

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CAMPUS REITOR JOÃO DAVID FERREIRA LIMA - TRINDADE
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA CELULAR, EMBRIOLOGIA E GENÉTICA
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

Larissa Redivo dos Santos

Título: Perspectivas e caminhos sobre métodos alternativos ao uso dos animais na pesquisa:
um enfoque na sensibilização da pele e no *QSAR Toolbox*

Florianópolis

2021

Larissa Redivo dos Santos

Título: Perspectivas e caminhos sobre métodos alternativos ao uso dos animais na pesquisa:
um enfoque na sensibilização da pele e no *QSAR Toolbox*

Trabalho Conclusão do Curso de Graduação em
Licenciatura em Ciências Biológicas do Centro de
Ciências Biológicas da Universidade Federal de Santa
Catarina como requisito para a obtenção do título de
Licenciado em Ciências Biológicas

Orientador: Prof. Dr. Guilherme de Toledo e Silva

Florianópolis

2021

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Santos, Larissa Redivo dos
Perspectivas e caminhos sobre métodos alternativos ao
uso dos animais na pesquisa: : um enfoque na sensibilização
da pele e no QSAR Toolbox / Larissa Redivo dos Santos ;
orientador, Guilherme de Toledo e Silva, 2021.
96 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) -
Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências
Biológicas, Graduação em Ciências Biológicas, Florianópolis,
2021.

Inclui referências.

1. Ciências Biológicas. 2. In silico. 3. Substituição. 4.
Experimentação animal. I. de Toledo e Silva, Guilherme.
II. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em
Ciências Biológicas. III. Título.

Larissa Redivo dos Santos

Título: Perspectivas e caminhos sobre métodos alternativos ao uso dos animais na pesquisa:
um enfoque na sensibilização da pele e no *QSAR Toolbox*

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de
“Licenciada no Curso de Ciências Biológicas” e aprovado em sua forma final pelo Curso de
Ciências Biológicas

Local, 10 de maio de 2021.

Prof. Dr. Carlos Roberto Zanetti
Coordenador do Curso

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Guilherme de Toledo e Silva
Orientador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Carlos Roberto Zanetti
Avaliador
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Guilherme Razzera
Avaliador
Universidade Federal de Santa Catarina

A utopia está lá no horizonte. Me aproximo dois passos, ela se afasta dois passos. Caminho dez passos e o horizonte corre dez passos. Por mais que eu caminhe, jamais alcançarei. Para que serve a utopia? Serve para isso: para que eu não deixe de caminhar.

(Eduardo Galeano)

AGRADECIMENTOS

Apesar da escrita ser um tanto solitária, ainda mais no período da pandemia, acredito que este trabalho seja uma obra coletiva. Portanto, devo agradecimentos a muitas pessoas que fizeram parte do processo de construção desse trabalho. Para além disso, minha existência e trajetória foi perpassada por tantas vidas, por espaços, por conhecimentos e pela natureza, portanto, acredito que devo agradecer ao ar, a água, ao sol, ao fogo, à terra, à tempestade, à chuva, ao mar, aos céus coloridos, as plantas, os fungos e os demais animais. Hoje, no final deste trabalho, tenho a certeza de que muitos dos pensamentos que aqui estão registrados foram coletivos e levo para a vida que a construção dos caminhos deve ser assim! Inúmeras conversas, desabafos, conflitos, reflexões, leituras, gargalhadas e muitos momentos prazerosos que dividi com uma rede de pessoas sem as quais muitos dos resultados aqui presentes não seriam possíveis. Registro aqui a síntese de afetos verdadeiros, amizades sinceras e conexões profundas que se fizeram presentes nestes cinco anos de graduação.

Aos meus pais, Márcia e Ricardo, pelo amor, afeto, incentivo e apoio durante toda minha vida. A vinda para a ilha da magia foi um grande desafio para mim, mas o fechamento desse ciclo mostra como há amadurecimento e lindezas guardados pelo caminho. Obrigada pelos conselhos, pela paciência e por estarem sempre ao meu lado. Ao restante da minha família, apesar da distância geográfica, muito obrigada pelo carinho!

Ao meu orientador, Guilherme de Toledo e Silva, primeiramente, por acreditar nos meus sonhos. Obrigada pela paciência, atenção, incentivo, compreensão e confiança. Sou grata por todo tempo a mim dedicado e pelo acolhimento mesmo o meu trabalho não sendo seu foco de pesquisa, obrigada por toda ajuda! Aos meus amigos do LAGEN, obrigada pelas trocas, reuniões, pelos web happy hours e por tanto aprendizado, vocês são incríveis!

À Anna, Fabi, Kath, Tâmela pela revisão do texto e por apontarem melhorias no trabalho, muito obrigada!

Aos meus companheiros caninos, Phoebe e Matias, pelos carinhos, lambidinhas e por me acompanharem noites adentro enquanto escrevia esse trabalho. A presença de vocês na minha vida moldou muita minha compreensão da relação com os animais.

À Júlia Navarro por aquele almoço em 2014 em que conversamos sobre veganismo e que foi o catalisador para diversas reflexões e escolhas pessoais e coletivas que desencadearam

neste trabalho. Apesar dos acasos terem nos afastado, eu agradeço imensamente sua contribuição e presença na minha vida, te levo com boas memórias no coração!

Aos meus amigos de Brasília, em especial ao Bernardo, a Bruna, ao Jeoman, a Júlia, a Larissa, a Letícia, a Lisa, a Loércia, a Lorena, a Mari, ao Mendigo, ao Tiago e a Vitty, por me acompanharem nesta e outras jornadas da vida, por me ensinarem tanto sobre amizade e por continuarmos tão próximos apesar da distância geográfica. Pelo amor, carinho, risadas, piadas internas e por me apoiarem sempre. Obrigada por tanto!

À minha turma da biologia pela presença no embarque nesta jornada. Em especial, um agradecimento do fundo do coração para a Amanda, a Jana, a Fabi, a Mari e o William por me acompanharem tanto em sala de aula quanto fora, pelas conversas, risadas, festas, suportes nos trabalhos e carinho. Sou muito grata por dividir essa caminhada com vocês!

Aos meus veteranos queridos, em especial, à Anna, a Fernanda, a Kath e a Tâmela pelo carinho, apoio e companhia, ainda mais, durante a escrita do trabalho! Vocês são incríveis e vou levar no coração para toda vida! Obrigada pela amizade e por todos os momentos que a gente compartilhou e se apoiou (e que venham muitos outros!).

Aos queridos calouros, em especial, ao Vini pelos papos e desenhos e a Maria Eugênia pelas conversas profundas e pelos rolês doidos.

A Dani, ao Edu, a Gabi e a Jô por todo carinho, apoio, pelas conversas e aventuras pela ilha. Sou muito grata por ter topado com vocês na vida e por tantos aprendizados e momentos mágicos!

Ao Jacson e a Gigi pelas cervejas no desembargador, o yakissoba e as web conversas durante a pandemia. Obrigada pelo carinho, risada e conversas sobre viver no meio do mato.

Agradeço a Alexandra Elbakyan pela criação do Sci-Hub e sua luta pelo acesso livre das informações científicas. A utilização do site foi fundamental para a consultoria das referências utilizadas no trabalho.

Agradeço a todas as professoras e professores que me ensinaram tanto durante a vida!

Um agradecimento especial aos espaços que fizeram parte da minha vida na Universidade. Sou grata pelos almoços na feirinha de quarta, pela Biblioteca Universitária ser um espaço de leitura, de eventuais descansos nos pufes e por poder ter contato com um repertório de inúmeras obras que auxiliaram na minha formação como pessoa, pelo Restaurante Universitário (principalmente nos dias com batata palha hehe) por oferecer uma alimentação de qualidade todos os dias para vários participantes da Universidade, pelas saídas de campos que proporcionaram uma vivência prática da biologia, pelas árvores por me acolherem nas leituras

ou momentos de relaxamento no gramado, ao Cine Paredão e suas noites de filmes, pelos happy hours, pelas calouradas, pelas biolorgias com gummy (não tão) fraco, pelas festa da laranja com quentão, pelos eventos e formações no CABIO e na Atlética.

Agradeço por todos os espaços formativos e estágios que pude vivenciar durante a graduação. Simbiosis, Herbário, Laboratório de Sistemática Vegetal, Gauss, Coordenadoria de Gestão Ambiental, Biologia Total, Miolhe, Laboratório de Genômica e as pessoas que constroem esses espaços foram de extrema importância na minha caminhada, portanto, muito obrigada!

