). Dimasi e colaboradores (2003) estimaram o custo de lançamento de uma droga no mercado em torno de U$ 802 milhões. Outro estudo sugere que estes custos, entre 1989 e 2002, estavam entre U$ 500 milhões e U$ 2 bilhões, dependendo da terapia ou da companhia que desenvolvesse a substância (ADAMS e BRANTNER, 2006). Esta variação pode ser visualizada na figura abaixo. Dimasi e Grabowski (2007) estimaram o custo de produção de um biofarmacêutico[30] em U$1,241 bilhões para o ano de 2005. Segundo Rawlins (2004), todo o processo de pesquisa e desenvolvimento de uma droga deve ser revisto em termos de custos. Os custos da etapa pré-clínica representam pouco menos da metade do custo total de desenvolvimento de um fármaco (QUENTAL e SALLES-FILHO, 2006). Pela figura abaixo podemos calcular que, dependendo do estimado, o custo dos ensaios pré-clínicos representa cerca de 43% do total de investimentos. Em ambas as pesquisas consideradas neste cálculo, o tempo utilizado na etapa pré-clínica foi de 52 meses. Considerando o quadro 4, obtido de Spilker (2001, *apud* QUENTAL e SALLES-FILHO, 2003), a média de 78 meses para a etapa pré-cínica aumentaria consideravelmente este valor. Outro fator a ser considerado é o percentual de drogas que entram na etapa clínica: somente 1 em cada 1000 drogas, segundo dados de 2002 da *Food and Drug Administration* (ADAMS e BRANTNER, 2003), e corroborando o dado apresentado no quadro 4.

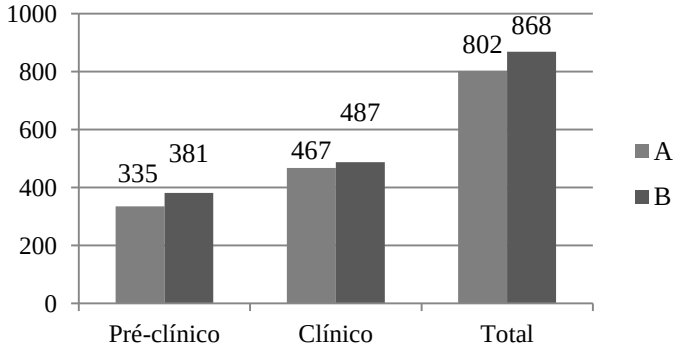

Figura 8. Custo estimado (em milhões de U$D) da produção de um fármaco até sua mercantilização. (A) Dimasi e colaboradores (2003); (B) Adams e Brantner (2006).

Sendo o custo diretamente relacionado ao tempo de desenvolvimento de uma droga, há que se considerar este fator. Em média, o tempo necessário para uma droga chegar ao mercado varia de 8 a 12 anos (LIPSKY e SHARP, 2001). Exceções podem ocasionalmente ocorrer, como no caso dos medicamentos para tratamento de pacientes com HIV. Neste caso, em 2008, 25 anos após o descobrimento do vírus, já tinham sido liberados 25 medicamentos para tratamento de pacientes infectados (DE CLERQ, 2009).

Uma preocupação entre cientistas é a aplicação de métodos mais sofisticados em testes para ADME, a fim de melhorar e acelerar o processo de desenvolvimento e descobrimento de novas drogas (LEBRE, 2011). Segundo Grass e Sinko (2002), atualmente não existem sistemas com uma predição acurada para humanos, e as decisões vem sendo tomadas através de instrumentos cujo potencial não pode ser verificado até a chegada dos resultados em testes clínicos, levando aos altos índices de fracasso historicamente observados, como veremos a seguir.

Segundo Lebre (2011), a maioria das drogas não alcança o mercado devido a problemas com a ADME. Para se ter uma idéia, entre 1964 e 1985, sete empresas farmacêuticas inglesas introduziram 49 novas drogas no

[29] Food and Drug Administration (FDA) – órgão governamental norte-americano de controle de segurança de drogas humanas e veterinárias, produtos biológicos, aparelhos médicos, alimentos, cosméticos e produtos radioativos.
[30] No caso, anticorpos monoclonais e proteínas recombinantes.

mercado, enquanto quase outras 200 tiveram que ser abandonadas no processo, sendo a farmacocinética inapropriada a principal razão para a interrupção da pesquisa (PRENTIS e colaboradores, *apud* PEREIRA, 2007a). Segundo Munos (2009), dados obtidos junto a companhias farmacêuticas indicam que a probabilidade de uma nova droga surgir a partir dos testes clínicos é de 11,5% - similar aos 10% estimado por Olson e Davies (2011). A inadequação da farmacocinética é constatada nos estudos pré-clínicos, e se dá principalmente em função do metabolismo, como explica PEREIRA (2007a):

> Como o metabolismo, particularmente, é responsável por muitas destas propriedades indesejáveis – por ex., a presença de metabólitos ativos ou tóxicos, o extenso metabolismo pré-sistêmico e a ampla variabilidade individual – a sua modulação, logo na fase pré-clínica, é de reconhecida importância para a seleção de compostos mais promissores (p. 176).

Schuster e colaboradores (2005) focaram nas razões para o abandono de projetos nas fases I-III, e para a retirada de fármacos entre os anos 1992 e 2002. Segundo esta pesquisa, a retirada do mercado de 90% das drogas se deu em função da sua toxicidade. Hepatotoxicidade e toxicidade cardíaca foram os maiores problemas identificados.

Olson e Davies (2011) alegam que este baixo índice de chegada de uma droga à comercialização é *normal,* sendo os principais motivos: (a) seletividade insuficiente; (b) complexidade dos alvos da doença; (c) tempo de retenção curto ou prolongado no corpo; (d) efeitos secundários e reações adversas; (e) biodisponibilidade baixa ou pobre; (f) competição de mercado; (g) falta de eficiência clínica; (h) de síntese complicada e (i) compostos instáveis. O processo de desenvolvimento de uma nova substância pode ser considerada como uma "seleção natural Darwiniana", segundo os autores. Observa-se que, para além da *normalidade* e da *naturalidade* deste empreendimento científico, uma boa parte dos motivos listados pelos autores é diretamente relacionado aos dados obtidos através de modelos animais: a variação da retenção da substância no organismo, sua biodisponibilidade e o surgimento de reações adversas são inferências e propriedades modeladas em animais, o que pode levar à sua baixa eficiência quando testada em humanos. Segundo Amir-Aslani (2008, p.905), "um dos maiores desafios na descoberta de drogas é precisamente predizer quais drogas novas serão associadas com uma incidência significativa de reações adversas". Desta forma, é significativa a posição expressa por autores como Coleman (2011b), segundo o qual a descoberta de novos medicamentos mais seguros e eficientes é dificultada, pelo menos em parte, devido a um excesso de confiança nas experiências baseadas em animais.

É também inegável a existência de um forte interesse por parte da sociedade na questão da predição e sua relação com o bem-estar e saúde humanos:

> Se os modelos animais são preditivos para as respostas humanas, deve haver uma sólida evidência para suportar esta afirmação. Se não são, então o público e os tomadores de decisão precisam repensar as formas nas quais os escassos recursos para a pesquisa biomédica são direcionados (SHANKS e GREEK, 2009. p.254).

Segundo Shanks e colaboradores (2009), a questão por trás deste debate é: quanto a sociedade está disposta a tolerar em relação aos riscos envolvidos com a predição? A situação de dois medicamentos recentemente tirados do mercado podem ajudar a quantificar o limite desta tolerância: Troglitazona e Rofecoxib.

A Troglitazona, medicamento utilizado para tratamento de diabéticos, apresentou indícios de danos hepáticos em alguns pacientes já no primeiro ano após sua comercialização, em 1997, danos estes que ocorriam semanas ou meses após o início do tratamento (WATKINS, 2005). Por este motivo, entre os anos de 1997 e 2000 ela foi retirada dos mercados britânico, japonês e norte-americano. "Centenas de pessoas morreram ou passaram por transplante de fígado por causa da troglitazona, e milhares mais tiveram sérios danos hepáticos como consequência", afirma Gale (2005, p.5). Chama a atenção que este número representa *menos de 1%* dos pacientes

expostos ao tratamento com este medicamento, que foi administrado a cerca de 1,5 milhões de pessoas, nos quatro anos em que foi comercializada.

O Rofecoxib foi lançado no mercado em 1999, com o nome comercial de Vioxx. Foi utilizado por mais de 80 milhões de pessoas como antiinflamatório, e foi retirado do mercado em 2004, devido ao aumento de risco de enfartos e derrames que provocou, em pacientes que usavam a droga por mais de 18 meses (TOPOL, 2004). Este risco já havia sido identificado anos antes da retirada da droga do mercado, em estudos clínicos nos quais constatou-se o aumento do risco de eventos cardíacos em aproximadamente *2,2% dos pacientes* observados clinicamente (JÜNI e colaboradores, 2004).

É certo que toda droga oferece riscos à saúde humana. No entanto, como vimos em ambos os casos acima, e de acordo com as críticas levantadas, a importância do valor-preditivo na etapa pré-clínica parece ser fundamental tanto para o desenvolvimento de uma droga como para sua exitosa comercialização. A seguir, veremos em mais detalhes a problematização sobre a questão do valor preditivo.

A complicação do valor preditivo

A eficiência preditiva dos testes pré-clínicos de toxicidade para humanos é um tema ainda em debate no meio científico (BAILLIE e RETTIE, 2011). Para muitos pesquisadores, é freqüente o caso de substâncias que foram exitosamente testadas em animais e que fracassaram na etapa clínica (REAGAN-SHAW e colaboradores, 2007; HACKAM e REDELMEIER, 2006). O argumento de que a confiável extrapolação inter-específica de dados não é cientificamente possível tem sido utilizado por muitos pesquisadores e profissionais da área médica (BAILEY, 2005). Segundo Lazzarini e colaboradores (2006), o papel dos modelos animais como um instrumento para melhorar a terapêutica humana ainda não é completamente definido. Rhomberg e colaboradores (2007, p.738) colocam a mesma dúvida em outras palavras: os ensaios com animais "oferecem dados que incorporam consideráveis incertezas em sua interpretação".

Para esta discussão, um maior aprofundamento sobre o termo *predição* se faz necessário. Este termo tem relação com o verbo predizer: "dizer ou anunciar com antecedência o que vai acontecer" (MICHAELIS, 2011). Segundo Shanks e Greek (2009), enquanto o termo predição, no senso comum, tem relação com adivinhações, na ciência ele tem relação com hipóteses. Segundo Sarewitz e colaboradores (2000), uma hipótese científica é testada comparando o que se espera ocorrer com o que de fato ocorre. Segundo Shanks e colaboradores (2009), no caso de modelos animais, o que de fato ocorre é o que acontece nos humanos.

> Os sistemas do modelo animal são estimulados (...) e dados do animal são coletados. Estes dados derivados do modelo animal, por si mesmos, não indicam nada sobre o curso do fenômeno humano. Os dados dos animais permitem ao pesquisador formar hipóteses – expectativas – sobre o que ele ou ela pensam que pode acontecer quando humanos são igualmente estimulados (...). Neste ponto, tudo que o investigador tem é uma hipótese sobre a resposta humana. (SHANKS e GREEK, 2009. p.251-252)

O teste de hipóteses é uma das principais características do empreendimento científico. Neste caso, continuam os autores, este teste exige estudos cuidadosos de humanos de forma que os dados obtidos dos próprios humanos possam ser comparados com os dados obtidos do modelo animal, corroborando, ou não, a hipótese.

Predições geradas de hipóteses nem sempre são corretas, afirmam Shanks e Greek (*op cit*). Espera-se que um modelo ou teste que se diz preditivo ofereça, no mínimo, mais respostas certas do que o contrário. Um modelo meteorológico que acerta a maioria de suas previsões tem um nível de predição aceitável. Se a predição falha mais do que acerta, então a teoria que fundamenta o modelo deveria ser revista ou refutada.

Existem vários exemplos de predição na ciência. Shanks e Greek (2009) oferecem alguns. Baseado na segunda lei de Newton, o matemático e astrônomo francês Urbain Le Verrier (1811-1877) predisse a existência de outro planeta no sistema solar a partir da identificação do desvio de órbita de Urano. Em 1846 Netuno foi identificado. Na biologia e medicina existem inúmeros casos desta natureza, mas um dos mais conhecidos foi o do médico húngaro Ignaz Semmelweis (1818-1865), que sugeriu que o alto índice de morte de puérperas[31] em um hospital era causado por estudantes de medicina que não lavavam suas mãos após a dissecção de cadáveres humanos. Com a higienização das mãos, o índice de morte caiu significativamente. Em ambos os casos, houve a verificação de uma hipótese a partir de algumas leis fundamentais.

> O fato de um modelo animal específico ser usado para predizer a resposta em humanos pode ser testado, e se os resultados tem um índice suficientemente alto de sensibilidade, especificidade, e valor preditivo positivo e negativo, então a hipótese de que animais podem predizer a resposta em humanos seria verificada (SHANKS e GREEK, 2009, p.255).

Aqui podemos adentrar numa discussão sobre os termos sensibilidade {S} e especificidade {E}, bem como valor preditivo negativo {VPN} e positivo {VPP}.

Os primeiros, {S} e {E}, são atributos de testes diagnósticos, e estão diretamente associados à qualidade destes testes. O quadro 5, abaixo, de acordo com Reis (1999), identifica as diferentes situações que podem resultar de um determinado teste, em relação a uma doença específica.

	POSITIVO	**NEGATIVO**	
Doente	Verdadeiro-positivo (VP)	Falso-negativo (FN)	Total de doentes (VP+FN)
Não-doente	Falso-positivo (FP)	Verdadeiro-negativo (VN)	Total de não doentes (FP+VN)
Total	Total de testes positivos (VP+FP)	Total de testes negativos (FN+NV)	

Quadro 5. Distribuição dos resultados de um determinado teste em relação à condição de doença, adaptado de Reis (1999).

Podemos então definir *sensibilidade*, de acordo com Reis (1999), como indicador da freqüência de resultados positivos em pacientes com uma doença particular, da seguinte forma: {S} = VP/VP+FN, onde VP corresponde aos resultados verdadeiro-positivos, e VP+FN ao total de doentes. Pode ser definida também como a probabilidade do teste dar o resultado correto, dado que o indivíduo é doente (MASSAD e colaboradores, 2004). Assim, quanto maior a sensibilidade, menor o número de falsos negativos. Já a *especificidade*, segundo Reis (1999), indica a freqüência de resultados negativos em pacientes sem a doença ({E} = VN/VN+FP). Aqui, quanto maior a especificidade, menor o número de falsos positivos.

Tanto a sensibilidade quanto a especificidade são valores inversamente proporcionais, e a finalidade do teste é que vai definir qual valor deve ser maior. No caso de triagem de doadores de sangue, por exemplo, a sensibilidade deve ser alta: deve-se considerar a incidência de falso-negativos, que podem mascarar os resultados

[31] Mulheres que deram à luz muito recentemente.

e provocar a transmissão de um vírus, por exemplo. Já no caso de resultado de exame ao doador de sangue, a especificidade deve ser alta: deve-se evitar o falso-positivo, sob pena de um diagnóstico errôneo (REIS, 1999).

O {VPP} é, segundo MASSAD e colaboradores (2004), a probabilidade de um indivíduo ter uma determinada doença dado que ele é positivo a um teste diagnóstico. Para se discriminar com precisão os doentes dos não-doentes é utilizado um teste padrão ouro (ou *gold standard*)[32]. O {VPN} é a probabilidade de um indivíduo ser sadio dado que tem um teste diagnóstico negativo. Na tabela acima, este valores podem ser obtidos através das seguintes equações, respectivamente: VP/VP+FP e VN/FN+VN.

Testes e modelos podem ser substituídos ou melhorados considerando estes valores. Para dar um exemplo, no diagnostico de anaplasmose[33] em bovinos, dois testes foram comparados em sua {S}, {E}, {VPP} e {VPN}: um sistema ELISA (Ensaio de Imuno-absorção Ligado à Enzima) e outro RIFI (Reação de Imunofluorescência Indireta). Os valores, respectivamente, foram: {E} 94,9%/71,8%; {S} 100%/100%; {VPP} 99,3%/96,4%; {VPN} 100%/100%. Temos, assim, valores diferenciados de especificidade e de valor preditivo positivo, sendo maiores no teste ELISA. A partir desta comparação, os autores sugerem que o uso do ELISA mostrou-se "com potencial utilidade para estudos epidemiológicos da anaplasmose" (BRAZ JUNIOR e colaboradores, 1997, p.543). Desta forma, é baseado nestes valores que se determina a utilização de um ou outro método de diagnóstico.

Portanto, se um método ou modelo é alegadamente preditivo, a resposta que ele deve oferecer deve ser mais correta do que o contrário. Segundo Shanks e colaboradores (2009), poucos testes têm {S}, {VPP} ou {VPN} de 100%, mas espera-se que um diagnóstico médico aceitável seja aquele com um {VPP} ou {VPN} entre 95 e 100%. O quadro 6 é bastante didático em relação à preditividade entre humanos e animais.

		Toxicidade animal observada	
		Sim	Não
Toxicidade humana observada	Sim	**Verdadeiro Positivo** Identifica com precisão os efeitos adversos em humanos	**Falso Negativo** Não identifica efeitos adversos em humanos; IMPORTANTE
	Não	**Falso Positivo** Má interpretação; perda potencial de novos medicamentos e terapias	**Verdadeiro Negativo** Identifica a ausência de efeitos adversos em humanos com precisão

Quadro 6. Análise da preditividade clínica em testes com humanos e animais (OLSON e DAVIES, 2011).

Como mostra o quadro acima, os quadrantes verdadeiro-positivo e o verdadeiro negativo representam concordância entre os estudos clínicos e pré-clínicos, significando que "um efeito tóxico clínico em um tecido alvo foi também identificado - ou predito - no modelo pré-clínico" (OLSON e DAVIES, 2011, p.14). Esta relação é crucial do ponto de vista da confiabilidade dos ensaios para a identificação da potencial toxicidade clínica. No entanto, os autores lembram que, ainda que haja ausência de um efeito tóxico nos ensaios pré-clínicos, isso não significa que não haverá toxicidade clínica, mencionando os casos de hepatotoxicidade, que podem ocorrer após anos de comercialização de um fármaco.

[32] O teste padrão ouro (ou gold standard) é um procedimento ou medida referência, amplamente aceito como sendo o melhor.
[33] Uma das principais enfermidades transmitida pelo carrapato *Boophilus microplus.*

A importância do valor preditivo

Para Dixit e Boelsterli (2007), a predição de reações adversas através do uso de modelos animais na etapa pré-clínica ainda é a meta principal no desenvolvimento de novas drogas e que, "apesar dos esforços feitos ao longo da década passada para incrementar a predição dos modelos animais, a predição não foi melhorada" (p.342). Para este incremento, os autores insistem na idéia de que a escolha do modelo animal deva ser feito com base nas similaridades farmacológicas e farmacocinéticas com os humanos.

Shanks e Greek (2009) concordam com a idéia de similaridade, especialmente entre mamíferos, apenas no período histórico inicial da pesquisa com modelos animais (século XVI-XVII), quando as comparações se davam em termos anatômicos e em uma fisiologia geral. Como colocam Alves e Colli (2006), citados anteriormente:

> em todos os vertebrados – humanos ou não – os rins filtram o sangue e formam urina, o estômago digere os alimentos, o pâncreas produz enzimas digestivas e assim por diante. Não podemos nos esquecer que todos eles descendem de um tronco evolutivo comum (p.26).

No entanto, segundo Shanks e Greek, atualmente estamos estudando doenças e respostas às drogas num nível em que diferenças biológicas são consideradas significativas até mesmo quando ocorrem entre gêmeos monozigóticos. Segundo os autores, "pequenas diferenças podem ser letais".

Segundo Shanks e colaboradores (2009), existem diversos motivos que explicariam respostas diferenciadas, entre humanos e animais, ao mesmo estímulo, uma vez que ambos são sistemas complexos: (a) diferenças genéticas entre os alelos presentes; (b) diferenças em relação a mutações no mesmo gene (onde uma espécie tem um gene ortólogo[34] a outro, encontrado em outra espécie); (c) diferenças em relação a proteínas e sua atividade, (d) na interação proteína-proteína; (e) diferenças na expressão gênica, (f) regulação gênica e (g) nas redes gênicas (como os genes influenciam uns aos outros); (h) diferenças na organização dos organismos; (i) diferenças na exposição ao ambiente; (j) diferenças em relação à história evolutiva de cada espécie. Afirmam os autores que estas diferenças não consistem em nenhuma surpresa, "considerando nosso presente nível de conhecimento em face da evo-devo[35], regulação e expressão gênica, epigenética, teoria da complexidade e genômica comparativa" (p.18).

Outros fatores que acentuam estas diferenças, quando comparados os contextos do humano e do modelo animal, são apresentados por Zbinden (1991), conforme o quadro abaixo.