Agradeço a todos os sonhadores, a quem não se incomoda com utopias e aos que lutam pela dignidade das diversas vidas e suas expressividades (que também são diversas!).

Por fim, gostaria de agradecer a todos aqueles que são essenciais na construção da Universidade, mas que não recebem o devido reconhecimento: os funcionários da limpeza, do da Biblioteca, do Restaurante Universitário e inúmeros outros espaços, obrigada por manterem a Universidade pulsando!

RESUMO

A utilização dos animais é uma prática antiga, normalizada e que faz parte de diversas áreas no meio científico. Apesar disso, há uma necessidade cada vez maior de repensar a relação que temos com os animais e a validade dos dados obtidos dos estudos realizados com eles. Isso porque há diversos problemas e falhas na predição dos resultados e na extrapolação para os seres humanos. Essas problemáticas implicam em danos desnecessários tanto aos animais, que são objetos da experimentação, quanto aos seres humanos. Nesse sentido, há um crescente movimento contrário ao uso dos animais na ciência e que busca por alternativas. Existem diversos métodos *in silico*, *in chemico*, *in vitro*, *in vivo*, *ex vivo* e tecnologias ômicas que podem ser combinadas por meio de abordagem integrada (IATA), como alternativas aos testes em animais. A área de toxicologia de pele tem tido grandes avanços impulsionado pela decisão, em 2013, da União Europeia em proibir a realização de experimentação animal relacionada com produtos cosméticos. Focando nas ferramentas *in silico*, o *software OECD QSAR Toolbox* é uma ferramenta computacional gratuita que busca oferecer suporte para a avaliação de risco químico. O presente trabalho busca descrever e divulgar métodos alternativos e realizar um levantamento bibliográfico de pesquisas relacionadas com o *QSAR Toolbox*. Para isso, foi efetuada uma busca no periódico PubMed sobre o programa e, em seguida, foi feita uma seleção dos trabalhos que focavam na área de sensibilização da pele. Além disso, foi realizada uma compilação de ferramentas relacionadas com métodos alternativos e sites que buscam divulgar iniciativas que apoiam a substituição dos animais. A problemática do uso dos animais na ciência é um tópico necessário tanto dentro como fora do meio científico e, de toda forma, há caminhos para uma ciência de fato ética e desvinculada da experimentação animal.

Palavras-chave: *In silico*, Biologia estrutural, Experimentação animal, Sensibilização da pele, Abordagem Integrada (IATA)

ABSTRACT

The use of animals is an old and standardized practice in several areas of the scientific community. Despite this, there is a need to rethink the relationship we have with animals and the validity of data obtained from studies conducted with them, due to several problems and flaws in the prediction of results and extrapolation to humans. These problems imply unnecessary direct damage to animals that are the object of experimentation and to humans. In this sense, there is a growing trend against to the use of animals in Science, which pursuit alternatives. There are already several methods *in silico*, *in chemico*, *in vitro*, *in vivo*, *ex vivo* and omic technologies that can be combined through an Integrate Approach on Testing and Assessment (IATA) as alternatives to animal testing. The area of toxicology, especially skin toxicology, has made great strides, driven by the European Union's decision, in 2013, to ban animal testing related to cosmetic products. Focusing on *in silico* tools, the OECD QSAR Toolbox is a free computational tool that supports chemical risk assessment. This study had as objectives to disseminate alternative methods and realize a bibliographic survey of adoption of QSAR Toolbox in research, focusing in articles studying skin sensitization research. In addition, alternative methods tools and websites that seek to publicize initiatives that support the replacement of animals were compiled. The issue of the animal use in science is a necessary topic inside and outside the scientific environment. There are paths to an ethical science, free of animal experimentation.

Keywords: *In silico*, Structural biology, Animal experimentation, skin sensitization, Integrate Approach on Testing and Assessment.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Proporção dos animais mais utilizados no meio científico. Fonte: (Baumans, 2004).	22
Figura 2 - Matriz 2x2 de resultados: distribuição dos resultados de um determinado teste em relação ao composto tóxico. (Adaptado de Bailey, Thew e Balls (2013)).	28
Figura 3 - Tendência no desenvolvimento clínico. Probabilidade do lançamento desde o início das fases 1, 2 e 3 de novas substâncias ativas (definidas como uma substância química, biológica, biotecnológica ou radiofarmacêutica que não estava previamente disponível para uso terapêutico em humanos a ser utilizado para a cura, alívio, tratamento, prevenção ou diagnóstico in vivo de doenças em humanos) A probabilidade de transição da fase II para a fase III também é mostrada. (Adaptado de: Dowden e Munro (2019)).	33
Figura 4 - Tendência recente em falhas nos ensaios clínicos. a) Razões para o fracasso em ensaios clínicos de fase II. b) Razões para o fracasso em ensaios clínicos de fase III. (Adaptado de: Harrison (2016)).	34
Figura 5 - Razões para falhas em ensaios clínicos 2013-2015. a) O gráfico de pizza ilustra o motivo da falha para os ensaios de fase II e fase III para os quais um motivo de falha foi relatado para todos os 174 ensaios clínicos. b) Razões para falhas em ensaios clínicos na fase 2 de 2013-2015. c) Razões para falhas em ensaios clínicos na fase 3 de 2013-2015. (Adaptado de: Harrison, 2016).	35
Figura 6 - Os dez principais países que utilizam animais para fins científicos. O gráfico foi feito a partir de números reais (representado com a cor preta), ajustados (representado com a cor cinza) e estimados (representado com a cor branca). A figura representa os números de procedimentos realizados no ano de 2015. Os valores foram ajustados de acordo com as definições da UE e os valores estimados foram derivados a partir do modelo estatístico. Fonte: Taylor e Alvarez (2019).	38
Figura 7 - Esquema exemplificando o uso de AOP como estratégia de teste sequencial para identificar um <i>endpoint</i> discriminante (positivo ou negativo). Adaptado de OECD (2016).	44
Figura 8 - Representação esquemática da estratégia de testes envolvida com a sensibilização de pele aplicada no estudo de Veen et al. (2014). Essa figura tem o propósito de ilustrar uma possibilidade de utilização do AOP com o modelo QSAR como parte das ferramentas utilizadas. Todos os testes envolvidos nesse exemplo são métodos que não envolvem a experimentação animal direta e foram aceitos pela OECD para fins regulatórios. Adaptado de: Veen <i>et al.</i> (2014).	45

Figura 9 - Representação esquemática do fluxo de trabalho do QSAR Toolbox. (Adaptado de: Yordanova et al. (2019)).....	54
Figura 10 - Representação descritiva da diferença entre o fluxo de trabalho automatizado e padronizado do QSAR Toolbox. (Adaptado de: Yordanova et al. (2019)).....	55
Figura 11 - Painel de trabalho do QSAR Toolbox. Em destaque os principais módulos de trabalho do programa.....	56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Nove categorias que os animais são utilizados no meio científico. (Adaptado de: Greek (2014)).	20
Tabela 2 - Diferenças e problemas metodológicos de estudos com animais e humanos críticos para a previsão dos efeitos das substâncias. (Adaptado de: Hartung (2013)).	25
Tabela 3 - Número de animais utilizados por departamento da Universidade Federal de Santa Catarina. Fonte: (PREUSS, 2018).	40
Tabela 4 - Número de animais vertebrados utilizados por espécie na Universidade durante o período de 2005-2010 e 2011-2015. Fonte: (PREUSS, 2018).	41
Tabela 5 - Cálculo da similaridade das estruturas selecionadas no QSAR Toolbox.	62
Tabela 6 - Resultado das buscas feitas no PubMed com as palavras-chave. 5* = os artigos selecionados na segunda pesquisa foram encontrados também na primeira pesquisa	63
Tabela 7 - Artigos selecionados.	64
Tabela 8 - Compilação de iniciativas e ferramentas que auxiliam no desenvolvimento de métodos alternativos ao uso de animais na pesquisa realizada durante o processo de levantamento bibliográfico da pesquisa	90

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AOP: *Adverse outcome pathway*

AVC: Acidente vascular cerebral

CCRF: *Chemical Category Reporting Format*

CEFIC: *European Chemical Industry Council*

CEUA: Comissão de Ética no Uso de Animais

CONCEA: Conselho Nacional de controle de experimentação animal

DAC: Dermatite alérgica de contato

ECHA: Agência Europeia das Substâncias Químicas

EM: Esclerose múltipla

EPA: Agência de Proteção Ambiental

ICCA: *International Council of Chemical Associations*

FarmaTec: Laboratório de Farmacologia e Toxicologia Celular

FF: Faculdade de Farmácia

HRIPT: *Human repeated insult patch test*

HSDB: *Hazardous Substances Data Bank*

IATA: *Integrate Approach on Testing and Assessment*

LabMol: Laboratório de Modelagem Molecular e Desenho de Fármacos

LLNA: Ensaio do linfonodo local murino

LPS: Lipopolissacarídeo

NAMs: Novas metodologias de abordagem

OECD: Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico

(Q)SAR: Modelos (quantitativo) de relação estrutura-atividade

REACH: Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals

RedEH: Rede Nacional de Educação Humanitária

RV +: Razão de Verossimilhança para teste positivo

RV -: Razão de Verossimilhança para teste negativo

SBF: Soro bovino fetal

TMRF: *Toolbox Model Reporting Format*

TPRF: *Toolbox Prediction Reporting Format*

UCP: Universidade Católica de Petrópolis

UFF: Universidade Federal Fluminense

UFG: Universidade Federal de Goiás

UFSC: Universidade Federal de Santa Catarina

UNC: *University of North Carolina*

USP: Universidade Federal de São Paulo

VN: Taxa Verdadeiro-negativo

VP: Taxa Verdadeiro-positivo

VPP: Valor Preditivo Positivo

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	18
1.1 Como chegamos até aqui? Um olhar a partir da utilização dos animais no meio científico 18	
1.2 Uso dos animais na ciência.....	19
1.3 Princípios das Técnicas Experimentais Humanitárias (3Rs).....	21
1.4 A escolha do modelo animal	21
1.5 Os problemas do modelo animal	23
1.6 Número de animais utilizados para fins científicos.....	36
1.7 Alternativas ao uso dos animais no meio científico	42
1.8 Modelos <i>in silico</i> : potencialidades e limitações	46
1.9 Análise quantitativa da relação estrutura-atividade (QSARs).....	47
1.10 OECD QSAR Toolbox	49
1.11 Avaliação do potencial de sensibilização da pele.....	49
2. OBJETIVOS	51
2.1 Objetivo Geral	51
2.2 Objetivos Específicos	51
3. MATERIAIS E MÉTODOS	52
3.1 Análise da funcionalidade do <i>QSAR Toolbox</i>	52
3.2 Exemplo da utilização do <i>QSAR Toolbox</i> relacionado com o potencial de sensibilização da pele 52	
3.3 Revisão da literatura	52
4. RESULTADOS & DISCUSSÃO.....	53
4.1 Análise da funcionalidade do software <i>QSAR Toolbox</i>	53
4.2 Exemplo da utilização do <i>QSAR Toolbox</i>	62
4.3 Resultados do levantamento bibliográfico	63
5. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	68
REFERÊNCIAS	70
APÊNDICE A	79

ANEXO A 91

1.	Category definition.....	91
1.2.	Category members	91
1.3.	Profiles/metabolisms.....	92
2.	Consistency check.....	92
	Physicochemical similarity based on calculated parameters	92
	Not available	92
	Structural similarity.....	92
2.3.	Mechanistic similarity	93
2.4.	Additional endpoints	94

1 INTRODUÇÃO

1.1 Como chegamos até aqui? Um olhar a partir da utilização dos animais no meio científico

Esse tópico se baseia no capítulo 3 do livro “Experimentação Animal: um obstáculo ao avanço científico” (TREZ, 2015), no artigo de Ray Greek (GREEK, 2014), no capítulo 1 do livro “Ética e experimentação animal: fundamentos abolicionistas” (FELIPE, 2013) e no artigo de Vera Baumans (BAUMANS, 2004). Para compreender a construção do pensamento vigente na ciência biomédica relacionado com a experimentação animal, é importante analisar historicamente o papel dos animais nesse processo. O olhar histórico nos ajuda a entender que a ciência não é neutra.

A utilização dos animais em pesquisas pela sociedade ocidental é concomitante ao desenvolvimento da medicina, tendo início na Grécia Antiga. A dissecação de animais fez parte da estruturação do conhecimento do corpo humano e está presente nas obras de Aristóteles e Hipócrates. Cláudio Galeno (129-200), médico grego, fez experimentos em porcos, macacos e cães que fundamentaram as práticas médicas dos séculos subsequentes. Os estudos de Galeno combinado com a influência da Igreja Católica que não permitir a dissecação de corpos humanos, prolongaram os equívocos do conhecimento galênico até o início da Renascença, período em que a ciência experimental ficou estagnada.

Andreas Vesalius (1514-1564), considerado o “pai da anatomia moderna”, rompeu com o dogma de Galeno, assumiu abordagens empíricas realizando estudos anatômicos baseados, exclusivamente, em cadáveres de seres humanos. Apesar desse novo paradigma, a vivissecção em animais não-humanos iniciou-se no período do renascimento para compreender o funcionamento do corpo.

A transição da Idade Média para a Idade Moderna na Europa foi marcada por uma ressignificação na interação entre os seres humanos e animais e no papel destes nos estudos anatômicos e fisiológicos. A expansão da cultura europeia no final do século XV disseminou a medicina baseada na anatomia fundamentada na dissecação. A filosofia cartesiana de René Descartes (1595-1650) impulsionou a vivissecção ao afirmar que os sistemas vivos poderiam ser entendidos unicamente a partir de princípios mecanicistas. Ao distinguir o ser humano dos animais pela mente e a presença de linguagem que, conseqüentemente, representa a presença do pré-requisito para a capacidade de sentir dor, Descartes definiu legados em que a experimentação animal se baseia ainda hoje. A compreensão de animais como máquinas válida

a concepção de que eles não sofrem e exime da reflexão sobre a forma como nos relacionamos com esses seres.

Marcos como a descoberta dos anestésicos e a publicação da obra “A Origem das Espécies” de Charles Darwin (1809-1882), em que semelhanças entre os seres humanos e os animais são relacionadas, ampliam ainda mais a experimentação animal. Claude Bernard (1813-1878), determinista causal estrito, ao publicar o livro “Introdução ao estudo da medicina experimental”, apresenta a metodologia para o estudo experimental da medicina, os princípios para o estudo do modelo animal e para a transposição para a fisiologia humana. Para o fisiólogo francês era possível aplicar, de forma direta, as reações observadas em animais nos seres humanos. Os postulados de Koch também influenciaram a disseminação da experimentação animal ao se afirmar que é possível comprovar a patogenicidade de um microrganismo a partir da infecção de animais saudáveis. Os estudos das áreas biomédicas, como imunologia, toxicologia e farmacologia, acentuaram ainda mais o uso de animais durante o século XX. Esse apanhado histórico permite compreender pontos importantes que influenciaram a forma como atualmente os animais são utilizados no meio científico.

1.2 Uso dos animais¹ na ciência

Ao falarmos sobre a utilização dos animais no meio científico, partimos do princípio antropocêntrico e especista em que os animais são reduzidos à objetos. A normalização dessa visão desconsidera o valor inerente de cada animal e os simplifica ao mero valor instrumental (FELIPE, 2007). Nesse sentido, Medeiros (2013, p.227) destaca que:

“É inegável o sofrimento a que esses animais não humanos são submetidos, mesmo que por vezes procedimentos não invasivos sejam realizados, ou, quando invasivos, seja operada a anestesia. A questão é controversa e suscetível, ainda, de muito debate, contudo não se pode mais admitir o tratamento dos animais não humanos como seres ‘coisificados’ sem sentimentos, ou mesmo, sem dignidade, sem interesses a serem defendidos.”

Buscando fortalecer a necessária discussão no campo científico e da pesquisa sobre a relação entre os seres humanos e os animais e a experimentação animal, a partir deste ponto do trabalho iremos focar em argumentações científicas contrárias a essa prática. Entretanto, compreendemos que o debate deve abranger outras esferas sociais. Os animais podem ser

¹ Durante esse trabalho serão utilizados os conceitos de “animais”, “animais-humanos” e “animais-não-humanos”. Apesar da compreensão dos seres humanos serem animais, por conveniência, ao utilizar o termo “animais” terá como significado “animais-não-humanos”.

usados de muitas maneiras na ciência e na pesquisa científica. Greek (2014) apresenta as categorias do meio científico em que os animais são utilizados (Tabela 1).