Variáveis		**Animais**	**Humano**
Sujeitos	**Número**	Grandes grupos	Individual
	Idade	Jovens adultos	Todas idades
	Estado de saúde	Saudáveis	Geralmente doentes
	Status gênico	Homogêneo	Heterogêneo
Doses	**Magnitude**	Terapêutica a tóxica	Terapêutica

[34] Genes que codificam proteínas correspondentes em espécies distintas. Segundo Linden (2008, p.352), "Os genes que compartilham sequências de DNA são ortólogos se têm sequências tão similares que é provável que derivem de um mesmo ancestral".

[35] Termo referente à biologia evolutiva do desenvolvimento, que estuda como o desenvolvimento biológico se deu evolutivamente, e como mudanças no desenvolvimento impactaram sobre as mudanças evolutivas. As principais disciplinas envolvidas nesta linha de estudos são embriologia, genética e paleontologia. Para mais informações sobre este termo, ver Laubichler e Maienchein (2009).

	Plano	Geralmente 1/dia	Otimização terapêutica
Circunstância do tratamento	**Acomodação**	Uniforme, otimizada	Variável
	Nutrição	Uniforme, otimizada	Variável
	Terapia concomitante	Nunca	Frequente
Procedimento diagnóstico	**Contato verbal**	Nenhum	Intensivo
	Exame físico	Limitado	Extensivo
	Laboratório	Limitado, padronizado	Individualizado
	Tempo	Predeterminado	Individualizado
	Autópsia	Sempre	Excepcional
	Histopatologia	Ampla	Excepcional

Quadro 7. Variáveis entre animais experimentais e humanos (Zbinden, 1991).

Estas diferenças são consideradas também por Bass e colaboradores (2004). Segundo estes autores, as condições dos animais experimentais podem não refletir de forma apropriada as respostas em humanos em diferentes faixas etárias (como neonatos, adolescentes e idosos) e em condições de doenças crônicas. Tais "condições podem alterar a resposta farmacodinâmica a uma droga" (p.150). Para se ter uma ideia, mesmo as diferenças étnicas encontradas entre humanos vêm constituindo desafios para o comportamento de determinadas substâncias. Algumas bulas de remédio, por exemplo, já apresentam contra-indicação, ou indicação exclusiva, para pacientes afro-descendentes - como no caso do Cozaar (losartan postássico) e Bidil (hidralazina e dinitrato isossorbida), respectivamente. A farmacogenética (ou farmacogenômica) é uma área que vem se ocupando deste tipo de variação[36].

Martins e colaboradores (2010) fazem uma consideração similar a Bass e colaboradores (2004), mas em relação aos animais "controle" – os que são utilizados em desenhos experimentais servindo apenas como referência para a um ou mais grupos de animais experimentais. O "padrão" destes controles é composto por animais sedentários, com acesso contínuo à comida, e praticamente vivendo sem quaisquer estímulos ambientais. No caso dos animais utilizados em grupos experimentais, os autores afirmam que

> Os efeitos benéficos de algumas drogas em modelos animais podem resultar do seu efeito sobre processos associados com um estilo de vida não-saudável (maior estresse oxidativo, inflamações, resistência à insulina, etc.) ao invés de um efeito específico da droga sobre o processo da doença (p.6132)

Como afirmam Alden e colaboradores (2011):

> o mundo real da medicina inclui grande diversidade genética, doenças concomitantes, e um ambiente altamente variável, incluindo o status nutricional; estes fatores são difíceis de modelar em estudos com animais (p.11).

[36] Para saber mais, ver Kalow e colaboradores (2005).

Para Dambach e colaboradores (2005), os estudos de hepatotoxicidade enfrentam uma natureza idiossincrática entre as respostas fisiológicas encontradas nos humanos e nas espécies pré-clínicas, "conduzindo a uma predição limitada de reações adversas em humanos" (p.17). Para Senderowicz (2010, p.1722-1723), nos testes relacionados a hepatotoxicidade, levanta aspectos cruciais para as diferenças encontradas entre animais e humanos:

> 1. A natureza da lesão histopatológica pode diferir entre animais e humanos;
> 2. Potencial diferença metabólica entre as espécies (ex. N-acetilação);
> 3. Diferenças anatômicas entre espécies (ex. presença ou ausência de vesícula biliar) e fisiologia (ex. altos níveis de folato em camundongos);
> 4. Diferenças entre espécies nas respostas farmacodinâmicas (ex. afinidades de diferentes receptores, efeitos de drogas concomitantes em humanos);
> 5. Diferenças de tolerância entre espécies;
> 6. Efeitos adversos que só podem ser comunicados verbalmente pelo paciente, e que não são identificados no animal (ex. dor);
> 7. Efeitos adversos idiossincráticos no humano (metabolismo polimórfico, alergia) podem não ser verificados em animais devido a homogeneidade genética de linhagens isogênicas;
> 8. A modulação de atividade e/ou toxicidade pela patologia estudada não pode ser adequadamente investigada ou predita por estudos que foram conduzidos em animais saudáveis;
> 9. Toxicidades sub-agudas ou crônicas não podem ser identificadas em toxicologia ou farmacologia dirigidas ao desenvolvimento de novas drogas. Um exemplo recente foi o reconhecimento de que a imatiniba (e outros inibidores de tirosinoquinase) tem um tipo de sinalização química para o coração humano que não foi reconhecido nos estudos iniciais [com animais] dirigidos ao desenvolvimento de novas drogas.

É possível encontrar na literatura científica uma série de pesquisadores que reconhecem o pobre valor preditivo do modelo animal, mas que insistem na ideia de seguir com este tipo de abordagem, apostando em combinações de métodos ou no desenvolvimento de linhagens transgênicas. Este tipo de postura é encontrada, por exemplo, em Almir-Aslani (2008). Este autor elabora uma série de críticas em relação ao modelo animal, como podemos ver nestes trechos:

> Estes rigorosos estudos toxicológicos ainda não são capazes de evitar problemas de segurança durante o custoso desenvolvimento de drogas que se mostra durante a comercialização. Existe claramente uma necessidade de aprimorar os métodos e procedimentos de avaliação toxicológica também neste estágio final do desenvolvimento farmacêutico. Métodos convencionais para a avaliação de toxicidade de drogas não são apenas demorados, como também são muito caros (p.911-912).
>
> Resultados obtidos por mudança de expressão gênica[37] podem ser detectados de 1 a 3 dias de tratamento, ao contrário dos modelos animais que podem levar de 2 a 4 semanas para que estas mudanças ocorram. Com efeito, quando estudando a dosagem em animais, os *endpoints*[38] típicos são um amplo espectro de alterações fisiológicas como: química serológica, hematologia, histopatologia, mudanças de peso corpóreo e ingestão de comida[39] (...) Existem diferenças quantitativas nas relações de

[37] Referência à metodologia molecular de *microarray* , utilizada nos estudos de toxicidade, realizada *in vitro*. Para saber mais, ver Waring e colaboradores (2001).

[38] O endpoint é um desfecho da pesquisa, na forma da identificação de uma doença, sintoma ou sinal que constitui alguns dos alvos objetivados em um experimento ou ensaio.

[39] Hartung (2009a) comenta que testes com muitos *endpoints* podem facilmente induzir o pesquisador a associações sem relevância clínica: "quando muitos *endpoints* são estudados, associações positivas serão sempre encontradas" (p.209). Um estudo interessante foi realizado no Canadá por Austin e colaboradores (2006), e que ilustra bem este ponto. Mais de 10 milhões de residentes em Ontário, randomicamente selecionados, foram classificados de acordo com os signos do

> dose-resposta entre modelos animais e humanos. Embora exista um certo grau de similaridade nas rotas bioquímicas e moleculares de diferentes espécies, a resposta biológica à drogas pode certamente diferir entre as espécies (p.923).

O autor menciona a fala de Mervyn Turner, da indústria farmacêutica Merck, durante a Conferência Biopharm 2003, quando os conferencistas exploraram a razão da indústria farmacêutica estar gastando cada vez mais em pesquisa e desenvolvimento de drogas, com pouco retorno:

> Estamos gerando mais dados sem sermos mais exitosos. (...) Existe uma 'zona de caos' quando trabalhamos com o *in vivo*, e compreendemos muito pouco do que ocorre ali. Podemos perambular nesta zona por anos (SIGMAN, 2003, *online*)

Várias outras passagens mencionam problemas e limitações com o uso de modelos animais no desenvolvimento de novas drogas. E ainda que o autor mencione de forma positiva os vários tipos de métodos substitutivos atualmente empregados no processo de desenvolvimento de fármacos (que serão explorados na seção 5.3), ainda assim, é notável uma certa persistência nos sistemas *in vivo*. Após reconhecer que tais sistemas são caros, demorados e exigem uma grande quantidade de compostos, Almir-Aslani comenta que "modelos mamíferos são chaves na toxicologia preditiva. (....) ainda há situações em que o modelo animal é necessário" (p.922).

Em Barlow e colaboradores (2002) é também possível identificar esse tipo de abordagem. Ainda que os autores reconheçam como "clara" a necessidade de se utilizar animais em pesquisas, os próprios autores identificam alguns pontos problemáticos importantes de consideração, em algumas linhas específicas e métodos de pesquisa, quanto ao papel dos modelos animais em estudos de toxicidade em pesquisas com substâncias alimentícias. Por exemplo:

- testes de toxicidade aguda: apesar de apresentarem raras exceções, tem pouca relevância, pois os efeitos tóxicos agudos podem não ocorrer em doses significativas para a ingestão humana. Além disto, muitos efeitos adversos agudos de alimentos geralmente se manifestam em humanos de forma não passível de monitoração ou avaliação em animais. Os autores sugerem que estudos de tolerância em humanos (como efeitos gastrointestinais) sejam talvez o único método confiável.

- testes de dose-repetida: ainda que sejam métodos relativamente melhores, precisam ser investigados em relação à sua confiabilidade e variações de parâmetros clínicos obtidos dos animais.

- testes de toxicidade reprodutiva: existe a necessidade de uma fundamental compreensão das diferenças entre as espécies, no que diz respeito a sua neuro-endocrinologia reprodutiva, de forma a aumentar a relevância dos resultados para humanos.

- testes de neurotoxicidade: segundo os autores, há uma série de lacunas nesta área. Uma delas é a falta de uma compreensão sobre as diferenças interespecíficas quanto à suscetibilidade e manifestação de efeitos neurotóxicos.

- testes de carcinogenicidade: segundo os autores, "é atualmente reconhecido que os mecanismos pelos quais algumas substâncias induzem tumores em animais experimentais não são relevantes para humanos" (BARLOW e colaboradores, 2002, p.185). Neste sentido, os autores acreditam que o uso de animais transgênicos,

---

zodíaco. Com esta população, 223 causas mais comuns de hospitalização foram levantadas. Os signos com chances estatisticamente significativas de hospitalização foi o de Leão, por hemorragia gastrointestinal, e Sagitário, por fratura de úmero. Os autores do estudo concluíram que os testes de hipóteses múltiplas aumentam a chance de detecção de associações implausíveis. Segundo Hartung (2009a), nos estudos toxicológicos ocorre algo similar. Geralmente, são cerca de 40 *endpoints* em estudos de toxicidade de dose repetida, e cerca de 80 em estudos de toxicidade reprodutiva.

quando validado, “esperançosamente” (*ibid*) permitirá testes de carcinogenicidade mais específicos (veremos mais sobre isso, na seção 5.2.4.2).

- testes alergênicos: segundo os autores, não há um modelo animal adequado para este tipo de estudo.

De forma geral, segundo os autores, existe a necessidade de uma melhor compreensão do *background* do uso de modelos baseados em animais, incluindo os papéis que a genética, a saúde nutricional, o estágio de vida, etc., podem ter na variação de respostas tóxicas.

Camilleri (2008) afirma que, nos estudos sobre a Síndrome do Intestino Irritável (SII), os muitos modelos animais que se baseiam na indução de infecção (por nematóides) ou inflamação (por substâncias químicas), e inúmeros outros que procuram induzir o quadro de hipersensibilidade visceral, há uma dificuldade em extrapolar os dados obtidos nestes modelos com os estudos em humanos. Como uma das sugestões, o autor ventila a possibilidade de uma mudança de paradigma nos padrões de aprovação e vigilância de novas drogas, citando uma passagem de Fitzgerald (2004): “muita informação poderia ter sido obtida de estudos mecanísticos minuciosos em um número pequeno de pacientes e voluntários” (*apud* CAMILLERI, 2008. p.674)

Uma revisão do efeito de drogas anti-depressivas foi realizado por Borsini e colaboradores (2002), com a conclusão de que, com algumas poucas exceções, os modelos atualmente empregados não revelam os efeitos de ansiolíticos clinicamente eficazes, e que “o nome modelos animais de ansiedade deve ser usado com cautela” (p.136).

Segundo Belmaker e Agam (2008), nenhum modelo animal de depressão demonstra a variação de comportamento oscilante bastante característico deste quadro clínico. Citam o exemplo de receptores antagonísticos que demonstram atividade antidepressiva em modelos animais, mas com amplos resultados desapontadores nos ensaios clínicos. Os autores comparam a relevância dos modelos animais em estudos de depressão com os utilizados em estudos de estratégias neuroprotetoras em derrames, “nos quais numerosos achados em modelos animais não tem sido replicados em estudos com humanos” (p.54).

Coleman (2011a) aponta que a dependência generalizada em testes baseados em uma biologia não-humana, para determinar a segurança e eficácia de novos medicamentos, revela um pobre valor preditivo. Segundo o autor, “roedores, cães e mesmo primatas não-humanos, não têm se mostrado confiáveis em sua habilidade de predizer o comportamento das drogas em humanos” (p.1). No mesmo sentido, afirmam Baillie e Rettie (2011),

> As diferenças inter-específicas são mais regra que exceção, e com freqüência complicam a extrapolação de dados de animais para a situação humana. Ainda, polimorfismos genéticos no metabolismo de enzimas e moléculas transportadoras, em animais e humanos, podem resultar em grandes diferenças intra-específicas sobre o comportamento da droga, agravando o problema (p.15).

O gráfico abaixo (gráfico 10) pode ajudar a visualizar a falta de poder preditivo entre animais e humanos (HARRIS, 2006, *adaptado* por GRASS e SINKO, 2002). Nele, a biodisponibilidade de diferentes substâncias é comparada entre macacos, roedores e cães, em relação aos humanos. A biodisponibilidade pode ser definida, segundo Shanks e colaboradores (2009), como a quantidade/fração da substância que alcança a circulação sistêmica, e indica a velocidade e a extensão de absorção de um princípio ativo. Estes autores afirmam que a biodisponibilidade é o “determinante final do quanto uma droga se apresenta ao receptor ou sítio ativo” (p.6). Afirmam ainda que “algumas das substâncias que mostraram altos índices de biodisponibilidade em cães tiveram baixos níveis de biodisponibilidade em humanos, e vice-versa”. Portanto, não causa surpresa constatar, no gráfico abaixo, um padrão disperso, do tipo encontrado em associações randômicas.

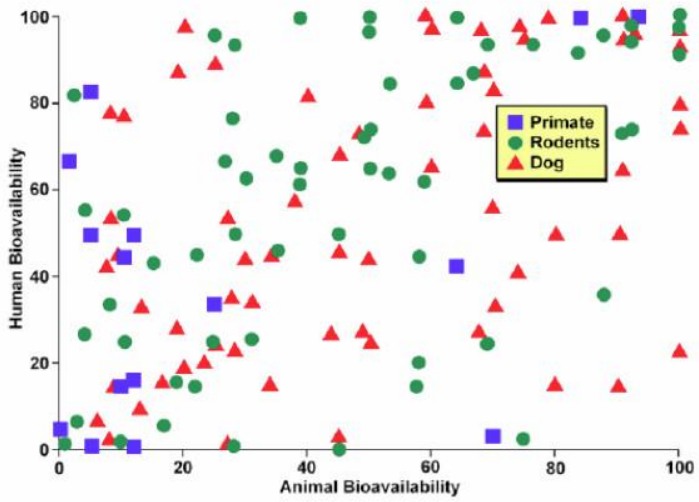

Gráfico 10. Gráfico comparativo da biodisponibilidade de diferentes substâncias entre animais e humanos (*adaptado* de GRASS e SINKO, 2002 por HARRIS, 2006).

Um outro aspecto que ainda merece discussão é o do alegado aumento do poder preditivo que pode ser alcançado considerando-se a utilização animais transgênicos, quimeras humano-animais ou primatas não-humanos. Este tópico será debatido mais adiante, ainda neste capítulo.

O recurso da predição retrospectiva

O recurso da *predição retrospectiva* é também amplamente utilizado na literatura, como justificativa para se atribuir valor preditivo aos modelos animais, e consiste numa manipulação (ou seleção conveniente) de dados a partir do resultado de testes positivos de correlação (SHANKS e GREEK, 2009). Segundo Barlow e colaboradores (2002)

> As respostas espécie-específicas em animais (...) são geralmente identificadas como tal depois de esforços intensivos de pesquisa, de forma que nosso conhecimento sobre elas permanece limitado, enquanto que nosso conhecimento sobre a possível insensibilidade de modelos animais deriva principalmente de pesquisas *post-hoc* a partir de episódios ocasionais de intoxicação humana não previstos (p.150)

Um famoso manual sobre modelos para pesquisa biomédica entende o valor preditivo retrospectivamente, como neste fragmento:

> Não é possível oferecer regras gerais confiáveis para a validade de extrapolação de uma espécie para outra. Isto deve ser acessado individualmente para cada experimento e pode ser verificado *após* os primeiros ensaios na espécie alvo (HAU, 2008, p.6, grifo meu)

Para Bailey (2005, p.236), os experimentos devem ser preditivos para a situação humana, para que sejam justificados cientificamente, de forma a "oferecer informações possíveis de tradução para a clínica". No entanto,

> Muitos estudos oferecem apenas "confirmações experimentais" fortuitas de dados clínicos humanos previamente conhecidos, ou são agraciados quando se correlacionam retrospectivamente com estudos humanos (BAILEY, 2005. p.236)

Para entender esse recurso, o conhecido caso da talidomida merece análise, pelo papel histórico que representa. Alega-se que este medicamento, comercializado inicialmente com o nome de Grippex e logo após Contergan, não foi devidamente testado em animais para efeitos de natureza teratogênica, e que o exemplo deste medicamento está mais relacionado à má-ciência (especificamente às práticas desonestas da indústria farmacêutica). Sobre o primeiro aspecto, Saldanha (1994) comenta:

> O conhecimento médico da ação teratogênica de substâncias químicas até 1961 se limitava a um certo número de medicamentos utilizados na experimentação teratológica de centros universitários e de investigação pura. Os animais utilizados pela ciência experimental daquela época quase que se restringiam a linhagens de ratos de laboratório e mais raramente aves, porcos e camundongos (p.452)

Segundo este autor, a dificuldade em detectar a teratogenicidade da talidomida decorreu de uma metodologia científica inadequada para a época. Ainda assim, o exemplo deste medicamento é válido para a discussão sobre o recurso da predição retrospectiva.

A talidomida foi introduzida no mercado ao final da década de 50 para tratar do enjôo de mulheres grávidas, e foi retirado em 1961, após vitimar dezenas de milhares de filhos das mulheres grávidas que consumiram o medicamento, com amelia (ausência de membros) ou focomelia (encurtamento dos membros junto ao tronco do feto, com ausência total ou parcial das mãos, pés e/ou dos dedos), além de problemas auditivos, visuais, cardíacos e outros. Após esta tragédia, muitos estudos foram realizados, e conseguiram de fato identificar ocasionalmente processos teratogênicos em algumas espécies de animais (SCHARDEIN, 1976), especialmente em primatas (ROGERS e KAVLOCK, 2008) - conforme exposto no quadro 8, abaixo. O caso da talidomida contribuiu para o reforço da regulamentação dos testes em animais - fato irônico para alguns autores (SHANKS e GREEK, 2009; ROGERS e KAVLOCK, 2008), uma vez que apresenta um padrão bastante complexo em várias espécies. De fato, a tragédia da talidomida provocou uma política que estimulou a ampliação dos estudos pré-clínicos em mais linhagens de animais, afim de se evitar que outras tragédias como esta ocorressem. A talidomida foi a última grande tragédia registrada na história da biomedicina. A lógica *post hoc ergo prompt hoc* ("depois disso, logo causado por isso"), um argumento considerado falacioso por Shanks e colaboradores (2009), alega que estes testes foram os responsáveis pela eliminação de tragédias como a da talidomida. Uma relação simplesmente temporal não basta para que um fato seja comprovado. Outros fatores precisam ser considerados. No caso da talidomida, há que se considerar uma maior educação da sociedade em relação às conseqüências que drogas podem trazer aos fetos, e a derrubada do mito de que a teratologia ocorria dependente de sinais de toxicidade materna para os toxicologistas da época (SHANKS e colaboradores, 2009; FRANKOS, 1985).