Nove categorias em que os animais são utilizados no meio científico	
1	Animais são usados como modelos preditivos de humanos para a pesquisa de doenças como câncer e AIDS.
2	Animais são usados como modelos preditivos de humanos para testar drogas ou outros produtos químicos.
3	Animais são usados como “peças sobressalentes”, como quando uma pessoa recebe uma válvula aórtica de um porco.
4	Os animais são usados como biorreatores ou fábricas, como para a produção de insulina ou anticorpos monoclonais, ou para manter o suprimento de um vírus.
5	Animais e tecidos animais são usados para estudar os princípios fisiológicos básicos.
6	Animais são usados na educação para educar e treinar estudantes de medicina e para ensinar princípios básicos de anatomia nas aulas de biologia do ensino médio.
7	Os animais são usados como uma modalidade de ideias ou como um dispositivo heurístico, que é um componente da pesquisa científica básica.
8	Os animais são usados em pesquisas destinadas a beneficiar outros animais da mesma espécie ou raça.
9	Animais são usados em pesquisas a fim de obter conhecimento pelo conhecimento.

Tabela 1 - Nove categorias que os animais são utilizados no meio científico. (Adaptado de: Greek (2014)).

A seguir, serão apresentadas argumentações contrárias à experimentação animal, focando, principalmente, nas duas primeiras categorias da Tabela 1, que se baseiam na capacidade preditiva do modelo animal.

1.3 Princípios das Técnicas Experimentais Humanitárias (3Rs)

Em 1959, William Russell e Rex Burch publicaram o livro “Os princípios da técnica experimental humanitária” (RUSSELL; BURCH, 1959). Nesta obra, é apresentado e elaborado o conceito dos 3Rs, referindo-se aos princípios de substituição, redução e refinamento do uso de animais no meio científico. Os autores os descreveram nesta ordem, refletindo a ordem em que deveriam ser abordados.

Tréz (2015) aponta que há um conflito entre os 3Rs, visto que os princípios de refinamento e redução ainda reconhecem a validade dos animais como modelo preditivo para a extrapolação de dados entre diferentes espécies. Em contrapartida, o princípio da substituição possibilita apontar para métodos substitutivos.

Nesse sentido, Vogt *et al.* (2016) e Balls (2020) sugerem que, apesar das advertências sobre os limites do modelo animal na obra, estes continuam sendo utilizados em larga escala e sem contestação por grande parte da comunidade científica. E, além do sofrimento animal, os seres humanos também sofrem. Isso porque efeitos adversos, muitas vezes graves, acabam não sendo previstos em testes pré-clínicos. Sendo assim, a comunidade científica possui evidências que justificam se debruçar no princípio da substituição.

Conforme Davies *et al.* (2018), a regulamentação da pesquisa com animais é moldada cada vez mais por uma série de regulamentos, princípios, manuais, padrões, diretrizes e normas. O seu contexto e implementação refletem valores em torno da relação animais-humanos e animais não-humanos, mas também, a responsabilidade do vínculo entre a ciência e a sociedade. Os autores contribuem para a ideia da necessidade da colaboração e do diálogo interdisciplinares para a superação do atual paradigma em relação à experimentação animal. E também refletem a importância da história da ciência, uma vez que o olhar no passado científico tem potencial de impulsionar mudanças e nos levar além da realidade vivida no presente.

Além disso, Tannenbaum e Bennett (2015, pág. 120) comentam: “Os princípios foram apresentados não como a palavra final desta ciência, mas como uma base para desenvolvimentos futuros”, mostrando a necessidade de ampliar a discussão da substituição dos animais no meio científico para além do trabalho de Russell e Burch.

1.4 A escolha do modelo animal

A escolha do modelo animal mais adequado, assim como a possibilidade de extrapolar os resultados obtidos para os seres humanos, não segue delimitações muito claras na literatura

científica (TREZ, 2015). Segundo Ballatori e Villalobos (2002), os fatores principais na escolha do modelo animal são: “relevância biológica, ausência de fatores de confusão, disponibilidade de reagentes, células ou animais, facilidade de manipulação e armazenamento e reprodutibilidade, estabilidade e custo”. Jann Hau (2008) e Antenor Andrade *et al.* (2002) apontam que aspectos práticos associados à facilidade do manuseio, criação, uso, alimentação, o custo operacional e execução de procedimentos técnicos são essenciais no momento da definição.

Na Figura 1 é possível visualizar as espécies de animais vertebrados mais utilizadas no meio científico, sendo que camundongos e ratos representam 77% dos animais utilizados. A naturalização e praticidade diante ao uso dos animais no meio científico, principalmente os roedores, levam os cientistas a preferirem esse modelo mesmo em casos que eles apresentam desvantagens significativas (BALLATORI; VILLALOBOS, 2002).

Proporção dos animais vertebrados mais utilizados no meio científico

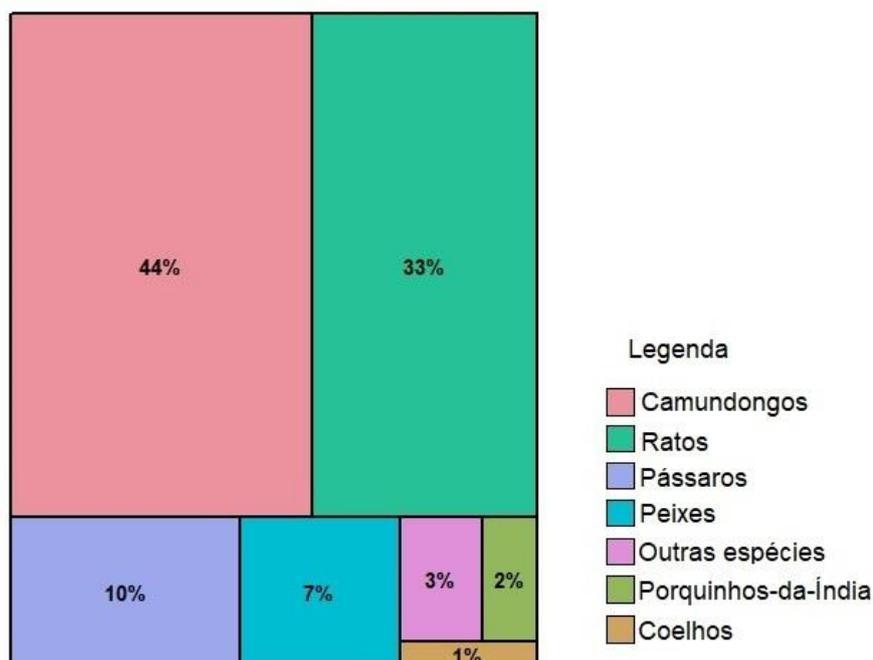


Figura 1- Proporção dos animais vertebrados mais utilizados no meio científico. Fonte: (BAUMANS, 2004).

Conforme Garner *et al.* (2017) relatam, há uma mudança de paradigma na utilização do modelo animal no meio científico. Essa mudança envolve a compreensão de que todo modelo é imperfeito, e que como a imperfeição afeta a aferência deve ser foco de um olhar mais crítico. Segundo os autores: “No nível mais central da questão do modelo animal, a pergunta deve

passar de “o que controlamos neste modelo?” para “o que escolhemos ignorar neste modelo e a que custo?”. Por isso, no próximo tópico serão apresentados os problemas do modelo animal.

1.5 Os problemas do modelo animal

Hartung (2013) sistematiza, na Tabela 2, diferenças e problemas metodológicos de estudos com animais e humanos críticos para a previsão dos efeitos das substâncias. Ao longo dos próximos tópicos será explorado com mais profundidade o conteúdo da tabela.

Diferenças e problemas metodológicos de estudos com animais e humanos críticos para a previsão dos efeitos das substâncias.