	Espécie/linhagem	**Dose (mg/kg)**	**Resultados**
Camundongo[a]	CF1, ICR, SJL,CBA, C57	200	(-) sem mudanças fetais. Apenas remodelações fetais nos camundongos ICR tratados com placebo
Rato[a]	Long-Evans e Dunning-Fischer	150	(-) sem mudanças fetais significativas
Hamster[a]	-	150	(-) sem mudanças fetais significativas
Coelho[a,d]	New Zealand White/Himalaia	50, 150 e 300/50-450	(+) anomalias fetais dose-dependentes
Macaco[b,c]	*Cercopithecus aethiops/Macaca*	(?)/150	(+) defeitos nos membros/artrogripose,

	mulatta		micromelia, ausência de dedos
Humano[e]	*Homo sapiens*	0,5-1	(+) amelia, focomelia, problemas auditivos, cardíacos

Quadro 8. Respostas de diferentes espécies à talidomida. (a) Fratta e colaboradores, 1965; (b) Hendrickx e Sawyer, 1978; (c) Drobeck e colaboradores, 1965; (d) Lehman e Niggeschulze, 1971; (e) Newman e colaboradores, 1993.

Segundo Shanks e colaboradores (2009), o recurso da *predição retrospectiva* justifica a modelagem animal como prescritiva a partir da identificação apenas dos resultados positivos aos testes de correlação, tomando como base a resposta clínica já observada em humanos. É um recurso *a posteriori*, onde os animais das pesquisas do quadro acima foram utilizados para simular *retroativamente* os efeitos da talidomida. Como exemplificam os autores:

> Espécies distintas demonstraram uma grande variedade de respostas à talidomida. (…) Se você aposta em vários cavalos você provavelmente encontrará um vencedor, ou se você seleciona os dados você encontrará um vencedor. No presente caso da talidomida, os efeitos humanos já eram sabidos, então selecionar os dados é fácil (p.10).

Os autores perguntam: sem o conhecimento prévio da resposta em humanos, qual das espécies acima seria preditiva para a talidomida, em humanos? Segundo os autores, não seria possível saber. Há muitos estudos que evidenciam diferenças inter-específicas significativas no metabolismo e na teratogenicidade da talidomida (TEO e colaboradores, 2000). Mas considerando a hipótese de que todas as espécies do quadro acima tenham sinalizado positivamente à talidomida, ainda assim não se poderia afirmar que estes animais são preditivos para a resposta em humanos, pois as mesmas espécies demonstraram variar suas respostas em função da substância que estava sendo pesquisada. A alternativa seria considerar os primatas como os modelos mais preditivos para os estudos sobre teratogênese, como várias pesquisas passaram a sugerir (SCHARDEIN e colaboradores, 1985). Neste caso, considerando hipoteticamente que todas as espécies de primatas tenham respondido positivamente à talidomida, ainda assim os testes com outras substâncias teratogênicas mostraram que o valor preditivo para os humanos é de aproximadamente 50% (SHANKS e colaboradores, 2009; BAILEY, 2005). Schardein e colaboradores (1985) alegam que, ainda que para algumas substâncias (incluindo a talidomida) os estudos com primatas tenham boa correspondência com a resposta em humanos, o mesmo não pode ser demonstrado para substâncias químicas que são teratogênicos em humanos. Segundo estes autores, "apenas oito de quinze teratógenos humanos tiveram efeitos teratogênicos em uma ou mais espécies de primatas" (p.56).

Uma pesquisa realizada por Nau (2001) demonstrou que a isotretinoína, fármaco utilizado principalmente para o tratamento da acne, causa defeitos teratogênicos em coelhos, macacos e humanos, mas não em ratos ou camundongos[40]. Uma pesquisa de Brown e Fabro (1983, *apud* ISOHERRANEN e BURBACHER, 2007) revisou 165 drogas que eram reconhecidamente não-teratogênicas em humanos. Os testes com primatas identificaram corretamente 80% das drogas que não eram associadas a defeitos congênitos, seguidos dos testes com coelhos, ratos e camundongos. Na mesma pesquisa, 38 drogas que eram reconhecidamente teratogênicas em humanos foram também testadas. As espécies mais sensíveis foram: porquinho-da-índia, camundongo, rato, coelho e primatas, sendo estes dois últimos igualmente sensitivos. Segundo os pesquisadores, "o modelo do camundongo identificou cerca de 85% dos teratógenos humanos, enquanto os primatas não-humanos identificaram aproximadamente 30%" (p.331). Isoherranen e Burbacher (2007) suspeitam que a baixa taxa de concordância dos primatas humanos se dê em função de uma baixa amostragem destes animais, nos experimentos descritos.

[40] O medicamento baseado neste fármaco e comercializado com o nome de Accutane (da farmacêutica Roche) foi retirado do mercado em 2009 por provocar uma doença inflamatória intestinal. No Brasil, porém, as formas genéricas continuam sendo vendidas normalmente.

Mesmo considerando esta suspeita, segundo Bailey (2005) existem escassas evidências de sucesso na extrapolação de dados obtidos de primatas não-humanos para humanos - como veremos mais adiante.

Sensibilidade e predição

De acordo com Shanks e colaboradores (2009), outra estratégia para selecionar dados de forma conveniente a fim de provar a idéia de que modelos animais respondem de forma aproximada a humanos, é confundir *sensibilidade* com *predição*. Muitos estudos mostram que os animais são muito sensíveis às substâncias, mas pouco específicos. Segundo Schardein e colaboradores (1985, p.55), "nenhuma espécie se distinguiu claramente como sendo mais vantajosa na detecção de teratógenos humanos". Mesmo no caso dos primatas, alega-se que mais estudos são necessários para avaliar o potencial deste modelo em testes teratogênicos pré-clínicos (ISOHERRANEN e BURBACHER, 2007). Há uma lei nos estudos de teratogênese denominada "lei de Karnofsky", que é bastante pertinente neste momento. Seu enunciado é: qualquer substância pode ser teratogênica se administrada na espécie correta, na dose certa, e no momento correto (HOFFMAN, 1995).

> Animais enquanto grupo são extremamente sensíveis para a carcinogenicidade e outros fenômenos biológicos. Teste centenas de linhagens ou espécies e é muito provável que uma responderá como humanos. Mas a *especificidade* é muito baixa; assim como o *valor preditivo positivo e negativo* (SHANKS e COLABORADORES, 2009, pg.18, grifo meu).

Segundo Greek e Shanks (2009), a *sensibilidade* para os testes de carcinogenicidade e teratogenicidade pode ser alta em animais de laboratório, mas este dado isolado perde o sentido ao não se considerar a especificidade, ou os valores preditivos positivo e negativo, como observado nestas duas últimas pesquisas. Uma revisão sobre os estudos de carcinogenicidade pode ilustrar melhor este ponto, como veremos a seguir.

Toxicologia preditiva: uma revisão sobre o Ensaio com Roedores

Como vimos no capítulo inicial, dentre os animais mais utilizados, estão os roedores. Esta e as próximas três sessões do presente trabalho serão desenvolvidas tendo como foco o uso destes animais.

Um dos ensaios mais utilizados na pesquisa toxicológica é o *Lifetime Rodent Bioessay* (LRB ou RB), um ensaio de toxicidade crônica amplamente empregado na avaliação de riscos de substâncias (incluindo fármacos). É considerado um *teste padrão ouro* (gold standard) para estudos de carcinogênese em humanos (no que se chama de *toxicologia preditiva*), e sua utilização já data mais de 40 anos (LEBLANC, 2010). Dados obtidos dos RBs vêm sendo utilizados para encaminhamentos de uma crescente diversidade de questões relacionadas à avaliação de riscos à saúde humana, e são um componente integral dos protocolos de pesquisa na avaliação de aditivos alimentares, pesticidas, fármacos, químicos industriais e outros subprodutos (RHOMBERG e colaboradores, 2007).

Segundo Long (2007), a idéia por trás do teste é a de expor os roedores (ratos e camundongos) a doses relativamente altas de uma substância teste por um longo período de tempo (geralmente 2 anos), avaliar os efeitos desta exposição e, por extrapolação, determinar a dose segura de exposição na população humana. Segundo Rhomberg e colaboradores (2007), um único ensaio com roedores pode ter uma série de objetivos: (a) identificação de riscos (como no caso de efeitos crônicos, que podem ou não incluir carcinogenicidade); (b) caracterização dos padrões de resposta-exposição em diferentes dosagens; (c) coleta de informação sobre o mecanismo ou modo de ação da substância; (d) definição de uma exposição-limite para o efeito em análise. A avaliação de risco, neste sentido, envolve uma compilação de informações diversas da relação exposição-resposta, e

> é baseada no conhecimento potencial ou factual sobre a exposição humana a uma substância em particular, assim como o entendimento da relação entre diferentes

> níveis de exposição e o desenvolvimento de efeitos adversos sobre a saúde – ou seja, a relação exposição-resposta (isto é, dose-resposta) (RHOMBERG e colaboradores, 2007. p. 734)

Segundo os mesmos autores, a seleção das doses apropriadas nos experimentos crônicos com animais é um dos elementos cruciais da investigação de novas substâncias. A avaliação de risco destas substâncias conta atualmente com um grande número de informações biológicas (como mecanismos de ação, efeitos em humanos, toxicocinética, etc.), e um dos grandes desafios é assimilar este conhecimento de forma a tornar esta avaliação cada vez mais embasada cientificamente (RHOMBERG e colaboradores, 2007; LONG, 2007).

> Um teste é considerado "positivo" para carcinogenicidade (ou seja, pode ser capaz de produzir câncer em humanos) se existe um aumento estatisticamente significativo no número de tumores em animais tratados, quando comparados com animais controle (LONG, 2007. p.554)

Segundo Creton e colaboradores (2011), estes testes costumam utilizar, para cada substância testada, um grande número de animais (de 600 a 800), podem exigir o exame histopatológico de mais de 40 tecidos (o que consome bastante tempo) e podem custar mais de U$D 1 milhão. Ainda que estes testes não tenham por objetivo desenvolver fármacos em pesquisas que visem tratamento de câncer, e sim testar/avaliar a biosegurança de determinadas substâncias químicas (comercializadas ou não), o princípio deste ensaio segue a idéia da predição e da analogia, como observado por Fung e colaboradores (1995):

> substâncias que inequivocamente induzem câncer em animais de laboratório, especialmente em múltiplas espécies, devem ser considerados capazes de causar câncer em humanos (p.682).

Estes princípios também são encontrados em Long (2007), ao estabelecer aqueles que fundamentam os testes: (a) os efeitos produzidos em um animal de laboratório, quando propriamente estudados, são extrapoláveis para humanos e (b) a exposição de animais experimentais a altas doses de substâncias tóxicas é um método válido para a descoberta de possíveis substâncias prejudiciais ao ser humano.

Apesar dos crescentes avanços tecnológicos das últimas décadas, pouco deste método se alterou no campo da toxicologia. Referindo-se à toxicologia, Hartung (2009) afirma que "não existe praticamente nenhum outro campo científico onde os principais protocolos experimentais permaneceram os mesmos por mais de 40 anos" (p.208). Hartung estima que os experimentos com animais nos estudos toxicológicos consumam cerca de U$S 2,1 bilhões anuais, e poucos estudos tem avaliado a precisão dos modelos animais empregados nestes experimentos (HARTUNG, 2009a).

A questão da validação do RB é discutida por alguns autores. Segundo Long (2007), o ensaio com roedores nunca foi formalmente validado com os mesmos padrões com os quais estão se exigindo a validação de outros testes. A validação visa otimizar tais métodos e assegurar que ensaios gerem dados adequados para decisões de natureza regulatória (STOKES e WIND, 2010). Segundo Worth e Balls (2004), trata-se de um

> processo pelo qual a relevância e confiabilidade de um método são estabelecidos para um propósito específico. No contexto de um método substitutivo, a relevância se refere à fundamentação científica do sistema de teste, e a capacidade preditiva de um modelo preditivo associado, enquanto que a confiabilidade refere-se à reprodutibilidade dos resultados do teste, dentro e fora do laboratório, e ao longo do tempo (p.624).

Ainda que o RB seja bastante empregado nos estudos de toxicologia, uma revisão na literatura indica que não há consenso formado sobre a relevância destes ensaios nos estudos de carcinogenicidade em humanas. A seção a seguir explora a argumentação dos pesquisadores que questionam este teste.

A complicação do ensaio com roedores

Ainda que Tennant e colaboradores (2001) afirmem que inúmeros ensaios com roedores têm sido exitosos na identificação de carcinógenos humanos, Ennever e Lave (2003) consideram que muitos toxicólogos são céticos em relação à relevância deste ensaio para a *predição* de câncer em humanos, representando atualmente um dos maiores desafios para os toxicólogos (LEBLANC, 2010). Segundo Rhomberg e colaboradores (2007), a questão por trás destes ensaios é geralmente de natureza qualitativa, uma vez que se investiga a possibilidade de uma substância causar ou não tumores em um animal. No entanto, mais do que uma resposta sim/não para algumas hipóteses, os ensaios com animais "oferecem dados que incorporam consideráveis incertezas em sua interpretação" (p.738).

Uma das maiores críticas aos RBs é a falta de informação sobre os mecanismos de ação gerados nos experimentos. Sem este conhecimento, "a determinação da relevância dos achados com roedores, para a avaliação de risco em humanos, é incerta" (MORTON e ALDEN, 2011, p.715). Segundo Ennever e Lave (2003), o RB carece de validação científica por uma série de motivos.

> (...) ninguém conhece a precisão deste teste. A precisão foi assumida como alta por alguns toxicólogos desprovidos de dados. Muitos toxicólogos foram céticos, mas não tinham uma alternativa melhor. O problema foi incrementado ao descartar teorias e outros testes porque falharam na predição de câncer em roedores (p.55)

Apesar da sensibilidade deste teste ser alta, são constatados muitos falso-positivos (substâncias que causam câncer em roedores, mas não em humanos) e falso-negativos (substâncias que causam câncer em humanos, mas não em roedores) (ENNEVER e LAVE, 2003; MEEK e colaboradores, 2003; VRIES e colaboradores, 2004; COHEN, 2004; HOLSAPPLE e colaboradores, 2006; BOOBIS e colaboradores, 2009). Ainda, aumentar o número de espécies nos ensaios de toxicidade pode aumentar a sensibilidade do teste, mas aumenta-se também o número de falso-positivos (HARTUNG, 2009a). O surgimento de tumores espontâneos nos animais (com uma taxa altamente variável) "diminui a sensibilidade e aumenta a chance de respostas falso-positivas ocorrerem ao acaso" (ALDEN e colaboradores, 2011, p.11). No entanto, segundo Long (2007), os falso-negativos são muito menos desejáveis do que os falso-positivos, pois mascaram carcinógenos que são potencialmente mais perigosos à saúde humana.

De fato, carcinogênicos em humanos tem uma boa chance de serem carcinogênicos em pelo menos uma espécie animal. Rall (2000) afirma:

> Todo carcinógeno humano é carcinogênico em animais de laboratório, e quase todos carcinógenos animais para os quais há exposição em humanos, quando analisados por estudos epidemiológicos, mostram respostas que não são estatisticamente diferentes (p.119).

Ashby e Purchase (1993) já haviam chegado à mesma conclusão, ao especular que toda substância eventualmente apresenta alguma atividade carcinogênica se testada em várias linhagens de roedores. Davies e Monro (1995) identificaram que quase 42% dos medicamentos comercializados para fins humanos tiveram resultados carcinogênicos positivos em ratos e camundongos.

No entanto, é notável a variação entre as espécies, e este fato diminui, ou mesmo impede, que se estenda e extrapole os resultados de testes realizados com um animal, para outro, e entre eles para os humanos. No estudo de Davies e Monro (1995), já mencionado acima, das substâncias positivas testadas tanto em ratos como camundongos, 39 de 72 (54,1%) foram positivas em ambas as espécies, 22 foram positivas apenas em ratos (30,5%), e 11 positivas apenas em camundongos (15,3%). Outra pesquisa revelou que 40% dos aditivos alimentares comercializados são cancerígenos em um ou mais grupos de roedores (JOHNSON, 2002). Até o sal (NaCl) provocou tumores no estômago em 30% dos ratos experimentados (SHIRAI e colaboradores, 1984). Coggins (1998) analisou 14 experimentos sobre carcinogenicidade com roedores expostos à fumaça de cigarro, e nenhum obteve qualquer

tipo de correspondência ao que se observa epidemiologicamente com humanos. Curiosamente, a fumaça de cigarro só foi identificada muito recentemente como carcinogênica em roedores, apesar da inequívoca evidência dos estudos epidemiológicos em humanos (MAUDERLY e colaboradores, 2004; HUTT e colaboradores, 2005).

Tais discrepâncias, no entanto, parecem ainda não abalar as consagradas práticas de experimentação com esses animais, existindo até mesmo um aforismo irreverente na biologia conhecido como lei de Morton, segundo a qual "se ratos são experimentados, eles desenvolverão câncer" (SHANKS e GREEK, 2009, p.268).

Corpet e Pierre (2005) fizeram uma revisão do valor preditivo de ratos e camundongos para o desenvolvimento de tumores de colon, a partir de quatro agentes: aspirina, beta-caroteno, cálcio e farelo de trigo. Os resultados demonstram que os modelos roedores "grosseiramente predizem efeitos em humanos, mas a predição não é precisa para todos os agentes [investigados]" (p.1911).

Knight e colaboradores (2006) realizaram uma pesquisa a partir da lista da Agência Internacional de Pesquisa sobre o Câncer (IARC), da Organização Mundial da Saúde (OMS). A pesquisa mostrou que o valor preditivo positivo (VPP) dos ensaios com animais para carcinogênese em humanos foi de 20,7%, e o valor preditivo negativo (VPN)[41] foi de 79,3%.

Uma revisão com 533 substâncias farmacêuticas ativas foi realizada recentemente por Alden e colaboradores (2011). Conforme pode ser visto na figura 9, destas substâncias, 287 (54%) foram testadas em roedores, para estudos de carcinogenicidade, e destas, 161 (ou seja, 56%) tiveram resultado positivo, e 126 negativos. Ao todo, das 533 substâncias, foram identificadas 78 (15%) com alto potencial de câncer em humanos: 32 (41%) testaram positivo no RB, 12 (15%) negativo e 34 (44%) não foram testadas. Na figura abaixo podemos verificar que a sensibilidade foi de 73% (32/44), mas a predição positiva foi de apenas de 20% (32/161), enquanto que a predição negativa atingiu 90% (114/126) e taxa de falso-positivos foi de 80% (129/161).

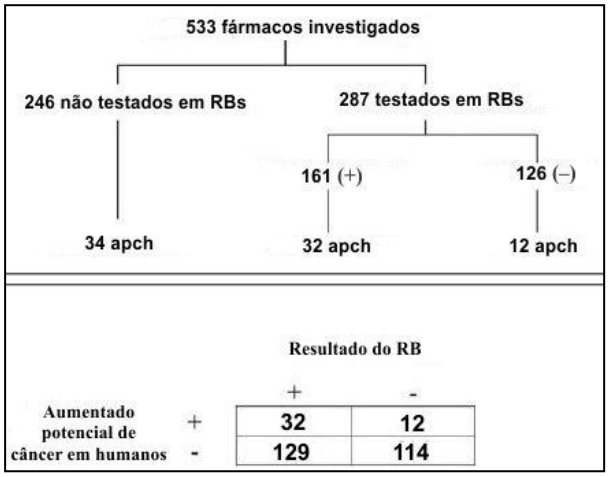

Figura 9. Avaliação da eficiência do RB (rato e camundongo) considerados conjuntamente. Legenda: (apch) aumentado potencial de câncer em humanos; (RBs) ensaios com roedores (baseado em ALDEN e colaboradores, 2011).

Segundo os autores, a taxa de falso-positivos (considerada como hipotética) é preocupante: "várias drogas são geralmente reconhecidas como seguras para humanos (não carcinogênicas), mas causam respostas carcinogênicas em RBs" (p.782). Os autores dão o exemplo do fenobarbital, o tumorígeno mais potente (e estudado) em roedores, mas que não apresenta efeito carcinogênico em humanos. Para os autores, "a maioria das respostas específicas em roedores acontecem por mecanismos desconhecidos" (idem). Este fato, além de gerar uma "desconfiança generalizada da relevância e confiabilidade dos testes de carcinogenicidade na predição de

[41] Como vimos anteriormente, VPP é a probabilidade de um indivíduo ter uma determinada doença dado que ele é positivo a um teste diagnóstico, e o VPN a probabilidade de um indivíduo ser sadio dado que tem um teste diagnóstico negativo.

efeitos em humanos" (idem), permite à indústria farmacêutica questionar o valor de investimentos substanciais em pesquisas de carcinogênese com roedores, como etapa do desenvolvimento de drogas.

Em uma ampla e recente revisão, Sistare e colaboradores (2011) avaliaram ainda a predição dos ensaios com roedores em 182 fármacos (comercializados e não comercializados), e concluíram que há pouco valor nestes ensaios. Este estudo, a exemplo de outros (COHEN, 2004, 2001a, 2001b, e outros), vêm ventilando uma proposta de substituir o ensaio com ratos convencionais por ensaios com outros roedores (especialmente camundongos transgênicos), com uma amostragem e um tempo de duração menor, baseado em algumas evidências (neoplasia, perturbação hormonal e genotoxicidade). Esta proposta se formula através da comparação da predição dos RBs com outros modelos *in vivo*, e tem o potencial de eliminar mais de 40% dos ratos utilizados nestes ensaios.

No entanto, como conclui Leblanc (2010, p.600), "deve-se ter em mente que o objetivo final não é predizer a carcinogênese em ratos, mas sim predizer o risco de carcinogênese em humanos". Ainda segundo este pesquisador, a dificuldade com esta proposta é a definição do que se entende por "evidência de neoplasia", e qual a duração necessária de um estudo para que esta seja evidenciada.

Bugelski e colaboradores (2010), ao analisar criticamente as abordagens pré-clinicas como potenciais identificadoras de neoplasia em humanos, pelo uso de drogas imunosupressoras, além de concluir a baixa eficácia do RB, sugerem que mesmo com o uso de transgênicos, "a determinação de risco para pacientes é ainda problemática para substâncias de baixo peso molecular e proteínas terapêuticas" (p.456).

Segundo Ennever e Lave (2003), a interpretação de indução de câncer em roedores varia de acordo com o que se considera como *positivo* (ou seja, a capacidade de provocar câncer em humanos): se o positivo ocorre em apenas uma espécie ou grupo de roedores, ou se ocorre em mais de uma espécie. Por exemplo, num estudo com 133 substâncias listadas pelo National Toxicology Program (NTP), nos Estados Unidos, 22% das substâncias podem ser consideradas carcinogênicas se identificadas em pelo menos uma espécie; mudando o critério para a ocorrência em mais de uma espécie, esta proporção cai para 6,8% (FUNG e colaboradores, 1995). O mesmo programa testou 10 substâncias carcinogênicas humanas nos ensaios com roedores (JOHNSON, 2001). De 6 substâncias testadas em ambas espécies, 3 foram positivos, 2 discordantes e 1 não causou câncer em nenhuma espécie (ver quadro 9). Long (2007), ao questionar o que faz mais sentido - considerar a presença de tumores apenas em uma espécie, ou considerar nas duas -, analisa este dilema. Como visto anteriormente, camundongos e ratos são as espécies com maior similaridade genética entre si, do que com qualquer outra espécie, quando comparadas ao homem. Ainda assim, com uma mesma substância, ratos podem desenvolver tumores, mas camundongos não (e vice-versa). A lógica leva a crer que a ocorrência de tumores em ambas as espécies, a partir de uma determinada substância, é potencialmente mais indicativa da ocorrência de tumores em humanos (LONG, 2007). No entanto, utilizando-se este critério, a sensibilidade dos testes com roedores é de apenas 50% entre as substâncias listadas abaixo, de acordo com o quadro a seguir.

Carcinógeno humano	**CR**	**CM**
Tiotepa	(+)	(+)
Benzeno	(+)	(+)
Benzidina e tintura	(+)	(+)
1,3-Butadieno	NT	(+)
Óxido de etileno	NT	(+)
8-Metoxipsoraleno	(+)	NT
Compostos a base de níquel	(+)	(–)

Asbestos	(+)	NT
Talco	(+)	(–)
APC (Aspirina/Fenacetina/Cafeína)	(–)	(–)

Quadro 9. Resultado de ensaios com roedores, com substâncias conhecidamente carcinogênicas em humanos, realizado pela NTP. Legenda: (CR) Carcinogenicidade em ratos; (CM) carcinogenicidade em camundongos; (NT) Não testado (baseado em JOHNSON, 2001).

A alegada precisão do RB pode ser questionada através destes dados, obtidos com as 10 substâncias reconhecidamente carcinogênicas em humanos – o que pode ser problemático pela baixa amostragem, mas que, segundo Ennever e Lave (2003), foi a melhor fonte que estava ao alcance, na época[42]. A partir desta análise, pode-se inferir que a sensibilidade do teste foi diferente em duas situações: (situação A) 90% (5/6), considerando-se os positivos em *pelo menos* uma espécie; (situação B) 50% (3/6), considerando-se os positivos em pelo menos duas espécies. Temos, respectivamente, um potencial de 10% e 50% de falso negativos.

Ennever e Lave (2003) afirmam que a precisão de um teste necessita de especificidade (percentual de verdadeiros negativos entre conhecidos carcinógenos humanos), para ser calculada. Não é possível saber a especificidade diretamente através de estudos epidemiológicos, mas indiretamente através do cálculo da *prevalência*: a soma de falsos positivos e verdadeiros positivos.

Assim, partindo do estudo de Fung e colaboradores (1995) com as 133 substâncias, e da estimativa do cálculo indireto de precisão, o quadro 10 ilustra a precisão dos ensaios com roedores neste estudo.

(A)	H (–)	H (+)	Total
R (–)	77 (Pc)	1	78
R (+)	13 (FP)	9 (VP)	22 (Pr)
Total	90	10	

(B)	H (–)	H (+)	Total
R (–)	90,7 (Pc)	2,5	93,2
R (+)	4,3(FP)	2,5(VP)	6,8 (Pr)
Total	95	5	

Quadro 10. Precisão (%) do teste em roedores para a predição de carcinógenos humanos: (A) qualquer teste positivo em pelo menos uma espécie é considerado positivo (sensibilidade de 90% e prevalência de 22%); (B) apenas positivo em *duas espécies* são considerados como positivo (sensibilidade de 50% e prevalência de 6,8%). Legenda: R (–/+) para resultados em roedores; H (–/+) para resultados em humanos; (Pc) Precisão; (Pr) Prevalência; (FP) Falso positivo; (VP) Verdadeiro positivo (de acordo com ENNEVER e LAVE, 2003)

Na situação (A) teríamos 22% de substâncias consideradas cancerígenas em humanos - um número excessivamente alto, considerando que 40% das drogas e aditivos alimentares atualmente comercializados são carcinógenos em roedores, como vimos anteriormente**.** Segundo Long (2007), a identificação de muitas substâncias como positivas dificulta a priorização de políticas de controle das mesmas.

Na situação (B), a sensibilidade do teste eliminaria metade das substâncias reconhecidamente cancerígenas em humanos, como observado no quadro 9, e "50% das substâncias determinadas como prováveis carcinógenos seriam falsos negativos" (p.556), segundo Long (2007).

[42] Em 2011, a base de dados da NTP contabilizou 54 carcinógenos humanos reconhecidos, e a base da IARC contabiliza 107 (pesquisa realizada em setembro de 2011 nos portais das respectivas bases).

Ennever e Lave (2003) concluem:

> O custo social de três décadas de dependência do LRB são centenas de químicos potencialmente valiosos que foram descartados porque eles são carcinógenos em roedores, assim como exposição de humanos a talvez dezenas de químicos que não eram positivos no LRB, mas que eram carcinógenos humanos (p.55-56).

Shanks e colaboradores (2009) também comentam sobre o abandono de novas substâncias, como conseqüência da má compreensão do termo "predição": se não permitíssemos chegar ao mercado qualquer tipo de substância que fosse carcinogênica, teratogênica ou que causasse efeitos colaterais severos em qualquer espécie, não teríamos nenhuma droga sendo utilizada por humanos. Alertam ainda que existe um custo, ao se abandonar boas substâncias do mercado, pois se perdem tratamentos, curas, renda, e conhecimento que poderia ter sido ganho ao se aprender mais sobre esses compostos.

Segundo Long (2007, p.553), a toxicologia preditiva moderna necessita de novos métodos, uma vez que "os testes com animais não são suficientemente preditivos para a carcinogenicidade humana". Além do conhecimento sobre os mecanismos da carcinogenicidade em roedores não ser suficiente, existe o problema da tradução deste conhecimento para os humanos. Da mesma forma que Ennever e Lave (2003), essa autora reconhece que o desenvolvimento de testes para avaliação de riscos à saúde humana deve ser feito tendo o humano como referência, e não roedores.

> A maioria das informações que existem sobre substâncias é derivada de testes em animais (...) Validar testes utilizando apenas dados obtidos de roedores é um retrocesso em relação ao objetivo final destes ensaios (p.558)

Ainda segundo Long, uma vez que se comprove o potencial de predição de substâncias carcinogênicas para humanos através da utilização de testes alternativos ao ensaio com roedores, haverá um incremento no poder de tomada de decisões e na regulamentação de substâncias químicas – e conseqüentemente uma maior proteção da saúde humana. Este tipo de posicionamento, que vem se tornando cada vez mais presente na comunidade científica, aponta para a questão da disponibilidade de tais testes alternativos. Maiores considerações sobre estas práticas serão desenvolvidas mais adiante, na seção 5.3.

Outro aspecto crucial em relação aos testes de carcinogênese em roedores, para além do aspecto preditivo, é o de sua reprodutibilidade. A reprodutibilidade é a capacidade de um experimento, ao ser replicado, produzir resultados similares, quando comparados aos dados de um ensaio referência. A estimativa destas taxas de reprodutibilidade é um dado de difícil obtenção, devido ao alto custo dos ensaios, e à falta de padronização dos protocolos de pesquisa (TOIVONEN e colaboradores, 2003).

Um estudo realizado por Gold e colaboradores (1987), em 70 testes de replicação com 38 substâncias, identificou 76% de concordância dos dados da replicação em testes realizados com camundongos, e 93% de concordância com ratos. Em 2001, Gottmann e colaboradores detectaram um quadro oposto ao estudo anterior. A taxa de reprodutibilidade, numa pesquisa que comparou 121 estudos de replicação, foi de 49% de concordância dos dados, com camundongos, e 62% com ratos. A reprodutibilidade não aumentou com a inclusão de informações mais específicas dos experimentos (espécies, sexo, linhagem, órgão). Segundo os autores, "isso pode ser um indicador de que os ensaios de carcinogenicidade com roedores são, em geral, pobres em reprodutibilidade" (p.513). Os autores atribuem a alta taxa de reprodutibilidade do estudo de Gold e colaboradores (1987) pelo fato de que uma parte considerável dos experimentos concordantes, identificados por estes pesquisadores, terem sido publicados por eles mesmos, o que sugere um viés de pesquisa.

A falta de reprodutibilidade também foi demonstrada em um estudo recente com algumas substâncias (ALDEN e colaboradores, 2011). Segundo os autores da pesquisa "não é comum, na indústria, se repetir ensaios com roedores" (p.11).

O uso de transgênicos nos ensaios com roedores

Em resposta ao custo elevado dos RBs, à baixa predição dos mesmos, ao elevado número de animais utilizados e ao tempo que estes ensaios costumam durar, pesquisadores passaram a se ocupar do desenvolvimento de animais geneticamente modificados (GULEZIAN e colaboradores, 2000; PRITCHARD e colaboradores, 2003). Seu surgimento, então, está associado a uma resposta às crescentes críticas aos ensaios com roedores (BARLOW e colaboradores, 2002), e o emprego dos modelos transgênicos vem sendo considerado como possível substituto ao RB (BURCHER, 1998; BOLON, 2004). Segundo Bolon (2004), é possível que num futuro próximo ensaios com este tipo de modelo poderão ser considerados os novos testes "padrão ouro" na investigação toxicológica.

Segundo Boverhof e colaboradores (2011), os modelos transgênicos tiveram um impacto muito importante no campo dos estudos toxicológicos, e ainda há muitos fatores que poderão influenciar e expandir seu uso, inclusive nos estudos de avaliação de risco.

O valor e as vantagens destes modelos, especialmente dos roedores transgênicos (TGR), no entanto, ainda é considerado como *potencial* por muitos pesquisadores. Pritchard e colaboradores (2003) enumeram algumas destas vantagens: (a) tumores aparecem mais rapidamente nestas espécies, podendo tornar os testes menos demorados (24-26 semanas em alguns estudos, em contraste com os 2 anos do ensaio com roedores não-transgênicos); (b) podem reduzir o número de animais utilizados tradicionalmente; (c) com a redução do número de animais e do tempo dos testes, o uso de transgênicos pode reduzir o custo dos experimentos; (d) com a seleção apropriada dos modelos, o poder preditivo pode ser aumentado; e (e) pelo fato da modificação genética, poderá ser possível obter um entendimento maior dos mecanismos envolvidos nos processos de indução e desenvolvimento de tumores.

No entanto, segundo os autores, embora estes modelos ofereçam uma "grande promessa" (TENNANT e colaboradores,2001), eles possuem limitações factuais e potenciais na identificação de carcinógenos. Como os autores apontam:

> Muitos modelos transgênicos (...) tem mutações em apenas um sentido que podem ou não ser relevantes para os processos cancerígenos em humanos para uma dada substância. Ainda, o defeito gênico específico pode influenciar o tipo e o desenvolvimento do tumor, aumentando a dificuldade de modelar a resposta humana. Da mesma maneira, a linhagem (genética) de fundo pode influenciar o tipo, incidência e local do tumor. Então, ensaios transgênicos gene-específicos de curto prazo podem não captar a informação biológica obtida em ensaios de longo-prazo (ex. efeitos em múltiplos-órgãos e/ou interações de tempo e idade que são importantes na carcinogenecidade química) (p.444)

Ainda que Barlow e colaboradores (2002) também entendam o uso dos TGRs como um grande potencial para os estudos preditivos de toxicidade, eles reconhecem alguns obstáculos importantes: os modelos não foram validados, e há necessidade de mais pesquisa na interpretação dos dados obtidos dos mesmos. Os modelos também precisam ser avaliados em sua precisão de predição.

Pritchard e colaboradores (2003), em uma revisão, avaliaram testes de 99 substâncias em 3 linhagens de TGRs (Trp53+/–, Tg.AC e RasH2). Destas substâncias, 14 eram reconhecidamente carcinógenas em humanos. Para este grupo de substâncias, a identificação pelos modelos foi de, respectivamente, 83, 89 e 57%. No geral, os modelos conseguiram identificar entre 77, 77 e 81% das 99 substâncias. Os autores sugerem o uso combinado de alguns modelos transgênicos com RBs, já que verificou-se um aumento da identificação das substâncias carcinogênicas (entre 82 a 90%).

A pesquisa, no entanto, está longe de ser conclusiva, como os próprios autores reconhecem, uma vez que muitos estudos revisados careciam de uma otimização ou padronização nos protocolos de pesquisa (harmonização

de protocolos). “As estratégias experimentais, o número de animais, a duração das dosagens, a extensão da patologia e a interpretação dos resultados variou entre os estudos avaliados” (p.451), afirmam os autores. Não foi identificado também um desenho de pesquisa apropriado para a consideração dos falsos negativos na identificação dos carcinógenos. Um outro problema considerado, que diz respeito não somente à validade dos modelos transgênicos e não-transgênicos, como também à validade dos testes em si, é a existência de um rol de substâncias que “representem o espectro de mecanismos e modos de ação consistentes com a carcinogênese humana” (idem). Na falta destas informações, pode se afirmar que a validação de tais modelos ou testes fica comprometida.

Estudos mais recentes também se ocuparam de avaliar os testes com modelos TGRs. Num artigo de quase 300 páginas, Lambert e colaboradores (2005) fazem uma revisão detalhada do papel dos modelos transgênicos nos estudos de carcinogenicidade. Em um dos recortes, o valor preditivo destes modelos foi avaliado, considerando-se 90 substâncias reconhecidamente carcinogênicas e 13 não carcinogênicas. Avaliou-se que os modelos TGR obtiveram uma alta sensibilidade e predição positiva; no entanto, também apresentaram uma baixa especificidade e predição negativa (significando que poucos não-carcinógenos foram negativos, e que há uma pequena probabilidade de que uma substância com um resultado negativo seja um não-carcinogênico[43]). As observações quanto à harmonização dos protocolos de pesquisa foram similares às encontradas em Pritchard e colaboradores (2003). Baseados nesta revisão, Lambert e colaboradores (2005) recomendam o desenvolvimento de um Guia-teste para ensaios com modelos roedores transgênicos, que servirá para uma melhor avaliação destes ensaios, e a uma maior compreensão das variáveis que compõem os ensaios com TGR. Na seção 5.2.5 iremos discorrer mais sobre o emprego destes modelos.

Um exemplo de impacto da precisão do LRB sobre as políticas de saúde humana – o programa REACH

Hartung (2009a) explora o valor da precisão dos testes em roedores, utilizando o desafio colocado por um programa estabelecido pela União Européia em 2007, o REACH (Registro, Avaliação, Autorização e Restrição de Químicos). Este programa prevê a análise de cerca de 5.500 substâncias que tiveram sua comercialização liberada antes de 1981, das quais estima-se que 2,5% (138 substâncias) tenham efeitos de toxicidade reprodutiva - de acordo com Bremer e colaboradores (2007). O objetivo do programa é identificar estas substâncias. Considerando que a precisão nos estudos de toxicologia reprodutiva entre espécies é de 60% no teste de duas gerações com ratos (e pode ser menor entre animais e humanos), Hartung (2009a) faz o seguinte cálculo: na avaliação destas 138 substâncias, num teste com 60% de precisão, 83 substâncias tóxicas serão confirmadas, e o restante (55) serão falso-positivas. Das restantes 5362 substâncias, aproximadamente 2145 (40%) serão positivas (tóxicas), e o restante (60%) será considerado não-tóxico (falso-negativos). O padrão do procedimento é então submeter as substâncias falso-positivas a uma segunda bateria de testes, com outra espécie (camundongo ou coelho), totalizando 2200 substâncias.

As substâncias aparentemente não tóxicas (falso-positivas) deverão ser testadas em outras espécies animais. Com a mesma precisão de 60%, em testes com camundongos ou coelhos, das substâncias que negativaram, 1.309 serão falso positivos (40%) – ou seja, de aparentemente não-tóxicas, passam a tóxicas. O restante (1963 substâncias) foram descartadas em seu potencial de toxicidade. Ao mesmo tempo, 60% das 55 substâncias falso-negativas identificadas pelo primeiro teste, com ratos (ou seja, 33 substâncias) serão identificadas como verdadeiramente tóxicas no segundo teste.

Ao todo, segundo Hartung, das 138 inicialmente estimadas, teremos 116 substâncias identificadas com efeitos de toxicidade reprodutiva (83+33), juntamente com 3431 outras substâncias que eram aparentemente não tóxicas, mas que obtiveram positivos para a toxicidade (63% do total de substâncias). A figura 10 ilustra este cálculo.

---

[43] Os autores suspeitam que o baixo número de substâncias não-carcinógenas testadas pode ter sido responsável por estes índices.

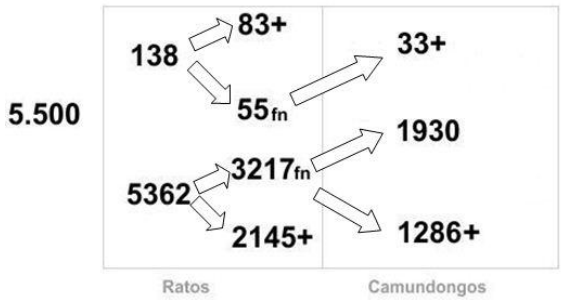

Figura 10. Simulação do teste de toxicidade com 5500 substâncias, previsto pelo REACH, em duas etapas. Os sinais (+) indicam resultado positivo para toxicidade. (Fn): falso-negativos. O cálculo foi baseado em testes com precisão de 60% (baseado em HARTUNG, 2009a).

Segundo o autor, esta análise pode ser bastante pessimista, pois exigiria uma política de regulamentação urgente destas substâncias já comercializadas em grandes volumes. No entanto, este dado é semelhante à pesquisa de Bremer e colaboradores (2007). Nesta, na análise de toxicidade reprodutiva de 72 substâncias comercializadas, 57% foram consideradas positivas. É possível simular como seria o resultado destes ensaios com diferentes precisões, para o número de substâncias confirmadas/número de substâncias consideradas tóxicas: 126/2734, com testes de 70% de precisão; 133/1930 com testes de 80% de precisão; e 137/1019 com testes de 90% de precisão.

Como se pode observar, a precisão do teste é crucial para a identificação das substâncias. No cenário apresentado por Hartung, um investimento enorme (de dinheiro e tempo) teria que ser direcionado para a substituição das substâncias atualmente comercializadas. Hartung (2009a) ainda chama atenção para outra questão:

> Cada substância exige uma média de 3.200 animais para um único teste de duas gerações – um total de 17,6 milhões de animais para as 5.500 substâncias – e as diretrizes experimentais atuais da REACH para a indústria não inclui muito escopo para saídas ou alternativas (p.209-210).

Long (2007) reconhece o desafio posto pelo REACH:

> Testes de carcinogenicidade padrões com animais são longos e caros, de forma que fazer uso apenas dos testes com animais para identificar carcinógenos humanos não será a forma mais eficiente ou econômica de testar milhares de substâncias. (p.553)

Apesar de mais de duas décadas de avanços na biologia molecular, o RB continua um ensaio padrão exigido nos estudos de predição de carcinogenicidade de drogas em outras substâncias em humanos. No entanto, os questionamentos e confrontos a que vem sendo exposta esta tradição leva autores como Morton e Alden (2011) a indicar que "novas estratégias são necessárias para aumentar a eficiência e a eficácia da identificação de carcinógenos". Para Hartung (2009a) está claro que o sistema atual de testes precisa mudar, e que estes instrumentos possuem muitas limitações e inadequações.