Tópicos	<ul style="list-style-type: none">• Pequenos grupos de animais (geralmente consanguíneos, geneticamente homogêneo) vs. grandes grupos de indivíduos geneticamente heterogêneo• Animais adultos jovens vs. todas as idades em testes em humanos• Animais normalmente apenas de um gênero• Espécies e cepas animais diferentes, com uma variedade de vias metabólicas e metabólitos de drogas, levando a variação na eficácia e toxicidade
Modelos de doença	<ul style="list-style-type: none">• Doenças artificiais, ou seja, diferentes modelos para induzir doenças em animais saudáveis ou lesões com semelhanças variadas com a condição humana da doença• Modelos animais agudos para fenômenos crônicos• Modelos de doença monofatorial vs. multifatoriais em humanos• Especialmente em modelos de camundongos <i>knock-out</i> (animais geneticamente modificados com a técnica de “nocaute gênico”), as respostas adaptativas em animais são subestimadas
Doses	<ul style="list-style-type: none">• Variações nos esquemas de dosagem de drogas (terapêutico para tóxico) e regimes (geralmente uma vez ao dia) que são de relevância incerta para a condição humana (ótimo terapêutico)• A farmacocinética e a toxicocinética de substâncias diferem entre animais e humanos
Circunstâncias	<ul style="list-style-type: none">• Alojamento e nutrição ideais e uniformes vs. situações humanas variáveis• Animais estão estressados• Terapia nunca concomitante vs. terapia frequente em humanos
Procedimento de	<ul style="list-style-type: none">• Não vs. contato verbal intenso

diagnóstico	<ul style="list-style-type: none">• Exame físico limitado vs. extenso em humanos• Exame laboratorial clínico padronizado limitado vs. individualizado em humanos• Tempo predeterminado vs. individualizado em humanos• Histopatologia extensa vs. excepcional em humanos• A duração do acompanhamento antes da determinação do desfecho da doença varia e pode não corresponder à latência da doença em humanos• Especialmente em estudos toxicológicos, a prevalência de efeitos na saúde raramente é considerada na interpretação dos dados
Design de estudo	<ul style="list-style-type: none">• Variabilidade na forma como os animais são selecionados para o estudo, métodos de randomização, escolha da terapia de comparação (nenhum, placebo, veículo) e relato de perda de acompanhamento• Pequenos grupos experimentais com poder inadequado, análise estatística simplista que não leva em conta a confusão potencial e falha em seguir os princípios da intenção de tratar• Nuances na técnica de laboratório que podem influenciar os resultados podem não ser reconhecidas nem relatadas, por exemplo, métodos para cegar os investigadores• Seleção de uma variedade de medidas de resultados, que podem ser substitutos ou precursores de doenças e que são de relevância incerta para a condição clínica humana• Projetos tradicionais, especialmente de estudos de diretrizes, oferecendo padronização, mas proibindo o progresso

Tabela 2 - Diferenças e problemas metodológicos de estudos com animais e humanos críticos para a previsão dos efeitos das substâncias. (Adaptado de: Hartung (2013)).

A forma como a comunidade científica se comporta diante do paradigma da experimentação animal

Pound (2020) afirma que há duas grandes vertentes envolvendo a experimentação animal no meio científico. A primeira afirma que deve haver melhorias na pesquisa envolvendo animais. Entretanto, para além da questão ética envolvendo postergar a compreensão desses animais como objetos utilizados em laboratórios, faltam evidências de que as melhorias na qualidade dos estudos pré-clínicos com animais irão realmente melhorar a tradução para as fases clínicas. E, ainda que os estudos pré-clínicos sejam executados perfeitamente, a extrapolação de dados de animais não-humanos para animais humanos ainda não é confiável pelas diferenças entre espécies. Esse problema será abordado com mais detalhes no próximo tópico.

Apesar dos defensores da pesquisa animal apontarem que os problemas da sua vertente são superficiais a ponto de não ser necessário questionar a experimentação animal, podemos apresentar o uso de animais geneticamente modificados como uma tentativa frustrada de melhorar o valor preditivo. Conforme Geerts (2009), apesar dos avanços na tecnologia para o desenvolvimento de animais transgênicos focando, principalmente, na doença de Alzheimer, estes avanços não resultaram em uma melhora significativa na taxa de sucesso para o desenvolvimento de novos medicamentos.

A segunda vertente, segundo Pound (2020), focada na promoção das novas metodologias de abordagem (NAMs), tem alguns desafios: estudos *in vitro* apresentam problemas de estruturação similares aos que utilizam animais, sendo importante padronizar as culturas celulares para que haja um aumento na reprodutibilidade. Além disso, a extrapolação *in vivo* para *in vitro* a fim de obter dados sobre absorção, distribuição, metabolismo e excreção é outro obstáculo. Focando nos métodos computacionais, a interpretação de dados é outro desafio levantado pela autora, devido à falta de transparência em quais parâmetros e limites são aplicados nas análises. Entretanto, a compreensão dos problemas da capacidade preditiva dos modelos animais e a sua tradução clínica devem ser o enfoque das discussões. E ainda, segundo a autora, as diferenças entre as espécies devem ser reconhecidas como uma anomalia grave para que haja uma real mudança de paradigma. As possibilidades e restrições das NAMs e o problema das diferenças entre as espécies serão explorados de forma mais detalhada mais adiante no texto.

Valor preditivo

Apesar dos testes em animais serem partes centrais para o desenvolvimento de drogas, ainda faltam evidências que esses testes têm valor preditivo confiável para os seres humanos, tanto na questão de eficácia, quanto de toxicidade/segurança (BAILEY; BALLS, 2019). Focando no problema em relação a toxicidade, (BAILEY, THEW; BALLS, 2013; BAILEY; THEW; BALLS, 2014 e BAILEY; THEW; BALLS, 2015), explicam que o teste diagnóstico é feito a partir do mesmo composto ser dado para os animais e os seres humanos. O que leva a uma matriz de resultados possíveis apresentada na Figura 2.

	Composto tóxico para o ser humano	Composto tóxico para o ser humano
Composto tóxico para o modelo animal	a: Verdadeiro-positivo (VP)	b: Falso-positivo (FP)
Composto não tóxico para o modelo animal	c: Falso-negativo (FN)	d: Verdadeiro-negativo (VN)

Figura 2 - Matriz 2x2 de resultados: distribuição dos resultados de um determinado teste em relação ao composto tóxico. (Adaptado de Bailey, Thew e Balls (2013)).

As células da matriz, apresentada na Figura 2, permitem a dedução de duas métricas amplamente utilizadas para avaliar a qualidade dos testes diagnósticos: a taxa Verdadeiro-positivo (VP) para o teste (ou sensibilidade = $a / [a + c]$), e a taxa Verdadeiro-negativo (VN) (ou especificidade = $d / [d + b]$). Bailey, Thew e Balls (2013) apontam que, geralmente, a confiabilidade do modelo animal como preditor de toxicidade em seres humanos é focada no chamado Valor Preditivo Positivo (VPP), dado por $a / (a + b)$. Conforme os autores destacam: “Essa variável representa qual a probabilidade de o modelo animal detectar corretamente a toxicidade humana, uma vez que a toxicidade foi observada no animal”. Entretanto, essa métrica não é suficiente para avaliar o peso da evidência do modelo animal como um indicador de toxicidade. Sendo necessário também compreender a especificidade do teste. Portanto, as métricas apropriadas são os Valores Preditivos (ALTMAN; BLAND, 1994).

Essas métricas representam as razões de funções de sensibilidade e especificidade extraídas da matriz da Figura 2. Focando na questão do modelo animal, duas são relevantes: A primeira é a chamada Razão de Verossimilhança para teste positivo (RV+), dada por: $RV+ = \text{sensibilidade} / (1 - \text{especificidade}) = (a / a + c) / (b / b + d)$. Conforme os autores destacam: “

essa variável representa quanto o modelo animal tem de acrescentar peso probatório à crença de que um composto específico é tóxico”.

A segunda métrica, chamada de Razão de Verossimilhança para teste negativo (RV-), “representa a capacidade de um modelo animal de acrescentar peso probatório à crença de que um composto específico não é tóxico”. Ela é dada por: $RV- = \text{especificidade} / (1 - \text{sensibilidade}) = (d / b + d) / (c / a + c)$.

Conforme os estudos destacam: um bom modelo animal para detectar toxicidade humana não é necessariamente bom também para detectar ausência de toxicidade (RV+ alto não garante um RV- alto). Como resultado, os autores afirmam que confiar em modelos falhos de testes de toxicidade implica em dois tipos de erros. Em primeiro lugar, caso os RVs+ dos modelos de toxicidade apresentam valores pobres, há o risco do falso positivo e, portanto, muitos compostos potencialmente úteis podem ser descartados equivocadamente. E, em segundo lugar, caso os modelos tenham RVs- pobres, muitos compostos tóxicos passarão para os testes em humanos e falharão em testes clínicos. Ou seja, muitas drogas tóxicas não estão sendo detectadas nos testes com modelos animais, podendo gerar danos sem necessidade aos humanos.