Estudos de correlação e predição

Segundo Olson e colaboradores (2000), foram poucas as tentativas de pesquisar a correlação de toxicidade entre humanos e animais, e de comparar os dados toxicológicos inter-específicos de fármacos. Mas, como alertam Shanks e colaboradores (2009), estes estudos pouco dizem sobre a *predição* em si. Para estes autores, predição não é: *retrospectivamente* identificar um animal que respondeu a estímulos de forma similar a humanos; ocasionalmente obter uma resposta *correlata* dos modelos animais com seres humanos; ou selecionar convenientemente dados com a finalidade de provar a *correlação* entre as respostas de modelos animais com

humanos. Como visto anteriormente, o cálculo da predição leva em consideração relações cruciais para a determinação do poder preditivo dos modelos animais.

A primeira tentativa de se estabelecer a correlação entre resultados obtidos de animais com a resposta em humanos foi feita por Litchfield (1962 *apud* Olson e colaboradores, 2000). Segundo este pesquisador, efeitos toxicológicos observados em ratos eram raramente observados em humanos, e os observados em cães ocorriam um pouco mais frequentemente em humanos. Os efeitos que ocorriam ao mesmo tempo em ratos e cães demonstraram 70% de concordância com humanos. Segundo Shanks e Greek (2009), nesta pesquisa foi calculada apenas a taxa de verdadeiro-positivo.

Em 1978, Fletcher estudou a correlação de efeitos de toxicidade em 45 drogas que estavam sendo avaliadas pelo Comitê de Segurança de Fármacos da Inglaterra. Os objetivos da pesquisa eram calcular o grau de correlação entre a toxicidade em animais e os efeitos adversos em humanos, e avaliar a confiabilidade dos dados animais como preditivos. Segundo o autor, "para cada droga, cerca de 25% dos efeitos tóxicos observados em estudos animais poderiam ocorrer como reações adversas nos humanos" (ver gráfico 11). Ainda segundo o pesquisador:

> Retrospectivamente, é uma tarefa relativamente simples determinar a correlação entre estudos animais e humanos, mas prospectivamente é difícil saber qual efeito tóxico particular provavelmente se tornará um problema quando uma droga é administrada a um humano (FLETCHER, 1978, p.696).

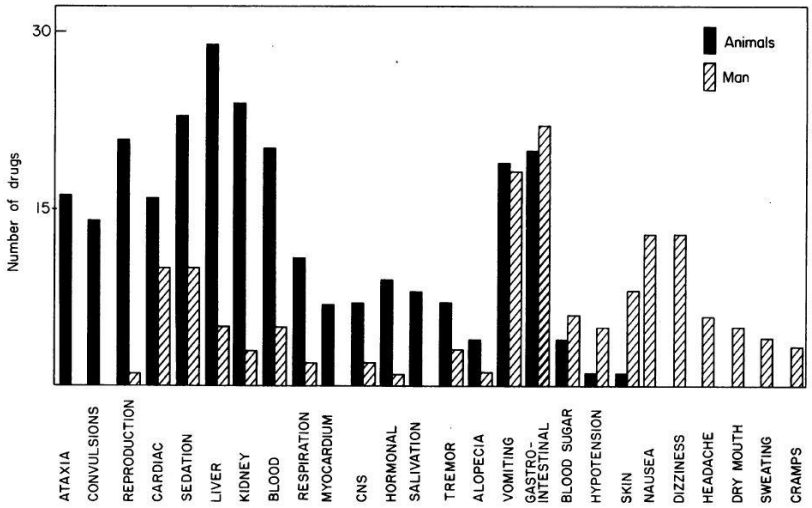

Gráfico 11. Correlação dos efeitos tóxicos entre animais e humanos, a partir de 45 drogas (FLETCHER, 1978).

Em 1982, Hayes e colaboradores identificaram que, de 12 substâncias reconhecidamente hepatotóxicas em humanos, 11 tiveram correlação entre humanos, roedores e não-roedores (apenas a carbencilina causou danos hepáticos no homem, e não nos animais). Mudanças químicas clínicas foram similares entre os humanos e os grupos de roedores e não-roedores em 8 substâncias. Na maioria dos casos em que a histopatologia ou mudanças químicas clínicas foram registradas em humanos e nos outros dois grupos, "as mudanças que ocorreram foram qualitativamente similares" (HAYES e colaboradores, 1982, p.55). Ainda que os pesquisadores concluam que os roedores são potenciais indicadores de hepatotoxicidade em humanos, afirmam que é "impossível predizer como o dano hepático observado em um animal de laboratório é correlacionado com o dano hepático humano" (idem).

Em 1990, três estudos se ocuparam destes cálculos. Suter testou e comparou os efeitos de 6 substâncias em animais com a resposta em humanos. A sensibilidade dos testes foi de 52% e o valor preditivo positivo (VPP) de 31% (SUTER, 1990 *apud* Shanks e colaboradores, 2009). Segundo Shanks e colaboradores (2009), ambos os valores são muito baixos. Heywood (1990) identificou que, de 24 substâncias tóxicas para humanos, 4 tiveram a mesma reação em animais. Lumley (1990), avaliando um grupo de substâncias das quais a toxicidade dos estudos clínicos

levou à interrupção do desenvolvimento das mesmas, encontrou que 16/24 (67%) dos casos de toxicidade não foram preditos em animais.

Olson e colaboradores (2000, p.57) citam ainda outros quatro estudos: em 1994, Spriet-Pourra e Auriche encontraram que "apenas 6 de 114 toxicidades clínicas tinham correlatos com animais". Igarashi (1994 *apud* OLSON e colaboradores, 2000) encontrou que "39/91 (43%) da toxicidade clínica (de 64 drogas comercializadas) não foram preditas em estudos com animais". Ainda em 1994, a Associação Japonesa de Produtores de Farmacêuticos avaliou 139 drogas, e identificou pouca correlação entre os estudos em animais e a resposta em humanos. No ano seguinte, Igarashi e colaboradores (1995) estudaram os efeitos adversos de 141 drogas comercializadas, correlacionando os achados em humanos (clínicos) com experimentos farmacológicos em animais. Esta pesquisa identificou correlações positivas em camundongos e ratos para efeitos adversos específicos, como motricidade, trânsito gastrointestinal, secreção gástrica, e excreção de sódio, porém pouca correlação para várias outras reações, como tontura, sede, anorexia, mal-estar, perturbações respiratórias, cardiovasculares e urinárias (IGARASHI e colaboradores, 1995).

Um relatório recente sobre a correlação dos modelos animais especificamente em relação a danos hepáticos, oferece um quadro distinto do encontrado em Hayes e colaboradores (1982). A partir de duas bases de dados distintas (Medline e EMEA-EPAR[44]) e utilizando um programa de análise específico para calcular empreendimentos de risco-benefício (SIP – Safety Intelligence Program[45]), 710 compostos da Medline, e 137 compostos da EMEA, com efeito hepatotóxico verificado em humanos, foram correlacionados com a resposta em testes com animais experimentais (roedores e não-roedores) (SPANHAAK e colaboradores, 2008). A correlação de efeitos hepáticos em humanos por roedores e não-roedores (compostos que demonstraram efeitos em humanos, mas sem efeitos identificados nos animais experimentais - ou seja, o índice de "falso negativos"): 269/710 na base Medline (38%), e 70/137 na base EMEA (51%). Considerando a concordância entre humanos e roedores, a pesquisa encontrou o seguinte: 60% (Medline) e 46% (EMEA) produziram efeitos tóxicos em humanos e roedores. A concordância entre humanos com não-roedores foi mais baixa: 19% (Medline) e 38% (EMEA). Em todos os casos, observa-se uma baixa correlação, como ilustra o gráfico 12. Segundo os autores do relatório:

> a análise mostra que entre 38 e 51% dos compostos com efeito hepático registrados em humanos não são detectados em testes pré-clínicos com animais. Ainda, de 13 a 33% dos casos, a evidência de efeitos hepáticos em testes pré-clínicos com animais não se reflete em humanos (SPANHAAK e colaboradores, 2008. p.6).

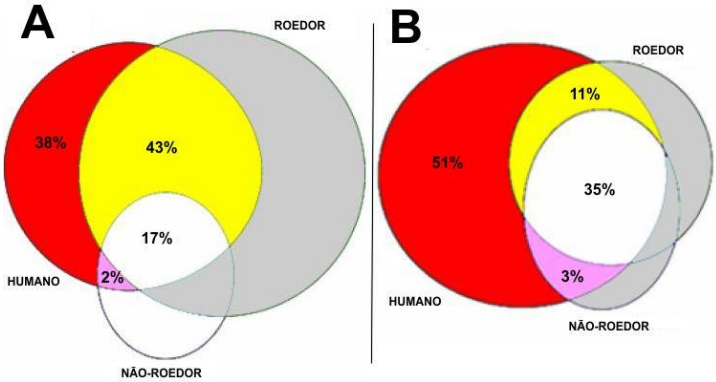

Gráfico 12. Proporção de compostos que registram efeitos hepatotóxicos em humanos, roedores e não-roedores. (A) base Medline e (B) base EMEA (SPANHAAK e colaboradores, 2008).

[44] *European Public Assessment Reports* (EPAR), publicado pela *European Medicines Agency* (EMEA).
[45] Programa desenvolvido para avaliar a segurança de novas drogas, a partir da análise de risco/benefício dos compostos comercializados ou em desenvolvimento.

Shanks e colaboradores (2009), ainda assim, chamam a atenção para um equívoco comumente encontrado em muitos dos trabalhos - em especial no de Lumley (1990) e Igarashi e colaboradores (1995): a predição é considerada positiva quando a resposta de *qualquer* animal corresponde à resposta humana, o que é um tipo de seleção conveniente de dados. Vimos esta discussão anteriormente em Ennever e Lave (2003).

Uma revisão sistemática da correspondência entre os achados pré-clínicos e os resultados em testes clínicos foi realizada por Perel e colaboradores (2007), para seis tipos de tratamento diferentes: traumatismo craniano, antifibrinolíticos em hemorragias, tirilazad (mesilato de tirilazade) em AVC isquêmico agudo, trombólise em AVC isquêmico agudo, corticosteróides antenatais na prevenção da síndrome de angústia respiratória neonatal (SARRN), e bisfosfonatos no tratamento de osteoporose. Nos três primeiros tratamentos houve discordância entre o resultado dos experimentos com animais e os estudos clínicos que, segundo os autores, ou pode ser explicada pelo fracasso do modelo animal em mimetizar o quadro clínico da doença de forma adequada, ou por falhas percebidas nos desenhos metodológicos das pesquisas. Sobre este último aspecto, os autores identificaram uma baixa qualidade nos desenhos de muitas pesquisas revisadas (como a falta de randomização nos grupos experimentais, por exemplo). Este indício leva os autores a considerarem que as evidências de concordância levantadas em sua revisão podem ser enviesadas. Segundo os autores:

> Uma vez que experimentos em animais são parte da evidência usada para decidir quais intervenções podem seguir para a etapa clínica, esforços para se evitar vieses e erros randômicos são importantes na revisão dos resultados de modelos animais quando revisando os resultados de ensaios clínicos (pg.4)

Hackam e Redelmeier (2006) fizeram uma revisão mais ampla, utilizando-se de estudos possivelmente mais influentes (com maior número de citações). Dos 76 estudos com animais, 28 (37%) intervenções foram replicados em estudos clínicos, e destes, 8 foram aprovados para uso em pacientes. Os autores assumem que este estudo possui uma série de importantes implicações:

> Primeiro, pacientes e médicos devem ser cautelosos sobre a extrapolação de achados de pesquisas com animais para o tratamento da doença humana. Segundo, mais oportunidades para incrementar a desenho das pesquisas e a qualidade metodológica estão disponíveis para a pesquisa pré-clínica. E finalmente, uma pobre replicabilidade de estudos de alta qualidade com animais deve ser considerada por aqueles que conduzem os ensaios clínicos (p.1732)

Hackam (2007) oferece três possíveis explicações para a falta de correspondência entre os experimentos com animais e os estudos clínicos. O autor sugere que um possível viés nas metodologias das pesquisas pode interferir nos resultados, associando ainda a sensibilidade destes estudos em relação a sua qualidade, e a um viés no processo de publicação, como algumas revisões sistemáticas demonstraram. A segunda possível explicação é a de que modelos animais podem não mimetizar de forma adequada a fisiopatologia humana. Segundo o autor:

> Animais experimentais são geralmente jovens, raramente apresentam comorbidade, e não são expostos a uma gama de intervenções competitivas (e interativas) encontradas com freqüência em humanos. O tempo, rota, e formulação da intervenção pode também ser problemático. A maioria dos experimentos tem amostragens limitadas. Estudos com baixa amostragem tem mais chances de apresentarem estimativas aumentadas de efeitos do que os estudos com maior número (...) Para compor o problema, pesquisadores podem selecionar dados positivos de animais, mas ignorar um trabalho igualmente válido porém negativo quando do planejamento de testes clínicos, um fenômeno conhecido como viés otimista (p.163)

A questão dos vieses de pesquisa e de uma "má ciência" precisa ser considerada na temática da experimentação animal. Como vimos, em Hackam (2007) encontramos a idéia de que há, no geral, um padrão pobre de metodologia nos estudos com animais, onde mesmo os resultados positivos podem não ser exitosos nos ensaios clínicos. Este padrão pobre interfere, por exemplo, no que comentamos anteriormente na questão da falta de reprodutibilidade em relação aos testes de carcinogênese em roedores (seção 5.2.4.1). Na concepção de Hackam, enquanto não houverem esforços na tentativa de aumentar a qualidade das pesquisas com animais, "é prudente ser crítico e cauteloso quanto à aplicabilidade dos dados obtidos com animais na esfera clínica" (p.164). Para Bracken (2009),

> É sabido há algum tempo que muitos experimentos em animais são fracamente desenhados, conduzidos e analisados, e que esta pode ser uma razão porque com freqüência eles não são traduzidos na replicação com ensaios terapêuticos em humanos ou na prevenção de câncer (p.221)

Para este autor, é recente a observação de que as revisões de literatura científica com pesquisas com animais são inadequadas, o que pode contribuir também para a falha em replicar pesquisas com animais em humanos. Sua crítica contempla ainda as pesquisas *in vitro*. Os vieses de publicação também são apontados pelo autor, como observamos também em Hackam (2007).

Para Roberts e colaboradores (2002), resultados imprecisos ou tendenciosos de experimentos em animais podem resultar em ensaios clínicos de substâncias perigosas ou biologicamente inertes, "expondo pacientes a riscos desnecessários e desperdiçando os escassos recursos de pesquisa" (p.474). Para os autores, os experimentos em animais podem ajudar nos cuidados sobre a saúde humana apenas quando seus resultados forem válidos e possam ser generalizados. As revisões sistemáticas, segundo os autores, são fundamentais neste aspecto: elas garantem que não se procurem por respostas que já foram dadas, reduzem os vieses e aumentam a precisão, e oferecem maior garantia na generalização dos resultados.

Ainda que se ventile que um maior rigor nos experimentos com animais e na sistematização de suas revisões possam (em teoria) levar a uma maior validação das hipóteses para a pesquisa epidemiológica (BRACKEN, 2009), as problematizações feitas até o momento sobre a ideia de modelagem animal não ficam comprometidas, uma vez que se voltam a questões mais fundamentais deste tipo de empreendimento.

O estudo de Olson e colaboradores

Em 2000, um artigo publicado por Harry Olson e colaboradores teve como finalidade identificar a correlação de eventos de toxicidade severa humana (a partir de 150 fármacos) com testes em animais. Este estudo foi considerado pelos próprios autores como um primeiro (e limitado) passo para uma melhor compreensão quantitativa destas concordâncias interespecíficas, no desenvolvimento de novos medicamentos. Este estudo concluiu que a sensibilidade dos efeitos toxicológicos foi de 71% para uma ou mais espécies experimentais, 63% em não-roedores (especialmente o cão) e 43% em roedores (principalmente o rato). Em relação ao tempo de identificação da resposta toxicológica observada em humanos pelos modelos animais, 94% se deu até o primeiro mês de estudos (considerando a ocorrência da resposta em uma ou mais espécies experimentais). O maior índice de concordância foi observado em estudos hematológicos, gastrointestinais e cardiovasculares, e o menor em estudos dérmicos, hepáticos e neurológicos.

O estudo de Olson e colaboradores teve diferentes repercussões em relação aos seus achados, uma vez que a concordância calculada nesta pesquisa variou de acordo com as linhas de pesquisa. Por exemplo, nas linhas de pesquisa voltadas aos processos dermatológicos, neurológicos e de hepatotoxicidade, os autores afirmaram que houve pouca concordância entre a toxicidade animal e humana, no que diz respeito às funções dos respectivos sistemas. Já nos estudos de toxicidade hematológica, gastrointestinal e cardiovascular, a taxa de correlação foi alta (respectivamente 91, 85 e 80%).

Este estudo passou a ser referenciado com alguma freqüência no meio científico, provavelmente em virtude da ampla cobertura de áreas de interesse. A sua importância para as discussões sobre a validade dos modelos animais pode ser apreciada pelo índice de citações: em 2008, Shanks e Greek (2009) identificaram 114 referências a esse artigo no Google acadêmico. Atualmente, este registro é de 274 citações na mesma base de dados[46]. É importante assinalar que a utilização desse artigo, por outros autores, vem sendo feita de forma extremamente variada, e até mesmo contraditória, ora sustentando posicionamentos de endosso, ora de rejeição, conforme é possível se constatar numa revisão randômica (quadro 11) de produções recentes (grifos meus):

1.	Williams e Iatropoulos (2002, p.41)	"A avaliação de segurança através de animais experimentais com substâncias químicas ativas de emprego médico e não-médico tem sido *eficiente na predição da toxicidade em humanos* (Olson e colaboradores, 2000)"
2.	Higgins e colaboradores (2003, p.470)	"Um estudo recente de Olson e colaboradores (2000) demonstrou que estudos com não-roedores são *mais preditivos para a toxicidade humana* do que estudos em roedores. Embora os achados da toxicologia pré-clínica foram frequentemente observados em cães e ratos, o cão demonstrou maior concordância com humanos (...)"
3.	Gralinski (2003. p.14)	" Uma pesquisa recente sobre a correlação entre os achados pré-clínicos e a toxicidade humana em fármacos *revelou que a predição do cão para a toxicidade cardiovascular humana estava entre a maior dentre as espécies experimentais* (Olson e colaboradores, 2000). Aproximadamente 85% [sic] da toxicidade humana cardiovascular foram preditas pelo estudo com o cão, um testemunho de seu uso histórico e similaridade fisiológica"
4.	Grigoriev e colaboradores (2005, p.1-2)	"Animais de maior porte, geralmente preferidos para a modelagem de várias condições pato-fisiológicas e respostas ambientais, *demonstram uma melhor concordância com humanos* com relação aos efeitos toxicológicos comparados a modelos animais de porte pequeno, como roedores (Olson e colaboradores, 2000;...)"
5.	Xu e colaboradores (2008, p.102)	"É bem sabido que os modelos animais *existentes não são muito preditivos* para a os estudos de danos hepáticos em humanos. Os testes pré-clínicos combinados de roedores, cães e macacos *podem identificar apenas metade* dos hepatotóxicos em humanos (Olson e colaboradores, 2000)"
6.	Tsaioun e colaboradores (2009. p.3).	" (...) os estudos de toxicidade combinada de roedores e não-roedores tiveram *predição de apenas 50% de efeitos hepatotóxicos em humanos*. Pior, com este nível baixo de precisão, um grande número de compostos que poderiam ter sido considerados seguros em pacientes humanos, mas mostram toxicidade em animais, seriam impedidos de avançar para os estudos clínicos (Olson e colaboradores, 2000). A toxicidade dos outros 50% dos compostos que não foram preditos foi atribuído a 'hepatotoxicidade humana idiossincrática, que não pode ser detectada pelos estudos convencionais de toxicidade em animais'. Há muito tempo se sabe que os mecanismos de toxicidade são bastante diferentes entre as espécies; ainda assim, *os testes em animais continuam sendo o 'padrão ouro' por razões históricas*"
7.	Chao e colaboradores (2009, p.626	"Um dos mais significativos inconvenientes dos testes in vivo em animais, devido às limitações farmacocinéticas inerentes na escala alométrica e extrapolação de resultados de ensaios de uma espécie para outra, é o fato destes testes serem com frequência *extremamente limitados em sua correlação preditiva* quando avaliado o risco para humanos (Olson e colaboradores, 2000;...)"
8.	Zimmermann e colaboradores (2009, p.617).	"a avaliação de segurança pré-clínica demonstrou *alta predictibilidade para toxicidade cardíaca humana,* com mais de 80% de concordância entre estudos clínicos e pré-clínicos (Olson e colaboradores, 2000)"
9.	Conlon e colaboradores (2009, p.897)	"A avaliação cardiovascular com o uso de cães é um método estabelecido para a avaliação de novas drogas, e uma *boa correlação existe nos achados entre cães e humanos* (Olson e colaboradores, 2000)"
1	Jemnitz e	"*Apenas 50% das incidências clínicas hepatotóxicas são preditas* pelos testes padrões

[46] Levantamento realizado em 12 de outubro de 2011.

	colaboradores (2010, p.80	com roedores (Olson e colaboradores, 2000)"
1	Sim e colaboradores (2010, *online*)	"De forma geral, modelos animais têm uma *boa predictabilidade* para a toxicidade humana de cerca de 70-80% (Olson e colaboradores, 2000)"

Quadro 11. Emprego do artigo de Olson e colaboradores (2000) em pesquisas selecionadas randomicamente através do Google acadêmico (realizada em 12/10/2011). Grifos meus.

Críticas ao estudo

Ainda que Olson e colaboradores tenham inicialmente estabelecido como objetivo principal "examinar os pontos fortes e fracos dos estudos preditivos em animais para toxicidade humana" (p.56), estes autores reconhecem adiante que os dados que oferecem "não respondem completamente a questão de quão bem estudos em animais predizem as respostas em humanos" (p.58), uma vez que o recorte da pesquisa não incluiu a incidência de falsos positivos e verdadeiros negativos. De fato, o *valor preditivo* não foi calculado nesta pesquisa, mas sim a *sensibilidade* - denominada pelos autores de "taxa de concordância verdadeiro-positiva", uma nova terminologia estatística cunhada pelos próprios autores[47].

Como visto anteriormente, segundo Ennever e Lave (2003), a sensibilidade dos testes pode ser elevada, caso se considere qualquer positivo como positivo. Isso pode explicar a sensibilidade encontrada na pesquisa de Olson e colaboradores: se quatro linhagens foram testadas com uma substância, e apenas uma delas mimetizou a resposta em humanos, o resultado é considerado como positivo para aquela espécie. Segundo os autores do estudo, não se avaliou a predição de dados experimentais pré-clínicos, o que deixou de considerar o índice de falso-positivos. Segundo Senderowicz (2010), este recorte limita bastante os achados, pois existe uma volumosa quantidade de drogas que foram abandonadas no processo de desenvolvimento, devido a níveis inaceitáveis de toxicidade pré-clínica. Esta mesma crítica é feita por Shanks e Greek (2009). Para Coleman (2011a e 2011b), dentro do recorte proposto, o estudo mostrou também que, para alguns sistemas, o valor preditivo de estudos de toxicidade humana a partir de estudos em animais é somente um pouco melhor do que um cara-ou-coroa. A consideração dos falso-positivos tem um impacto muito grande sobre a taxa de correlação, como vimos anteriormente na revisão sobre o ensaio com roedores nos estudos toxicológicos.

Como é possível se observar no quadro 11, todos os trabalhos citados, de uma forma ou de outra, se apropriam do conceito de predição, e parecem utilizar os achados da pesquisa de Olson e colaboradores sem um maior cuidado sobre seu recorte e terminologia. Este aparente descuido poderia, então, explicar os motivos pelos quais a pesquisa desses autores é empregada de forma ambígua: ora se endossa, ora se questiona e ora se nega o poder preditivo dos testes de toxicidade em animais. Ainda que nas referências 5, 6, 7 e 10 (quadro 11) a predição seja mencionada como baixa (em sua maioria são pesquisas de toxicidade hepática), o conceito de predição é também empregado.

Aumentando a predição: animais transgênicos

O maior emprego dos modelos baseados em animais geneticamente modificados vem sendo no campo dos estudos de mutagenicidade e carcinogenicidade (BARLOW e colaboradores, 2002). Segundo Johnson (2001), a premissa básica do uso de animais transgênicos é que eles exibem uma sensibilidade maior aos agentes carcinogênicos, reduzindo a complexidade na identificação destes agentes. Estes modelos também se tornaram "uma das maiores esperanças para curas de doenças como Alzheimer, esclerose múltipla, diabetes, hipersensibilidade, dentre outras" (SILVA e ESPÍRITO-SANTO, 2009).

[47] Shanks e Greek (2009), em uma busca no Google, encontraram 12 resultados para o termo "true positive concordance rate" (em julho de 2008), e todos resultados desta busca se referiam ao estudo de Olson e colaboradores.

No entanto, a tentativa de modificar geneticamente os animais, a fim de aumentar a predição dos modelos, também não escapa às mesmas considerações anteriormente mencionadas. Horrobin (2003) destaca alguns motivos para seu ceticismo em relação a estes modelos:

(a) A maioria das doenças humanas aparenta não ser causada por apenas um gene anormal. Quando isto acontece, a modificação de um gene pode ter efeitos catastróficos no organismo, e ajudar a entender as consequências desta anomalia. "Mas tais doenças são em sua maioria raras e tendem, de todas as formas, a serem razoavelmente entendidas a partir de estudos humanos" (p.152). Para Horrobin, a maioria das doenças humanas é, muito provavelmente, resultado da interação de diversos genes. De acordo com Horrobin:

> Se um gene é tão difícil de compreender no contexto do camundongo, e se o genoma de uma linhagem isogênica de camundongo tem tanto impacto nas conseqüências na expressão daquele único gene, qual a probabilidade de camundongos geneticamente modificados oferecerem insights sobre a complexa interação gênica sobre a heterogênica espécie humana? (p.153)

(b) A resposta fenotípica é inconsistente: a alteração de um gene pode ser letal para uma linhagem de camundongo, mas pode também não resultar em um efeito fenotípico identificável, se o mesmo gene for alterado numa linhagem distinta. Esta dificuldade é reconhecida por Hau (2008): a caracterização e aplicação destes modelos são dificultadas devido a problemas de fenotipagem destes animais.

Houdebine (2007) parece apontar questões similares em relação ao papel dos modelos transgênicos. Segundo a autora, existem ainda muitos desafios para a obtenção de modelos relevantes de pesquisa. A ativação ou inativação de genes nestes modelos não permite conclusões claras "devido à intrínseca complexidade dos organismos vivos e a redundância de algumas rotas metabólicas" (p.163). Isso se deve principalmente à permutação entre cromossomos homólogos, e à expressão gênica, que pode ser afetada devido a diversos mecanismos (como a interferência de RNA). Segundo Horrobin (2003), as predições resultantes destes modelos, em termos de benefícios para o ser humano, não são apenas exageradas, como também fraudulentas.

Nos estudos de carcinogênese, Johnson (2001) alega que a resposta carcinogênica parece estar determinada pela atuação de múltiplos genes. Segundo o autor, "é difícil imaginar um mecanismo no qual seja possível que uma ou duas linhagens mutantes mimetizem fielmente a diversidade da ação carcinogênica" (p.90). Segundo Rhomberg e colaboradores (2007), muitos dos mecanismos de resposta observados em modelos transgênicos ainda são desconhecidos.

Além da atuação múltipla de genes em processos de resposta carcinogênica, existem evidências de que os transgenes são geneticamente instáveis. "O lócus e a natureza do evento de integração de um transgene é crítico", afirmam Muto e colaboradores (2006, p.846). Estudando a expressão de um oncogene em específico, os autores observam que a sequência dos aminoácidos que este gene codifica (a proteína RAS) é idêntica em duas linhagens de camundongos transgênicos, em relação aos humanos, mas a sequência de bases nitrogenadas, nos respectivos genes, é diferente entre estas espécies.

Segundo Bailey (2005), pequenas diferenças nos genes estruturais podem mudar completamente a função de um gene. No entanto, a maioria das diferenças se faz presente nas regiões regulatórias do DNA, onde

> genes específicos e seções do DNA que estão envolvidas em ativar ou desativar outros genes e modificar como seus produtos agem e interagem uns com os outros, em resposta a uma variedade de sinais e estímulos. Estes [genes] podem atuar promiscuamente, e exercer uma avalanche de efeitos sobre centenas de outros genes. Uma pequena diferença, então, pode ter efeitos extremos e

O exemplo dos estudos sobre a doença de Alzheimer

Muitos autores consideram os modelos transgênicos como fundamentais para a pesquisa sobre a doença ou Mal de Alzheimer (GÖTZ e ITTNER, 2010), ainda que o desenvolvimento de linhagens de camundongos transgênicos tenha sido bastante dificultado pela natureza complexa desta patologia (DUFF e SULEMAN, 2004; ARANDA-ABREU e colaboradores, 2010).

Segundo Duff e Suleman (2004), o principal problema com o uso de camundongos transgênicos nos estudos de Alzheimer é que estes animais não desenvolvem a neuropatologia como um todo. Em uma linhagem mutante (APP), são produzidas placas amilóides (ou neuríticas), mas não emaranhados neurofibrilares[48]. Ainda, a disfunção celular é imprevisível ou difícil de provocar nesta linhagem mutante. Em outro modelo (tau), observa-se o desenvolvimento de emaranhados, mas não de placas. Estes são os dois modelos mais aplicados em estudos sobre o mal de Alzheimer (LUEBKE e colaboradores, 2010). Götz e Ittner (2008) reconhecem que os modelos não reproduzem com fidelidade a distribuição anatômica das lesões no cérebro humano. Aranda-Abreu e colaboradores (2010) concluem que não existe um modelo animal ideal para o estudo do mal de Alzheimer, pois este deveria atender aos seguintes critérios: (a) produção de placas amilóides; (b) produção de emaranhados neurofibrilares; (c) retração de neurônios; e (d) ativação de caspases (tipo de proteína identificada no processo neurológico degenerativo).

Ainda segundo Duff e Suleman (2004), existem pontos positivos e negativos em se usar camundongos geneticamente modificados no estudo do mal de Alzheimer. Como pontos positivos, as autoras elencam: (a) baratos de se manter, se reproduzem muito e tem um tempo de vida curto; (b) são fáceis de ser geneticamente manipulados e (c) respondem muito bem aos testes de cognição. Apontam como aspectos negativos: (a) o seu tempo de vida curto dificulta a compreensão dos fatores de envelhecimento, que são importantes no quadro humano da doença; (b) são bastante resistentes a neurotoxinas e (c) a identificação de fatores de risco, ou a relevância de mecanismos patogênicos potenciais, é dificultada devido à variabilidade genética associada à sub-espécie em questão. Mecanismos ligados à expressão gênica também são considerados pelas autoras. Segundo elas,

> A maioria dos animais transgênicos usa um promotor heterólogo; a patologia, assim, segue um padrão espacial e temporal da expressão do transgene que é frequentemente diferente do observado em humanos (p.50).

Num estudo recente que comparou 5 modelos transgênicos utilizados no estudo da doença de Alzheimer, Li e colaboradores (2011) concluíram que cada modelo corresponde a um fenótipo diferente da doença. Quando comparados ao padrão de morte celular de neurônios em humanos portadores desta doença, os autores sugerem que cada um dos modelos pode corresponder a um tipo diferente da patologia. Estes autores concluem que nenhum dos modelos animais exibiu as complexidades da patologia humana da doença.

Schnabel (2008) afirma que os camundongos utilizados principalmente em estudos de doenças neuro-degenerativas tiveram um papel quase inócuo no desenvolvimento de medicamentos. No caso do mal de Alzheimer, três candidatos a medicamentos (Alzhemed, Flurizan e Bapineuzumab) não tiveram êxito nos estudos clínicos, apesar dos testes promissores com camundongos transgênicos. O primeiro causou problemas gastrointestinais sérios (como vômitos, náusea e diarréia intermitentes). O Fluziran foi inócuo no aumento das funções cognitivas nas atividades diárias, causando um prejuízo de U$200 milhões para a empresa Myriad. O terceiro ainda está na fase clínica III, mas já foram identificados casos de edema vascular nas fases anteriores (ROHER e colaboradores, 2011; SPERLING e colaboradores, 2012).

[48] As placas neuríticas e emaranhados neurofibrilares são duas características neuro-morfológicas desta doença.

Aumentando a predição: quimeras humano-animais

Outra novidade na busca por modelos de pesquisa, para além dos animais transgênicos, é o uso de quimeras humano-animais, ou animais xeno-transplantados. Behringer (2007), ao afirmar que animais de laboratório não são humanos, e que por isso não podem replicar a fisiologia humana, propõe o uso de indivíduos que tiveram células ou tecido humano implantados. Os implantes podem ser realizados no estágio embrionário (quando o sistema imune está em formação), em animais com imuno-deficiência induzida (através da utilização de substâncias como a ciclosporina), ou em animais geneticamente modificados (desativando genes específicos para as respostas imunológicas). Tais procedimentos possibilitam que estes animais, geralmente camundongos e ocasionalmente macacos, possuam material biológico humano.

> O animal que possui o tecido humano pode ser então examinado ou tratado para a investigação de processos biológicos e doenças específicas do humano, sem a necessidade de experimentação em indivíduos humanos (p.259)

Estes modelos podem ser utilizados em estudos imunológicos (para desenvolvimento de vacinas), hepáticos e neurológicos. Na pesquisa com células-tronco, muitos pesquisadores consideram os estudos com quimeras como "indispensáveis" (HYUN e colaboradores, 2007).

Segundo Mott (2005), o primeiro registro de sucesso no desenvolvimento deste tipo de modelo se deu em 2003, quando cientistas chineses fundiram células humanas com um embrião de coelho. Um ano depois, cientistas norte-americanos produziram porcos com células sanguíneas humanas, e em 2005 ratos com células nervosas humanas.

No começo deste ano, Tachibana e colaboradores (2012) produziram os primeiros primatas quiméricos na história da ciência, compostos de uma mistura de células de seis genomas distintos. Segundo a notícia, um dos pesquisadores afirmou:

> *Não podemos modelar tudo em camundongos*. Se quisermos passar terapias em células-tronco do laboratório para as clínicas e de camundongos para humanos, precisamos compreender o que essas células nos primatas podem ou não fazer (Agência FAPESP, 2012, online, grifo meu).

À parte de considerações éticas altamente conflituosas provocadas pelo uso e desenvolvimento destes modelos (ver KARPOWICZ e colaboradores, 2005; DEGRAZIA, 2007), a questão preditiva permanece. Segundo Shanks e Greek (2009), há bons motivos para um ceticismo saudável em relação à promessa posta pelos modelos quiméricos. Segundo estes autores, o valor preditivo destes modelos seria aceitável se: (1) a parte humana implantada no animal estiver isolada em termos de organização e interação com o sistema; (2) esta parte estiver com sua funcionalidade preservada, na ausência de outras partes normalmente presentes em um organismo intacto humano. "De outra forma, tudo que você tem é um novo sistema confuso, com novos efeitos sinérgicos que não são encontrados nem em animais, nem em humanos", afirmam os autores. O argumento de Behringer (2007) de que modelos animais tradicionais não são humanos – e, logo, não são capazes de mimetizar a fisiologia humana – acaba valendo também para os modelos quiméricos.

Aumentando a predição: primatas não-humanos

Segundo Shanks e colaboradores (2009), do ponto de vista evolutivo, esperamos encontrar mais similaridades e menos diferenças entre humanos e primatas não-humanos (PNHs), do que (por exemplo) entre humanos e leveduras, ou camundongos. Ainda que as comparações sejam interessantes do ponto de vista do conhecimento biológico, elas revelam muitas desanalogias entre humanos e PNHs, que precisam ser consideradas no âmbito das investigações preditivas para o fenômeno biomédico humano, segundo os autores.

O uso de PNHs, apesar de menos comum[49], é realizado em algumas linhas de investigação sobre doenças humanas (câncer, cardíacas, AIDS, Parkinson, Alzheimer, etc.). Os PNHs são utilizados como uma "segunda espécie" em muitos testes pré-clínicos de natureza toxicológica, durante o desenvolvimento de drogas.

Bailey (2005) faz uma revisão crítica do emprego destes animais em diversas áreas (Alzheimer, Parkinson, HIV, câncer, etc). No caso dos estudos pré-clínicos mais adiantados de toxicologia (após o uso de roedores ou outras espécies experimentais), Bailey lembra que, mesmo utilizando-se PNHs como espécie-teste, há um fracasso significativo das substâncias candidatas quando avaliadas nos estágios clínicos.

Alguns autores também reconhecem que o uso de chimpanzés em pesquisas para o tratamento da AIDS é um fracasso. Bailey (2008), que faz uma revisão extensa do papel destes animais no desenvolvimento do tratamento desta enfermidade, conclui que

> as afirmações da importância do chimpanzé no desenvolvimento de uma vacina contra a AIDS são sem fundamentos, e o retorno do uso destes animais neste tipo de pesquisa não se justifica cientificamente (pg.381)

Segundo Puls e Emery (2006), ainda que o HIV consiga infectar poucas espécies de PNHs, e que em todas estas espécies não haja progressão para o quadro infeccioso, em apenas um estudo com chimpanzés foram obtidos alguns avanços. Ainda assim, "foi difícil examinar o efeito destas vacinas, devido à falta de progressão clínica à imunodeficiência neste modelo animal" (p.61).

Curiosamente, muitas drogas para o tratamento da AIDS são atualmente empregadas sem que tivessem passado por estudos em PNHs, como os inibidores de protease anti-HIV e os análogos de nucleosídeos[50], mesmo sabendo que estas substâncias causam efeitos adversos bastante variáveis, em diferentes espécies animais (BAILEY, 2005). É o caso do Crixivan (sulfato de inadivir), medicamento indicado para o tratamento da AIDS. Chiba e colaboradores (2000) concluíram que os PNHs "não foram modelos apropriados para a predição qualitativa do metabolismo deste medicamento em humanos" (p.117).

Sobre as doenças que mais matam humanos (cardíacas, câncer e derrame), Bailey (2005) afirma que as pesquisas com PNHs

> falharam em contribuir com uma compreensão significante sobre estas doenças em humanos, ou em produzir drogas para o seu tratamento. A literatura científica está repleta de exemplos de dados obtidos de PNHs que confundem a pesquisa destas doenças ao conflitarem com dados humanos conhecidos, ou direcionando a pesquisa para "becos escuros", ou mesmo causando danos em humanos quando nos testes clínicos (p.245).

Um exemplo deste dano foi recentemente publicado. Stebbings e colaboradores (2007), ao estudarem os efeitos do anticorpo monoclonal TGN1412 em pacientes humanos na fase clínica I, comentam que os resultados quase provocaram a morte de todos os seis voluntários humanos. Segundo os autores,

> Nossos dados indicam que, em contraste aos humanos, o TGN1412 não é um superagonista em macacos Cynomolgus[51] e sugere cuidado quando da interpretação

[49] Em janeiro de 2009, no entanto, o Comitê Científico Europeu de Riscos Humanos e Ambientais (SCHER) publicou uma nota alegando a necessidade dos estudos em PNHs. Este fato provocou uma série de réplicas por parte de pesquisadores descrentes neste tipo de modelagem. Para um maior entendimento deste debate ver Bailey e Taylor (2009).

[50] Os primeiros atuam na enzima protease, bloqueando sua ação e impedindo a produção de novas cópias de células infectadas com HIV, e os segundos são drogas que inibem a replicação do vírus HIV bloqueando a enzima transcriptase reversa que age copiando o RNA viral em DNA.

[51] Uma espécie do macaco de floresta tropical da Malásia.

> de dados negativos em testes pré-clínicos com terapêuticas imunomodulatórias. Os métodos *in vitro* que descrevemos estão começando a ser aplicados em novas imunoterapêuticas e outras terapêuticas que tem o potencial de agir sobre o sistema imunológico [humano] (p.3331).

Para Dixit e Boelsterli (2007), a reação adversa foi uma surpresa, pois a dosagem administrada aos macacos tinha sido 500 vezes maior do que a humana, e com uma mesma posologia.

Num levantamento de 95 artigos científicos randomicamente selecionados, entre 1995 e 2004, em cujos desenhos experimentais foram utilizados chimpanzés, Knight (2007) encontrou que 49,5% das publicações nunca não foram citadas, posteriormente. No entender do autor, este dado demonstra que é mínima a contribuição destas pesquisas para o campo do conhecimento biomédico. Quase 15% foram posteriormente citadas por 27 artigos, nos quais são descritos avanços no tratamento de doenças. Uma revisão desses artigos, no entanto, "revelou que estudos *in vitro*, estudos epidemiológicos e clínicos, métodos e ensaios moleculares e estudos genômicos contribuíram mais para estes avanços". Segundo Knight,

> um exame mais minucioso não identificou estudos em chimpanzés que tenham feito uma contribuição essencial ou – na maioria dos casos – significativa de qualquer tipo, aos artigos descrevendo exitosos métodos profiláticos, diagnósticos ou terapêuticos no combate à doenças humanas (p.301)

Segundo Bailey (2005),

> Muitas técnicas e metodologias científicas são mais relevantes à medicina humana e mais preditivas e confiáveis para os seres humanos do que as pesquisas baseadas em PNHs, e são diretamente responsáveis pelos grandes passos que estamos dando em direção ao tratamento e cura das mais debilitantes e disseminadas doenças humanas (p.250).

Recentemente um grupo independente de pesquisadores norte-americanos, do Institute of Medicine, realizou uma avaliação sobre a necessidade de chimpanzés para a pesquisa biomédica e comportamental, a pedido do Instituto Nacional de Pesquisa (NIH) e do Conselho Nacional de Pesquisa (NRC) dos Estados Unidos. Ainda que o grupo de pesquisadores reconheça a importância do papel que estes animais representaram para a ciência nos últimos anos, chamam a atenção para os avanços de outros métodos de pesquisa, o que tornou estes animais "amplamente desnecessários como sujeitos de pesquisa" (IOM, 2011, p.1).