Em um exemplo quantitativo, os autores calculam que se um novo medicamento tem (com base em informações anteriores, como semelhança com outros medicamentos, dados de testes *in vitro* ou *in silico*) 70% de chance de não ser tóxico em humanos, então o teste negativo em qualquer uma das espécies avaliadas (cachorros, ratos, camundongos, coelhos e macacos) ampliará essa probabilidade para uma média de somente 74%. Portanto, os testes em animais não fornecem essencialmente nenhuma confiança adicional no resultado para humanos, mas a um grande custo ético e financeiro.

Rigorosidade dos testes, validação interna e externa e viés de publicação

Os argumentos expostos neste tópico apresentam um problema que afeta toda a ciência sendo, portanto, para além da problematização da experimentação animal. Entretanto, focando no escopo dessa pesquisa, os autores citados e seus respectivos trabalhos concentram-se na questão animal.

Plenge, Scolnick e Altshuler (2013) afirmam que o problema central da falha envolvendo o descobrimento de novas drogas está relacionado à capacidade limitada dos modelos de doenças pré-clínicas de prever a reação nos seres humanos.

Justice e Dhillon (2016) explicam que um projeto experimental pobre combinado com falta de rigor em relatórios e análises têm contribuído para a irreprodutibilidade de resultados, que são particularmente abundantes em trabalhos que usam modelos pré-clínicos.

Pound e Ritskes-Hoitinga (2018) afirmam que as tentativas de explicar as falhas envolvendo o modelo de desenvolvimento de drogas costumam se concentrar em problemas de validade interna dos estudos pré-clínicos com animais (citando, por exemplo, problemas no desenho de estudo e falta de medidas para controlar o viés). No entanto, os autores apontam a necessidade de também focar em revisar problemas de validade externa do uso dos animais. Pois é necessário levar em conta o fracasso dos modelos animais pré-clínicos em prever eficácia e segurança. Ademais, pelo entendimento de que os modelos animais são incapazes de imitar a complexidade das condições humanas e pelas diferenças biológicas entre os animais humanos e não-humanos. Geralmente, os estudos pré-clínicos são realizados com populações padronizadas de animais, gerando amostras homogêneas, que não extrapolam a heterogeneidade das populações humanas. Outro problema, levantado pelos autores, é que, enquanto muitas doenças humanas se manifestam em idades avançadas, geralmente, os animais utilizados em estudos pré-clínicos costumam ser jovens e saudáveis. Além disso, em geral os modelos animais usados não imitam a natureza lenta, progressiva e degenerativa de muitas das doenças crônicas humanas, nem envolvem a complexidade da comorbidade ou polifarmácia (pacientes humanos geralmente tomam mais de um tipo de medicamento). Bailoo, Reichlin e Wurbel (2014) reforçam os problemas de negligência no projeto experimental, de conduta durante a experimentação e de publicação (consciente ou não) da pesquisa com animais. Além disso, os autores falam da importância da validação interna e externa dos estudos.

Conforme Würbel (2017), a análise de benefício-dano é uma ferramenta para tomar decisões finais sobre se os protocolos de estudo atendem as expectativas de que o estudo com animais proporcionará novos conhecimentos significativos, facilitando benefícios relevantes, e nenhum dano desnecessário será imposto aos animais. Entretanto, conforme Gutfreund (2020), deve haver cautela ao escolher incorporar a análise de benefício-dano como parte da avaliação ética da pesquisa animal, isso porque essa análise pode levar a decisões que são prejudiciais tanto para a pesquisa, quanto para os animais, uma vez que pode ocasionar a tolerância de danos desnecessários para os animais. Conforme o autor explica, é difícil prever de forma individual o benefício de um estudo e, geralmente, a potencialidade benéfica para a saúde humana só é alcançada a partir de vários estudos, enquanto, os danos aos animais são causados diretamente no nível individual da pesquisa. Portanto, a classificação de uma pesquisa pela sua importância é inerentemente subjetiva. Corroborando com essa ideia, Vogt *et al.* (2016), avaliaram 1277

pedidos de experimentos com animais e 50 publicações derivadas realizadas na Suíça e encontraram taxas de relatórios muito baixas, o que indica que as autoridades que aprovam os estudos não possuem informações importantes sobre a conduta experimental que podem ser críticas para avaliar o benefício esperado em uma análise de benefício-dano. Assim sendo, a autorização dos experimentos com animais é baseada na confiança implícita, ao invés de evidência explícita de rigor científico. Da mesma forma, devido à falta de relatórios nas publicações, os manuscritos frequentemente são aceitos apesar da ausência de evidência de rigor científico.

Ainda segundo Pound e Ritskes-Hoitinga (2018), a experimentação animal enfrenta dificuldades na aplicabilidade das condições clínicas da “vida real”, faltando evidências ou adequações em relação às condições relevantes para os seres humanos. Por exemplo, drogas para esclerose múltipla (EM) e para doença de Parkinson frequentemente são administradas nos animais alguns dias antes do comprometimento neurológico. Como esses medicamentos podem funcionar bloqueando a indução da doença, eles não são relevantes para a condição humana porque os pacientes humanos não podem ser identificados antes do início da EM. No caso do acidente vascular cerebral (AVC), um medicamento testado, conhecido em inglês como *Tirilazad*, foi capaz de tratar animais com sucesso se administrado dentro de 10 minutos da indução do acidente vascular cerebral. Entretanto, dificilmente seres humanos vão conseguir ter acesso ao tratamento para AVC em um tempo tão curto. Em ensaios clínicos, os humanos receberam o remédio dentro de um tempo mais realista (5 horas), porém os ensaios não tiveram sucesso.

Schulz, Cookson e Hausmann (2016) corroboram com alguns pontos já levantados no texto sobre o uso do modelo animal como: concentrações de drogas que não podem ser alcançadas na fisiologia humana, janelas terapêuticas inadequadas nos modelos (por exemplo, medicamentos aplicados antes ou no momento do AVC) e uso de animais jovens para doenças em que a idade é o fator de risco mais importante. Além disso, os autores afirmam que os modelos animais apenas imitam a fisiologia humana de forma incompleta.

Bolker (2012) exemplifica o caso da doença de Parkinson em que os tratamentos potenciais frequentemente focam em avaliar a medição da função motora em um rato lesionado. Entretanto, o modelo do rato acaba não representando com clareza outros sintomas importantes que acometem em pacientes humanos, como declínio cognitivo. Esse enfoque pode acabar desviando os pesquisadores em considerar esses aspectos da doença.

Outro problema levantado é o viés dos estudos com pequenas amostras em que remover, de forma tendenciosa, animais pode alterar o resultado dos estudos e, assim, aumentar

a probabilidade de resultados falso-positivos. Holman *et al.* (2016) analisaram 100 publicações envolvendo estudos pré-clínicos com animais para derrame e câncer e compararam o número de animais relatados nos métodos e resultados. Os autores descrevem que mais de 50% dos experimentos apresentaram o número de animais utilizados como “incerto”. Além disso, poucos estudos relataram o motivo da perda do número de animais, o que pode acabar superestimando os resultados dos estudos. Ainda nesse sentido, segundo Keen (2019), a não publicação de resultados negativos envolvendo a experimentação animal leva a repetições desnecessárias de pesquisas com resultados falhos já conhecidos.

A reprodutibilidade é um pilar essencial do método científico. Entretanto, Smith e Lilley (2019) explicam a crise de reprodutibilidade que a ciência enfrenta. O incentivo de focar na quantidade de publicações em detrimento da qualidade e o empenho em publicar em periódicos de alto impacto são partes da cultura do meio acadêmico que devem ser questionadas. Os autores sugerem um maior tempo dedicado no teste de reprodutibilidade para avaliar a robustez e a generalização dos resultados e o investimento de fundos para métodos não-animais. Alguns dos problemas, como o viés de publicação levantado por Nissen *et al.* (2016), são de responsabilidade para além dos cientistas e, portanto, órgãos de financiamento e periódicos devem incentivar a publicação de resultados negativos e estudos de replicação.

Segurança e eficácia

Conforme Dowden e Munro (2019), atualizando os dados de Arrowsmith (2012) e Hartung (2013), 93% dos medicamentos que entraram na fase I dos ensaios clínicos entre 2016-2018 falham e não chegam ao mercado (Figura 3).