A complicação resultante das novas tecnologias e abordagens: os métodos substitutivos

Segundo Bailey (2005, p.239), "existem evidências crescentes e substanciais de que modelos animais não são cientificamente justificáveis", fazendo com que as iniciativas de *redução* ou *refinamento* dificilmente tragam qualquer benefício para a saúde humana. O interesse em novas abordagens e métodos que prescindem da modelagem animal (*substituição*) é uma tendência que pode ser verificada na literatura científica. Assim, muitos cientistas de diversas áreas vêm acreditando cada vez mais na substituição como única forma de avançar nos estudos preditivos.

Fentem e colaboradores (2004) alegam que a disponibilidade de novas tecnologias nos últimos 10 anos faz com que seja possível estabelecer uma abordagem que dispense o uso de animais nos estudos de risco para humanos. Para Bailey (2005), "quando utilizadas em conjunto, elas são claramente mais preditivas da situação humana do que as atuais práticas convencionais com modelo animal (incluindo primatas)" (p.239), afirma o autor. Segundo Bass e colaboradores (2004, p.150),

> O desafio posto pela introdução de novas técnicas e tecnologias nas avaliações de risco é o de aperfeiçoar e melhorar a progressão segura de novas drogas ao mercado, enquanto previne atrasos desnecessários (ou descontinuidades) baseados em achados não-clínicos que não são relevantes nem interpretáveis, em termos de resposta clínica ou risco humano.

Shanks e Greek (2009) questionam o uso de modelos animais não somente em seus valores preditivos, como também na geração de hipóteses sobre humanos. Segundo estes autores, faz mais sentido gerar hipóteses a partir de dados humanos do que a partir de dados provenientes de animais. Desta forma, os autores consideram outras formas de gerar hipóteses, como: (a) estudo de humanos em autópsias; (b) estudos de humanos em experimentos clínicos; (c) estudo de tecidos humanos em culturas; (c) estudos de populações humanas através da epidemiologia; (d) estudo de humanos através de vigilância de drogas recém comercializadas (farmacovigilância); (e) observação clínica de humanos; (f) uso de tecidos humanos para desenvolvimento de plataformas de tecidos; (g) uso de instrumentos tecnológicos, como escaneamento por ressonância magnética e tomografia, para estudo de humanos (especialmente do cérebro); (h) estudos comparativos do genoma humano; (i) estudo individual do genoma, e comparação destes com doenças e respostas a drogas; e (j) modelagem matemática e *in silico* baseado em dados humanos.

Em outro trabalho, Greek e Greek (2002) apresentam algumas abordagens e métodos substitutivos que já vem sendo empregados na pesquisa biomédica, apresentadas resumidamente abaixo:

1) Estudos clínicos de pacientes humanos: esta abordagem envolve observações cuidadosas de pacientes, e sempre foram um importante recurso da pesquisa médica. Segundo os autores, inúmeras descobertas ocorreram desta forma (o tratamento exitoso da leucemia infantil, da doença da tireóide, o tratamento para HIV e a descoberta de várias drogas cardíacas). O campo da farmacologia clínica é o responsável pelos experimentos em humanos.

> Estudos desta área repetem o que uma série de empresas farmacêuticas fazem com animais. Entretanto, enquanto o modelo animal indica apenas o que ocorre no animal em questão, a farmacologia clínica produz dados que são aplicáveis aos humanos (p.101).

O papel dos testes clínicos no desenvolvimento de novas terapêuticas se tornou fundamental na pesquisa biomédica. Segundo Lederer (1997),

> avanços nas ciências médicas criaram novas oportunidades e demandas para a experimentação humana. As novas disicplinas da farmacololgia, bacteriologia e imunologia estimularam consideravelmente os experimentos em seres humanos ao final do século XIX. A descoberta de novas tecnologias, incluindo o raio-X e o tubo estomacal, fomentaram um número crescente de experimentos envolvendo indivíduos doentes e aqueles considerados normais pelos pesquisadores. A reorganização dos hospitais e, talvez igualmente importante, a mudança epistemológica que tornou o conhecimento obtido em pacientes hospitalares aplicável a pacientes individuais, encorajaram médicos a promover investigações envolvendo pacientes (p.2)

No caso da tecnologia do tubo estomacal, antes de 1880 os estudos que envolviam secreção gástrica, por exemplo, eram realizados em animais e em crianças mortas. Com esta nova tecnologia, o estudo poderia ser realizado mesmo em crianças em tenra idade, nas investigações sobre alimentação infantil. A auto-experimentação[52] também passou a ser um procedimento aceitável. Um dos mais conhecidos experimentos deste tipo foi o realizado pelo alemão Max von Petternkofer, que desafiou a idéia corrente de que apenas o vibrião

[52] Para mais informações sobre auto-experimentação, ver o livro de Lawrence K. Altman, *Who Goes First? The story of self-experimentation in medicine* (New York: Random House, 1987).

colérico apenas era capaz de provocar a doença. Para isso, em 1892 o pesquisador engoliu uma cultura de bacilos de cólera e, apresentando apenas um leve sintoma de diarréia, manteve sua teoria de que o bacilo sozinho não produzia a doença (LEDERER, 1997). Um recente prêmio Nobel de fisiologia ou medicina, em 2005, foi concedido ao pesquisador Barry Marshall. Frustrado com seu fracasso de reproduzir um modelo animal para a doença, Marshall ingeriu uma cultura pura de *Helicobacter pylori* (bactéria que o pesquisador suspeitava ser o agente causador de úlceras), desenvolvendo uma gastrite aguda severa (WEYDEN e colaboradores, 2005).

Uma técnica recente no campo da experimentação humana é a da microdosagem, um procedimento no qual um traço de uma substância (100µg ou menos), marcada com carbono 14 (<1µCi), é injetado em um humano, e tem sua atividade monitorada através da espectrometria de massa. Esta técnica tem sido promovida como uma abordagem altamente sensível e eficiente na avaliação de substâncias no metabolismo humano, segundo Baillie e Rettie (2011).

> De fato, através desta técnica, várias substâncias candidatas a fármacos podem ser avaliadas em humanos em termos de suas características farmacocinéticas e perfis metabólicos antes que a mesma seja selecionada para o seu desenvolvimento (p. 26)

A técnica da microdosagem foi recentemente testada com 5 substâncias conhecidas por sua alta complexidade farmacodinâmica, e o resultado exitoso deste teste levou a FDA e a EMEA a aprovar o seu uso, respectivamente em 2005 e 2003 (BAILEY, 2005).

2) Pesquisa *in vitro*: trata-se de uma área de pesquisa que influenciou praticamente todos os campos da pesquisa biomédica. É um método que atualmente encontra-se tão avançado que é possível manter uma grande variedade de tipos celulares por um tempo praticamente indeterminado, além de "criar modelos mais realísticos de partes do corpo, como pele e vasos capilares" (p.102). Segundo os autores, a contribuição deste recurso de pesquisa tem sido valiosa na produção de vacinas, testes de toxicidade, e vem ajudando na compreensão de doenças como AIDS, câncer, Parkinson, esclerose múltipla, diabetes, doenças cardíacas, e muitas outras. No campo das neurociências, por exemplo, é reconhecido o baixo rendimento dos modelos animais em relação aos ensaios *in vitro* (MARKOU e colaboradores, 2009). Nos estudos de hepatotoxicidade, o reconhecimento do potencial preditivo dos estudos *in vitro* é também reconhecido (DAMBACH e colaboradores, 2004). Existe atualmente uma série de periódicos (por exemplo, In Vitro Cellular & Developmental Biology, Toxicology in Vitro, In Vitro and Molecular Toxicology) e sociedades científicas (como a Society for In Vitro Biology e a In Vitro Toxicology Society-IVTS) organizadas em torno deste método em particular. No site de uma destas sociedades científicas é possível identificar um dos seus objetivos: "estimular alternativas aos testes com animais e promover os 3Rs" (IVTS, 2011).

3) Autópsias humanas: segundo os autores, este recurso é uma valiosa fonte de conhecimento para a compreensão de doenças humanas, tendo sido empregada há séculos. No entanto, Greek e Greek (2002) alertam que é uma prática que vem sendo abandonada: a taxa de autópsias caiu para menos de um quarto do que era na década de 50. Esta queda é confirmada por algumas pesquisas (BRODIE e colaboradores, 2002; HANZLICK, 1998; ROBERTS, 1978), e pode variar conforme o país (LUNETTA e colaboradores, 2007). Segundo Greek e Greek (2002. p.105), esta diminuição gerou o comentário do patologista Robert Anderson: "sabemos mais sobre as causas de morte de ratos velhos do que sobre as causas de mortes em pessoas velhas".

4) Epidemiologia: este é um campo clássico de pesquisa na área de saúde humana, que agrupa informações valiosas sobre a incidência e prevalência de doenças humanas específicas, e cruza fatores relativos ao ambiente, hábitos e estilo de vida, que podem influenciar os estados de saúde de uma forma positiva ou negativa – o que ajuda na implementação de "medidas preventivas que podem mitigar a freqüência das doenças" (GREEK e GREEK, 2002, p.105). As causas de uma série de doenças foram descobertas através destes estudos. Um caso bastante elucidativo é a relação do tabagismo com o câncer de pulmão, descoberta através da epidemiologia (WYNDER e HOFFMANN, 1976). Segundo Utidjian (1988),

> Com certeza nem mesmo o mais cuidadoso toxicologista negaria que a epidemiologia, e apenas a epidemiologia, indicou e incriminou o cigarro como um potente agente carcinogênico, ou afirmaria que a toxicologia experimental em animais poderia ter feito esta descoberta com a mesma definição (*apud* GREEK e GREEK, 2002, p.147).

5) Modelagem matemática e pesquisa *in silico*: esta é uma área de pesquisa relativamente recente. A modelagem matemática, que é uma simulação computadorizada sobre partes do corpo humano, a partir de equações matemáticas complexas, vem produzindo resultados bastante precisos, ainda que esteja implicada neste processo uma enorme simplificação dos sistemas de um organismo. Greek e Greek (2002) oferecem uma série de exemplos onde este tipo de recurso vem sendo empregado: neurociências, imunologia, câncer, toxicologia, etc. Segundo Waterbeemd e Gifford (2003, p.192), métodos *in silico* poderão "aumentar a capacidade de predizer e modelar os resultados farmacocinéticos, metabólicos e toxicológicos mais relevantes, acelerando o processo de descoberta de novas drogas".

Para mencionar um exemplo em curso, Howard Fine, pesquisador do National Cancer Institute (NCI), está liderando uma pesquisa piloto que executa uma análise molecular e genética de amostras de tumores cerebrais humanos enviados ao NCI, e os dados são correlacionados com cada caso clínico. A ideia por trás dessa iniciativa é desenvolver uma Grade de Informática Biomédica, que "oferecerá uma rede global para pesquisadores adicionarem informações e acessarem instrumentos da bioinformática para garimpar dados referentes ao câncer" (DENNIS, 2006, p.741). Para Fine, "os camundongos são valiosos, mas eles são, acima de tudo, camundongos. O melhor sujeito de estudo sempre será o humano" (idem).

6) Pesquisa genética: o mapeamento do código genético humano poderá ajudar a compreender a dinâmica dos genes, assim como possibilitar a intervenção terapêutica sobre os mesmos. Uma das tecnologias empregadas neste tipo de pesquisa é a do DNA recombinante. Uma série de avanços foi alcançada através deste recurso, como por exemplo, a produção de insulina sintetizada – reduzindo os sintomas adversos da insulina produzida a partir de animais. "Vacinas, enzimas, fragmentos de anticorpos, e hormônios de crescimento são provenientes da pesquisa com DNA recombinante", afirmam os autores (p.108). A farmacogenética (ou farmacogenômica), mencionada anteriormente, é parte desse tipo de pesquisa e ocupa-se dos fatores genéticos que podem interferir na ação de drogas no organismo.

7) Imaginologia: tecnologias como o ultrassom, tomografia computadorizada (CT ou CAT), ressonância magnética (MRI), tomografia por emissão de pósitrons (PET-CT), PET-MRI (associação da tomografia com a ressonância), e muitas outras tecnologias vem permitindo visualizar o corpo humano (em funcionamento) com precisão, e sem maiores prejuízos ao mesmo. Segundo Almeida (1998), o rápido desenvolvimento destas tecnologias "deve-se fundamentalmente à produção de componentes eletrônicos mais potentes, baratos e menores, que permitem o aumento das investigações nesse campo".

Segundo Bailey (2005, p.241), todos estes métodos e abordagens possuem limites, mas "a questão fundamental é qual combinação destas técnicas oferece dados mais relevantes, preditivos e confiáveis para proceder com os testes clínicos".

Alega-se que a aceitação de métodos substitutivos deva passar pelo processo de validação (descrito anteriormente), tendo o seu desempenho comparado com o dos métodos tradicionais (BALLS, 2007; HARTUNG, 2009b). Segundo Barlow e colaboradores (2002), pouca atenção tem se dado aos esforços de validação destes métodos. Esta exigência, no entanto, não é ponto pacífico entre pesquisadores. Como vimos nas críticas de Long (2007) e Ennever e Lave (2003), os ensaios com animais nunca foram oficialmente validados com os critérios atuais de validação exigidos pelos métodos substitutivos, e o desempenho destes métodos não pode se dar em relação aos dados obtidos com ensaios em animais. Além destes pontos, há ainda a defesa de que a validação dos testes possa ser feita sem necessariamente levar em consideração os índices de desempenho do teste (como sensibilidade, especificidade, valor preditivo, etc.), e considerando-se outras evidências fornecidas pelos métodos, como afirma Long (2007, p.556), ao falar dos ensaios de transformação celular:

> Evidências de mecanismos ou modos de ação podem elucidar como uma substância pode estar envolvida no processo carcinogênico. Desenhando testes que isolam

> diferentes estágios de carcinogênese, pode se determinar onde uma substância causa mutações no gene ou cromossomo, ou quando estimula a célula mutante a de dividir e proliferar (...) O que é importante de se notar é que as mudanças celulares observadas em ensaios de transformação celular são similares na aparência e comportamento do que se observa em células de tumores benignos humanos, tornando-os um modelo razoável para este estágio do câncer em humanos (LONG, 2007, p.556)

Testes ou ensaios de transformação celular (CTA, em inglês) são ensaios *in vitro* que vêm sendo uma das alternativas para a identificação de substâncias potencialmente carcinogênicas. Uma revisão recente sobre este método foi realizada por Creton e colaboradores (2011). Segundo os autores, estes testes utilizam principalmente material biológico não-humano, e talvez por isto tenham uma baixa especificidade na detecção de carcinógenos humanos – uma limitação que é característica dos ensaios com roedores, como afirmam os próprios autores. O desenvolvimento de CTAs com material biológico humano é um caminho sugerido para o incremento do potencial preditivo de carcinógenos em humanos. Segundo os autores, "existe uma necessidade de métodos alternativos para os testes de carcinogenicidade, que sejam mais rápidos, com melhor custo-benefício e dependam menos de animais" (p.1).

Segundo Baillie e Rettie (2011), estas e outras tecnologias poderão avançar significativamente nosso conhecimento sobre as bases moleculares e bioquímicas do metabolismo e toxicidade das drogas, em humanos e em animais, "contribuindo para o desenvolvimento de terapias mais seguras e eficientes" (p.26). De fato, a implementação de muitos dos métodos referidos nesta seção estão em curso em um grande número de empresas farmacêuticas. Amir-Aslani (2008) comenta que novas companhias farmacêuticas estão entrando no mercado apostando em novos modelos de avaliação de risco para estudos de toxicidade e de ADME. O autor oferece 18 exemplos de empresas públicas ou privadas, e seus respectivos métodos substitutivos - basicamente tecnologia *in vitro* e modelagem matemática e computacional, combinados ou não. Alguns exemplos destes instrumentos[53]: Oncologic, Hazard Expert, VITIC, TOPKAT, MCASE, CASE, CASEOX, Toxscope, ICSAS (Informatics and Computational Safety Analysis Staff), DSSTox, SYBYL, Bioprint, Toxexpress, Bioexpress, PrimaTox, Drugmatrix, Archimedes model, Starlit, Sarfari, ADMEns interactive, Biomap, Physiolab Systems e Coxen. Segundo o autor, tecnologias cada vez mais robustas assumirão um papel muito mais eficiente (em termos de custo e tempo) no desenvolvimento de novas drogas, o que "permitirá às companhias implementar melhores processos de tomada de decisão no desenvolvimento de produtos mais seguros" (p.927).

Outros autores ainda mencionam os instrumentos disponibilizados pela genômica, transcriptômica, proteômica e metabonômica (BARLOW e colaboradores, 2002; FENTEM e colaboradores, 2004).

> "Genômica" se refere ao estudo de um conjunto completo de genes de um organismo, célula ou organela, e a "proteômica" é o estudo do conjunto das proteínas expressadas pelo genoma, tecido, célula, etc. O termo "transcriptômica" é usado para descrever o estudo de um complemento integral de genes ativados, RNAs mensageiros, ou transcritos em um tecido específico em um momento particular. A "metabonômica" pode ser descrita como a medida de metabólitos de baixo peso molecular em uma célula em um momento em particular e sob condições ambientais específicas (FENTEM e colaboradores, 2004, p.619)

Ainda para Fentem e colaboradores (2004), o lugar das ciências "ômicas" ainda precisa ser melhor estabelecido na medicina clínica, mas que as informações obtidas através das mesmas geram dados que agregam valor a outras abordagens que se ocupam de entender o que está acontecendo com o paciente, "incrementando o processo diagnóstico e refinando a intervenção terapêutica" (idem). Os autores oferecem uma proposta de desenho experimental sem o uso de animais (figura 11).

[53] A descrição de cada um deles, assim como a empresa que o utiliza, é oferecida por Amir-Aslani (2008).

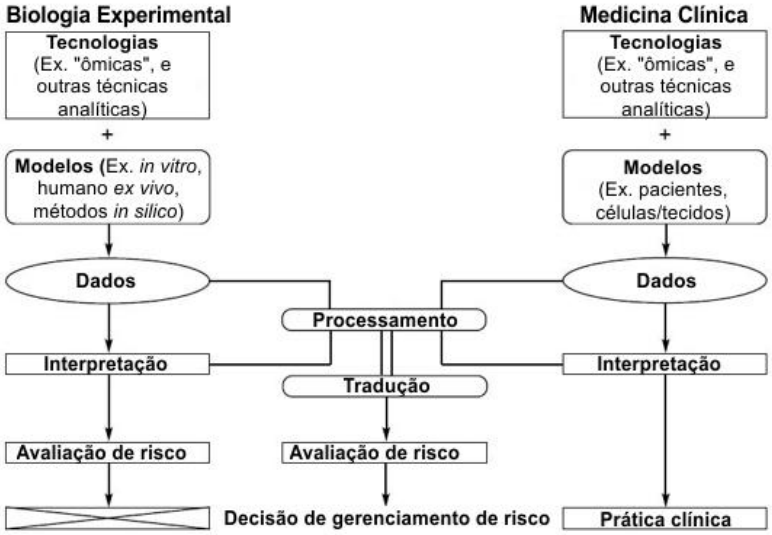

Figura 11. Proposta de uma nova abordagem para a avaliação de risco sem testes em animais (segundo Fentem e colaboradores, 2004).

Segundo Fentem e colaboradores (2004), a abordagem desta proposta parte do princípio de que as informações geradas a partir de modelos não-animais podem ser utilizadas na avaliação de risco de substâncias. Como pré-requisito para a utilização destas informações, dados similares no cenário clínico devem estar disponíveis para permitir uma tradução que fundamente a avaliação de risco e as decisões de gerenciamento de risco. Ainda, o processamento, interpretação e tradução da grande quantidade de dados gerados tanto nos ensaios experimentais biológicos quanto clínicos precisam ser tratados através de sofisticados recursos de bioinformática e bioestatística atualmente disponíveis. O emprego da abordagem da biologia sistêmica oferecerá maior robustez e suporte ao processo de interpretação, "ao oferecer uma melhor compreensão da complexidade biológica subjacente" (p.620).

Ainda que em nenhum momento os autores façam referência ao desenvolvimento de novos fármacos com relação a este fluxograma[54], podemos perceber uma similaridade da proposta destes autores com o fluxograma apresentado no início deste capítulo (figura 9, p.94)[55]. Ainda, após mencionarem que é plausível garantir a segurança das substâncias químicas aos consumidores sem a necessidade de testes em animais, os autores afirmam:

> Esta plausibilidade é derivada de duas origens: a) uma vez que o objetivo seja preservar a saúde humana e prevenir as doenças em humanos, pode ser argumentado que os efeitos em animais são de pouca significância ao ser humano *per se*; e b) avanços científicos modernos propiciarão insights radicais sobre a atividade dos sistemas biológicos, permitindo a seleção ou desenho de ensaios e abordagens de maior relevância, e melhor valor preditivo, para os humanos (p.621).

[54] Observação reforçada pelo fato de se tratarem de pesquisadores vinculados a uma indústria de cosméticos (Unilever).
[55] Desconsiderando o canto superior esquerdo da figura 9, e considerando a inclusão das fases de pesquisa clínica na figura 13 (onde se lê "prática clínica").

Os métodos substitutivos e o argumento "sistêmico"

O argumento "sistêmico", apresentado no capítulo anterior, é uma das principais críticas lançadas contra os métodos substitutivos - em especial no caso da tecnologia *in vitro*. Como observamos em Gomes-Carneiro e colaboradores (1997):

> No caso dos testes *in vitro*, há a necessidade de extrapolação do resultado obtido para a situação *in vivo*. Como os sistemas *in vitro* têm capacidade metabólica limitada e os sistemas extrínsecos de ativação metabólica (...) não reproduzem necessariamente a biotransformação da substância que ocorre no animal íntegro, resta sempre a possibilidade de um metabólito carcinogênico ser produzido in vivo, mas não nas condições experimentais *in vitro*. A superação desta limitação metodológica é vital para a substituição de animais por sistemas *in vitro* (...). Por enquanto, ainda é fundamental complementar os testes *in vitro* com pelo menos um ensaio *in vivo* na investigação do potencial genotóxico de qualquer xenobiótico (p.29).

Shanks e Greek (2009), comentando sobre este argumento, reconhecem que os processos vitais nos organismos são interligados, com influência múltipla de órgãos e sistemas: "o fígado influencia o coração, que por sua vez influencia o cérebro, que influencia o rim, e assim por diante" (p.359). Assim, a resposta de uma célula cardíaca isolada, a uma determinada droga, não será a mesma que a de uma célula num coração integrado ao restante do sistema. Segundo os autores, o fígado pode metabolizar a droga numa uma nova substância tóxica para o coração - o que não ocorreria numa célula isolada. A conclusão é a de que nem as culturas celulares, as modelagens computacionais ou a pesquisa *in vitro* podem substituir o sistema intacto de um organismo humano. Este raciocínio lógico é apresentado por Greek e Greek (2003):

> Vamos imaginar que o sistema S1 tenha mecanismos causais {a,b,c,d,e} e o sistema S2 tem mecanismos causais {a,b,c,x,y}. Se estimularmos o sub-sistema {a,b,c} de S1 com o estímulo Sf e obtermos o resultado Rf, então esperaríamos ter Rf do {a,b,c} do S2 da mesma forma - se o modelo for viável. Entretanto, esta correspondência será altamente provável se, e apenas se, {a,b,c} forem causalmente independentes de {d,e} e {x,y}. Nos sistemas biológicos (...) quase todos os sistemas interagem. Não temos nenhuma razão a priori para pensar o contrário (p.52)

Shanks e Greek (2009) lançam a seguinte questão: modelos animais são de fato sistemas intactos, mas são sistemas intactos causalmente relevantes para os sistemas intactos humanos? Segundo os autores, é desta forma que o argumento "sistêmico" se volta contra ele próprio.

O argumento utilizado por Gomes-Carneiro e colaboradores (1997) é seguido da seguinte observação:

> A outra limitação, mais complexa, é a incerteza subjacente à extrapolação de resultados entre espécies. Sabe-se que há consideráveis diferenças de resposta entre espécies e o que é observado em uma espécie pode não ser extrapolável para outra, tanto em termos quantitativos, quanto qualitativos (p.29).

Outras complicações

Para além das questões acima descritas, há ainda alguns pontos de complicação que podem ser percebidos tanto na literatura mais especializada quanto no meio social, que atualmente comprometem a manutenção e expansão do atual coletivo vivisseccionista, e favorecem a instauração de uma nova forma de pensar e fazer pesquisa. Apresentarei brevemente alguns deles, sem a intenção de aprofundá-los - para isso haverá indicação de fontes de leitura adicionais.

Um ponto que já está em debate há algum tempo diz respeito ao **valor histórico** das práticas científicas com animais. Como vimos na apresentação desta obra, há uma exaustiva menção ao valor histórico da experimentação animal como responsável pelos avanços nas condições de saúde humana, inclusive relacionando esta prática com o gradativo aumento da expectativa de vida do ser humano. No entanto, este ponto não está em concordância com algumas literaturas: é possível encontrar, principalmente em historiadores da ciência, perspectivas que contrariam esta versão.

Segundo Mckeown e Lowe (1974), os avanços nas condições de saúde humana podem ser observados principalmente a partir do século XVIII, onde ocorreu um progressivo declínio na taxa de mortalidade, que perdura até os dias de hoje. Os principais responsáveis por isso, segundo esses autores, foram: (a) aumento da oferta de alimentos, devido à revolução agrária que se iniciou na Europa após 1700; (b) incremento de hábitos e políticas de higiene, ao final do século XIX – "particularmente em relação ao suprimento de água e tratamento sanitário" (p.20); e (c) medidas médicas específicas (preventivas e terapêuticas), em especial a partir de 1935 – "o ano em que as sulfonamidas[56] foram utilizadas" (idem). Segundo os autores, a contribuição deste último fator foi bastante pequena em relação aos dois primeiros. Os autores oferecem, ainda, alguns gráficos através dos quais podemos avaliar o impacto da introdução de inúmeras medidas preventivas e terapêuticas. Os gráficos incluídos abaixo oferecem os exemplos da tuberculose (gráfico 13) e de outras doenças infecciosas (gráfico 14).

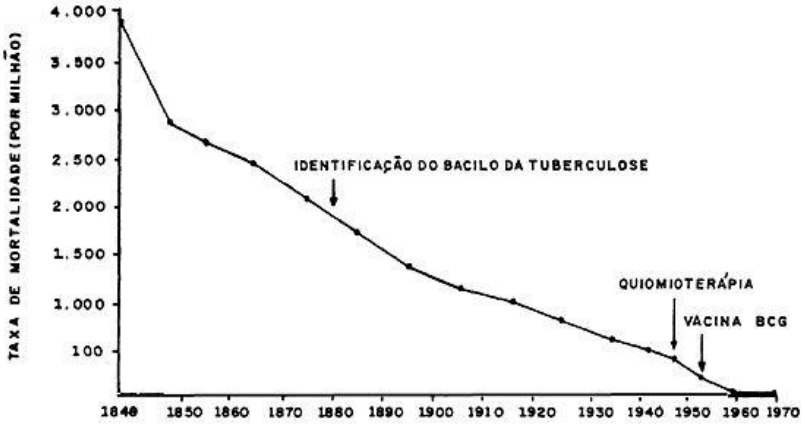

Gráfico 13. Taxa anual de mortalidade relacionada à tuberculose, no período de 1840 a 1970, na Inglaterra e País de Gales (segundo McKeown e Lowe, 1974)

[56] Grupo de antibióticos sintéticos utilizados no tratamento de doenças infecciosas.

Gráfico 14. Taxa anual de mortalidade relacionada ao sarampo, coqueluche, difteria e escarlatina, no período de 1900 a 2000, na Inglaterra e País de Gales (segundo McKeown e Lowe, 1974)

Segundo estes gráficos, podemos observar que os tratamentos com antibióticos e as vacinas tiveram um impacto bastante baixo, e foram introduzidos quando já havia um declínio natural das taxas anuais das referidas doenças, nos países investigados (Inglaterra e País de Gales). A mesma análise é encontrada em relação à taxa de mortalidade pela tuberculose no Rio de Janeiro, feita por Costa (1988). Nos Estados Unidos a leitura é similar. Segundo explicam os historiadores médicos John Mckinlay e Sonja Mckinlay (1977):

> Em geral, as intervenções médicas (quimioterapêuticas ou profiláticas) parecem ter contribuído pouco para o declínio da mortalidade nos Estados Unidos desde 1900 – e sua introdução em muitos casos se deu décadas depois de um declínio evidente ter se estabelecido e sem uma influência detectável na maioria dos casos. Mais especificamente com referência a estas cinco condições (gripe, pneumonia, difteria, coqueluche e poliomielite), para as quais o declínio da mortalidade aparece substancialmente após o ponto de intervenção – e na inferência improvável de que este declínio seja em conseqüência da intervenção – é estimado que cerca de 3,5% do declínio total da mortalidade a partir de 1900 pode ser atribuído às intervenções médicas introduzidas para as doenças mencionadas aqui (p.425).

É possível encontrar uma série de outras obras que refutam esta idéia de que os avanços científicos relevantes para o aumento da expectativa de vida do ser humano resultaram de experimentos com animais[57]. Nestas obras, muitos destes avanços, tradicionalmente atribuídos a pesquisas com animais, são analisados criticamente, de forma que outros fatores (não associados ao uso de animais) são apontados como determinantes para estes avanços – como no caso da penicilina, insulina, vacinas, transplantes, cateterização cardíaca, e inúmeros outros. Resumidamente, no livro "Clinical Medical Discoveries", de Beddow Bayly (1961), encontramos a seguinte passagem:

> A necessidade de um relato claro e documentado das conquistas do passado provém do costume predominante de autoridades médicas que apóiam e defendem a prática da experimentação em animais vivos, distorcendo fatos históricos e criando a impressão no público que cada diagnóstico médico e tratamento depende da vivissecção… Felizmente, mesmo a menor leitura cuidadosa das evidências disponíveis mostram a falsidade destas afirmações e fornecem a prova histórica do valor supremo da observação e experimentação clínica quando contrastado com a duvidosa e mesmo distorcida prática da experimentação animal (p. 18-19, *apud* Greek & Greek, 2000)

Podemos afirmar que um outro complicador que também vem comprometendo a expansão do pensamento vivisseccionista tem sua origem nos **estudos do campo da etologia**, já mencionados no capítulo introdutório. Uma série de descobertas recentes sobre o universo subjetivo dos animais passou a impor um dilema à prática da experimentação animal. Se, no início, estes estudos impulsionaram um tratamento mais "ético" ou "humanitário" aos animais de experimentação por parte de muitos pesquisadores (que eu denomino em minha tese de "momento da vivissecção-humanitária"), atualmente estas pesquisas estão provocando sérias considerações éticas a respeito do status moral e subjetivo dos animais envolvidos em experimentos – de grandes

[57] Citando apenas algumas: Victims of science : the use of animals in research (RYDER, 1975); Man and Mouse: Animals in Medical Research (PATON, 1984); Of Mice, Models, and Men: A Critical Evaluation of Animal Research (ROWAN, 1984); The Cruel Deception: Use of Animals in Medical Research (SHARPE, 1988); Animal Experimentation and Human Medicine (FRAZZA, 1995); Animal experimentation: a harvest of shame (FADALI, 1996); Vivisection Unveiled: An Expose of the Medical Futility of Animal Experimentation (PAGE, 1998); A verdadeira face da experimentação animal (GREIF & TRÉZ, 2000).

primatas, como os chimpanzés, a pequenos roedores. Talvez um dos mais importantes eventos neste campo tenha sido a publicação da Declaração de Cambridge, em meados de 2012, quando um grupo de eminentes cientistas da área da neurociência alegou haver provas científicas suficientes que animais são seres conscientes. A declaração conclui:

> A ausência de um neocórtex não parece impedir que um organismo experimente estados afetivos. Evidências convergentes indicam que animais não humanos têm os substratos neuroanatômicos, neuroquímicos e neurofisiológicos de estados de consciência juntamente como a capacidade de exibir comportamentos intencionais. Consequentemente, o peso das evidências indica que os humanos não são os únicos a possuir os substratos neurológicos que geram a consciência. Animais não humanos, incluindo todos os mamíferos e as aves, e muitas outras criaturas, incluindo polvos, também possuem esses substratos neurológicos.

No caso dos grandes primatas, em específico, há cada vez um maior consenso entre pesquisadores de que seu uso deva ser desestimulado – não apenas pelas considerações referentes ao valor preditivo deste grupo (explorados na seção 5.2.8), mas inclusive pelo reconhecimento de um status moral diferenciado dos outros animais. Os estudos de comportamento com estes animais são exaustivos, e demonstram invariavelmente padrões de comportamento muito próximos ao humano. As pesquisas de Ferdowsian e colaboradores (2011), por exemplo, indicam que chimpanzés desenvolvem sintomas pós-traumáticos (na forma de comportamentos anormais) que se configuram em síndromes similares às descritas em humanos, como o transtorno de estresse pós-traumático (TEPT) e a depressão. Esses achados consideraram inclusive animais que eram utilizados em experimentos biomédicos.

Um editorial recente da revista Scientific American, sob o título de "Pelo fim dos testes em chimpanzés", deixa clara esta preocupação, que inclui as dimensões éticas: "em nossa visão, é chegado o tempo de por fim à experimentação biomédica em chimpanzés" (SCIENTIFIC AMERICAN, 2011, online). Os editores deixam claro, já na abertura do texto, a motivação por trás deste histórico pedido:

> Os testes começaram logo após o primeiro aniversário de Bobby. Na época ele tinha 19 anos e tinha sido anestesiado mais de 250 vezes, e passado por inúmeras biópsias em nome da ciência. A maioria do tempo ele viveu solitário em uma apertada e enfadonha jaula. Bobby cresceu deprimido e enfraquecido, e começou a morder seu próprio braço, deixando cicatrizes permanentes. Bobby era um chimpanzé.

Mais adiante os editores reconhecem que estes animais, por serem evolutivamente próximos aos humanos, compartilham capacidades de emoção, incluindo o "medo, ansiedade, tristeza e ódio". Estas constatações sinalizam, claramente, a interferência dos novos conhecimentos sobre as práticas de pesquisa biomédica.

As críticas ao uso de primatas acabam por ser as mais facilitadas, devido ao compartilhamento de seu código genético com os humanos, e pela proximidade filogenética entre as espécies. No entanto, a contribuição de novos conhecimentos gerados pelo campo da etologia não se restringem apenas aos grandes primatas. Por exemplo, uma série de artigos também vem identificando um comportamento de diversão quando ratos são estimulados de forma a provocar cócegas. Segundo Panksepp (2005), a atribuição do "riso" como atributo exclusivamente humano é um equívoco. Chilros cacofônicos de cerca de 50kHz (inaudíveis para o ouvido humano) são emitidos durante brincadeiras, refletindo "sentimentos emocionais positivos" (p.62), segundo o autor, que já escreveu um livro sobre "Neurociência afetiva" – um subcampo da neurociência que se dedica a estudar os mecanismos nervosos da emoção, e estabelecer relações entre as emoções em humanos e outros animais. Recentemente, um estudo feito por pesquisadores da Universidade de Chicago demonstrou que ratos podem sentir empatia por seus semelhantes (BARTAL e colaboradores, 2011). Segundo a pesquisa, ratos livres procuravam abrir o compartimento onde outro rato se encontrava preso. Segundo os autores da pesquisa, a pesquisa demonstra uma "forte evidência das raízes biológicas do comportamento de ajuda motivado por empatia" (p.1427). Esta pesquisa, que já havia sido sinalizada por Langford e colaboradores (2006), teve uma

cobertura considerável na mídia brasileira. No portal do G1 (2011), o subtítulo da matéria foi: “Em experimento, animais *libertaram companheiros* de armadilhas. Comportamento nunca tinha sido presenciado em roedores” (grifo meu). No portal do iG (2011), o subtítulo foi parecido: “Experiência provou que roedores se esforçam para *libertar companheiros presos* e depois dividem chocolate com eles” (grifo meu). Na Folha (LOPES, 2011), o título da matéria foi “Ratos *libertam companheiros* em uma demonstração de empatia”. E a abertura da matéria: “Parece uma versão (menos sombria) do livro ‘A Revolução dos Bichos’, mas aconteceu de verdade, na Universidade de Chicago: ratos que aprenderam a libertar seus companheiros da prisão”. No âmbito social, a natureza variável de alguns comentários, postados para ambas as notícias, se faz pertinente antes de adentrarmos na próxima complicação:

> Ratos ajudam ratos, e homens maltratam ratos. As pessoas não imaginam o que esses bichos sofrem na mão dos “cientistas”. O homem não precisa de animais como cobaias, mas é barato e ninguém liga.
>
> Produtos são enfáticos em dizer “testado em ratos, ou coelhos”, não se sabe ao certo as reações no corpo humano, e pq? Pq o dna humano, em alguns casos, se ASSEMELHAM mas, NÃO SÃO humanos. Acordem voces, os presidios, estão ai, abarrotados de estupradores, homicidas, se alimentando com Nosso dinheiro, Pq não utilizam eles nos experimentos?
>
> Gente, vocês não vão acreditar mais já vi camundongos desarmarem ratoeiras depois que companheiros foram pegos e depois disso amarrei fortemente um pedaço de bacon duro na ratoeira de modo que não conseguiriam retirar sem desarmar a ratoeira de metal muito sensível. Acontece que eles não sei como conseguiram tirar a isca SEM desarmar a ratoeira!!! Veneno eles também pararam de comer. Depois eu simplesmente desisti de matar eles pois para mim eram humanos! especiais! e se foram do mesmo jeito que vieram.
>
> Você teria preferência em ser a cobaia na descoberta e na testagem das vacinas pioneiras? Você se submeteria a procedimentos que, se dessem certo, salvariam milhões? Não seja hipócrita. Caso não houvessem os experimentos com animais ainda estaríamos vivendo até os 35 anos e morrendo de gripe, tuberculose, diarreia, piolho, hepatite etc. Acorde! Essa sua postura de “salvem os animais” não passa de hipocrisia. Você se nega a tomar qualquer tipo de remédio? Se nega a ir aos hospitais? Tem dieta meramente frutariana? Não usa camisinha?

Como ilustrado por estes comentários, há um crescente envolvimento por parte da sociedade civil organizada frente a temática do uso de animais em experimentos. O tipo de abordagem que vimos acima, nas matérias sobre as pesquisas tanto com primatas quanto com ratos, pode contribuir com uma maior sensibilização dos indivíduos envolvidos em entidades de proteção animal, que acabam por exercer um papel importante na formação de opinião da sociedade em geral. Assim, como último complicador a ser identificado nesta pesquisa, proponho que há uma **pressão social** que, de uma forma ou de outra, pode constituir em fator de interferência na condução das pesquisas e na conduta dos pesquisadores.

Esta pressão foi considerada pelos editores da revista Scientific American que pediram o fim dos experimentos em chimpanzés. “A oposição pública está crescendo”, afirmam os editores, ao mencionar um projeto de lei apresentado recentemente por senadores norte-americanos, que proíbe pesquisas invasivas em grandes primatas (SCIENTIFIC AMERICAN, 2011). Em um rápido levantamento em sites de notícias na internet que realizei em janeiro de 2012, é possível encontrar as seguintes manchetes (todas fazendo referência a estudos do campo da etologia): “Chimpanzés sabem se companheiros estão cientes de perigo, diz pesquisa”; “Chimpanzés gostam de ajudar os demais, conclui estudo”; “Macacos reconhecem amigos em fotos, afirma pesquisa”; “Chimpanzés fabricam e usam brinquedo sexual”; “Chimpanzés usam o dobro de gestos do que se conhecia, diz

estudo"; "Cientistas descobrem como chimpanzés sentem a morte de filhotes"; "Chimpanzés têm consciência de si mesmos"; "Chimpanzés brincam como crianças humanas"; "Chimpanzés falam, mentem e recitam poesia usando sinais". De acordo com esta última matéria, publicada na Folha.com, o casal de pesquisadores responsáveis "lamenta que a difusão de suas surpreendentes pesquisas não tenham servido para deter os maus-tratos a estes primatas, mas acreditam que esta ideia chegue às escolas e provoque uma mudança de atitude nas novas gerações" (FOLHA, 2011, online).

Lendo tais manchetes, fica fácil entender como pode surgir uma pressão pública sobre as pesquisas biomédicas que fazem uso de primatas. No Brasil, os sites de uma série de entidades de proteção animal possuem seções voltadas exclusivamente para o tema da vivissecção. Um destaque pelas suas campanhas contra o uso de animais em experimentos científicos é o Instituto Nina Rosa, que lançou em 2006 o documentário "Não Matarás - os animais e os homens nos bastidores da ciência". "O tema principal deste documentário é um olhar abrangente sobre o sistema que mata mais do que salva" (INR, 2011), anunciam os produtores do documentário. Na página onde divulgam este material, os comentários de muitos estudantes do ensino médio sugerem que este vídeo vem sendo amplamente difundido no meio social, constituindo-se assim em elemento de disseminação de uma nova forma de se pensar o uso dos animais na ciência.

Por último, um outro importante complicador que vem sendo bastante promovido diz respeito à corrente filosófica da **ética animal**. Esta corrente, formada por uma diversidade de abordagens, vem atuando no sentido de expandir o círculo de consideração moral para outras espécies animais além do ser humano, a partir da crítica ao especismo e/ou ao antropocentrismo. É comum o uso dos estudos de etologia, apresentados anteriormente, para fundamentar tais abordagens (especialmente na caracterização do animal enquanto sujeito) – sem que se limitem a eles, no entanto. Neste campo da filosofia moral é possível encontrar uma volumosa produção acadêmico-literária que tornaria qualquer tentativa de simplificação bastante incompleta para este trabalho[58]. Mas o impacto que tais reflexões provocam constitui-se claramente como uma ameaça a continuidade da vivissecção. Prova disso são espaços em eventos científicos sobre experimentos em animais onde este tema é cada vez mais presente.

[58] Para um maior aprofundamento, o capítulo 2 do livro de Felipe (2007) é bastante esclarecedor.