Tendência no desenvolvimento clínico

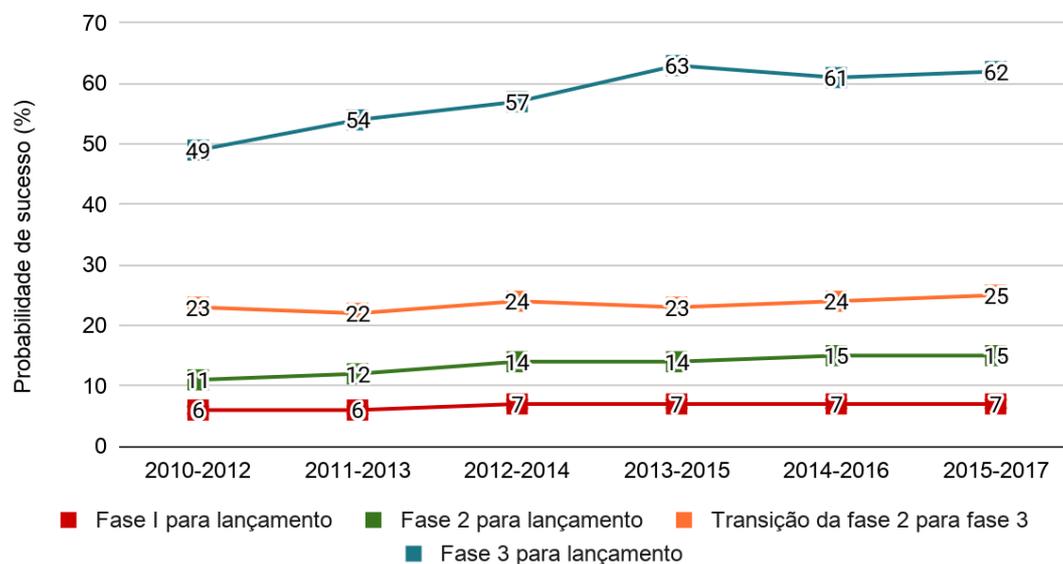
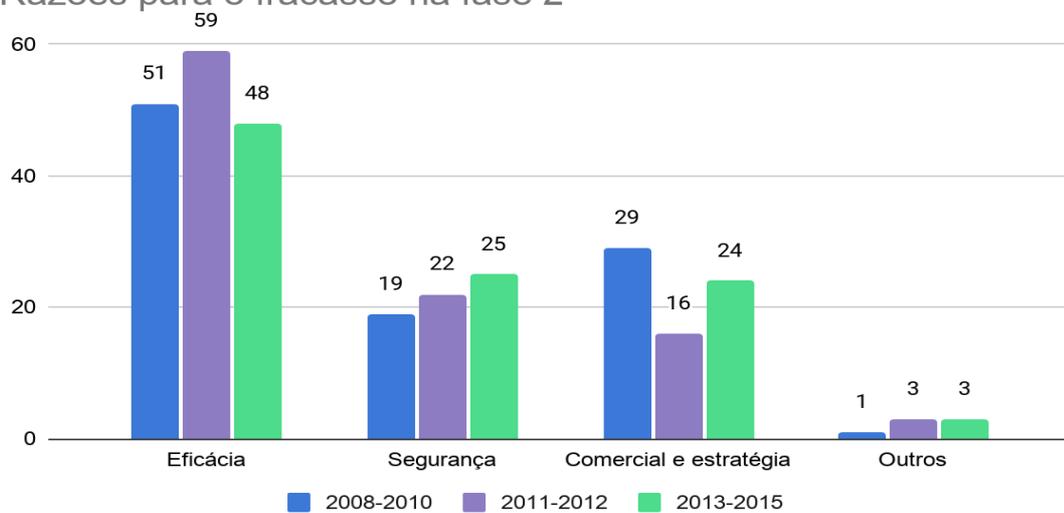


Figura 3 - Tendência no desenvolvimento clínico. Probabilidade do lançamento desde o início das fases 1, 2 e 3 de novas substâncias ativas (definidas como uma substância química, biológica, biotecnológica ou radiofarmacêutica que não estava previamente disponível para uso terapêutico em humanos a ser utilizado para a cura, alívio, tratamento, prevenção ou diagnóstico *in vivo* de doenças em humanos). A probabilidade de transição da fase II para a fase III também é mostrada. (Adaptado de: Dowden e Munro (2019)).

Olhando para as tendências históricas por fase de desenvolvimento, a eficácia insuficiente tem sido o motivo mais comum por falha nos ensaios de fase II, sendo responsável por cerca de metade de todas as falhas relatadas em cada período (Figura 4a). A eficácia insuficiente também foi a principal razão para o fracasso na fase III ensaios (Figura 4b), e é responsável por mais de metade de todas as falhas relatadas em cada período.

Razões para o fracasso na fase 2



Razões para o fracasso na fase 3

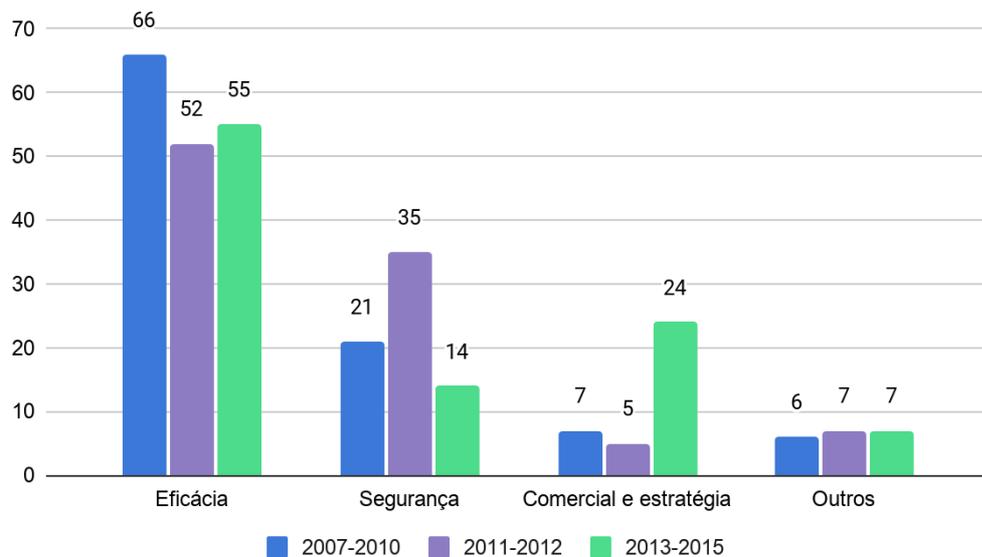
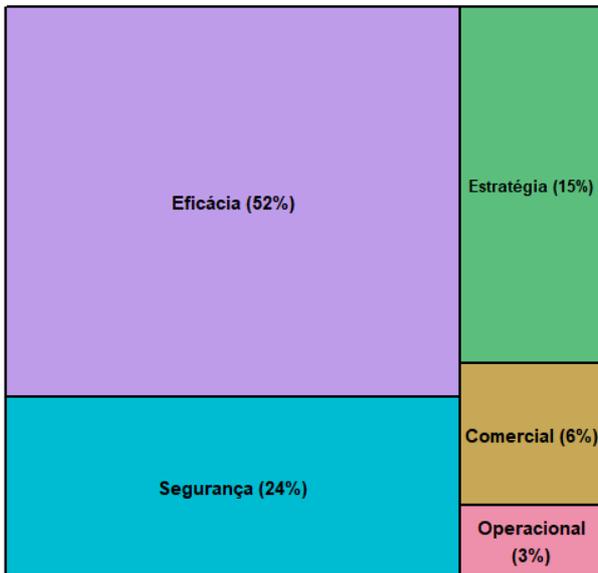


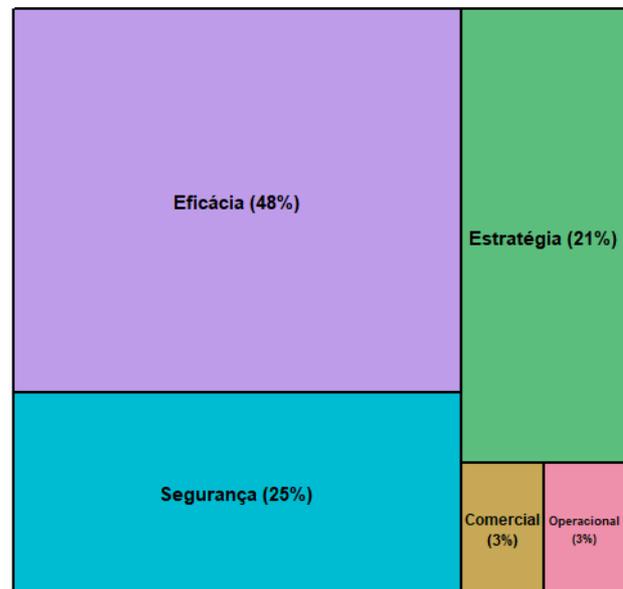
Figura 4 - Tendência recente em falhas nos ensaios clínicos. a) Razões para o fracasso em ensaios clínicos de fase II. b) Razões para o fracasso em ensaios clínicos de fase III. (Adaptado de: Harrison (2016)).

Harrison (2016) analisou os motivos de falha de 174 submissões de novos estudos clínicos de 2013-2015, 76% das falhas foram atribuídas à segurança (24%) e eficácia (52%) (Figura 5a). A Fase II apresenta falhas em que 73% são atribuídas à segurança (48%) e eficácia (25%) (Figura 5b). Já a Fase III também tem como eficácia insuficiente (55%) e segurança (14%) como os principais motivos para falha (Figura 5c).

Razões para falhas em ensaios clínicos (2013-2015)



Razões para falhas em ensaios clínicos na fase 2 (2013-2015)



Razões para falhas em ensaios clínicos na fase 3 (2013-2015)

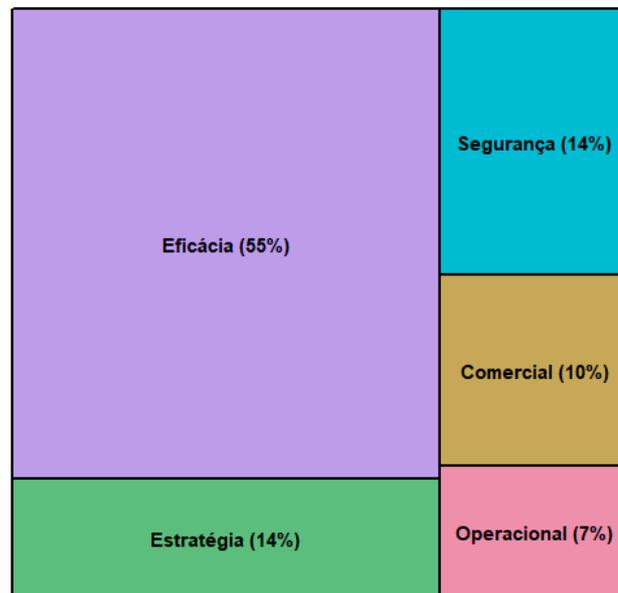


Figura 5 - Razões para falhas em ensaios clínicos 2013-2015. a) O gráfico ilustra o motivo da falha para os ensaios de fase II e fase III para os quais um motivo de falha foi relatado para todos os 174 ensaios clínicos. b) Razões para falhas em ensaios clínicos na fase 2 de 2013-2015. c) Razões para falhas em ensaios clínicos na fase 3 de 2013-2015. (Adaptado de: Harrison, 2016).

Esses dados levam a compreender que há uma problemática na transposição dos resultados dos testes pré-clínicos para os testes clínicos. Conforme Van Norman (2019b), “se

os testes em animais predizem com precisão a toxicidade humana, então por que as taxas de falhas relacionadas à toxicidade em testes clínicos em humanos são tão altas?”.

Os custos da experimentação animal

Outro ponto importante é sobre o lado financeiro da experimentação animal. Greek e Kramer (2019) argumentam que a consequência geral da confiança contínua em modelos animais é evidente quando se considera as falhas dispendiosas vistas no desenvolvimento de medicamentos. Segundo Van Norman (2019a), os estudos clínicos na fase II representam um ponto crítico na determinação do custo dos medicamentos. Visto que tantos medicamentos inicialmente promissores, acabam falhando justamente na primeira vez que são testados em pacientes humanos. Portanto, o custo da pesquisa com animais é alto tanto para os animais quanto para os seres humanos (tanto pela perda de medicamentos potencialmente benéficos quanto pelo atraso na aprovação desses medicamentos).

Segundo Freedman, Cockburn e Simcoe (2015), a partir da extrapolação de dados de 2012, US\$114,8 bilhões são gastos anualmente nos Estados Unidos em pesquisas em ciências da vida. Estima-se que do total, US\$56,4 bilhões (49%) são gastos em pesquisa pré-clínica. E, segundo os autores, aproximadamente US\$28 bilhões/ano são gastos em pesquisas que não podem ser replicadas e, portanto, o problema da reprodutibilidade também é economicamente significativo. O problema da reprodutibilidade também afeta o desenvolvimento de medicamentos, uma vez que a indústria farmacêutica geralmente replica os estudos de pesquisa acadêmica com aplicações clínicas potenciais antes dos estudos clínicos. Cada replicação do estudo exige entre 3 e 24 meses e investimento entre US\$500.000 e US\$2.000.000. Portanto, a irreprodutibilidade implica diretamente na velocidade e eficiência do processo de desenvolvimento de medicamentos.

Van Meer *et al.* (2012) questionam o valor limitado dos dados vindo de estudos com animais para farmacovigilância, dado que de 93 resultados adversos graves pós-comercialização, apenas 19% foram identificados em estudos pré-clínicos com animais. A descontinuidade de medicamentos já aprovados envolve problemáticas tanto para os pacientes quanto para toda a cadeia de produção e financiamento desses novos fármacos.

1.6 Número de animais utilizados para fins científicos

É difícil mensurar com precisão a quantidade de animais utilizados no meio científico em nível mundial, isso se dá porque muitos países não coletam ou divulgam dados sobre a quantidade utilizada e aqueles que divulgam geralmente excluem parte das espécies utilizadas

(TAYLOR *et al.*, 2008). Como exemplo podemos citar os animais invertebrados que, segundo Ballatori e Villalobos (2002), apesar de serem considerados seres menos complexos e mais distante evolutivamente dos seres humanos, são muito usados em razão de que muitos desses organismos “produzem grandes proles em ritmo acelerado, são mais econômicos de manter e tendem a atrair menos comentários de grupos de direitos dos animais”, mostrando novamente, como nossa relação com os animais é eticamente questionável. Segundo as autoras é contabilizada a quantidade de 115,3 milhões de animais utilizados anualmente, sendo que elas consideram que o número real é ainda maior. De acordo com um estudo feito por Baumans (2004) estima-se que o número seria algo entre 75 e 100 milhões anualmente.

Um estudo de Taylor e Alvarez (2019) em que foi calculado o número de animais² utilizados para procedimentos científicos³ mostrou outro número ainda mais alarmante. O estudo foi realizado a partir de relatórios nacionais oficiais de 37 países que disponibilizam a quantidade de animais utilizados por ano e, para os 142 países que não disponibilizaram seus números, foi realizado um modelo preditivo. O número total de procedimentos envolvendo o uso de animais em 2015 pelos 179 países⁴ considerados foi de aproximadamente 79,9 milhões. Contudo, o total de animais utilizados em 2015 (incluindo a extrapolação para animais mortos para suprimento de tecido, usados para manter colônias geneticamente modificadas e criados, mas não usados) foi de 192,1 milhões. Importante destacar que uma categoria de uso de animais que não é capturada pela extrapolação são os animais que estão sendo mantidos em laboratório e ainda não foram usados ou mortos, incluindo aqueles que não se destinam a ser usados em um procedimento, mas estão sendo mantidos para outros fins (como reprodução). Além disso, há o "viés de publicação" na literatura do meio científico, em que é menos provável que os experimentos que 'falham' ou que geram resultados 'negativos' sejam publicados, incluindo os estudos envolvendo animais.

² O estudo categoriza “animal” de acordo com a Diretiva da União Europeia em que abrange animais vertebrados não-humanos vivos, incluindo: independentemente da alimentação de formas larvais, e formas fetais de mamíferos a partir do último terço do seu desenvolvimento normal e cefalópodes vivos. (Fonte: TAYLOR; ALVAREZ, 2019).

³ O estudo categoriza “procedimentos científicos” também de acordo com a Diretiva da União Europeia da seguinte forma: “um procedimento é qualquer uso, invasivo ou não invasivo, de um animal para fins experimentais ou outros fins científicos, com resultado conhecido ou desconhecido, ou fins educacionais, que pode causar ao animal um nível de dor, sofrimento, angústia ou dano duradouro equivalente a, ou superior ao causado pela introdução de uma agulha de acordo com as boas práticas veterinárias. Isso inclui qualquer curso de ação com a intenção ou responsabilidade de resultar no nascimento ou incubação de um animal ou a criação e manutenção de uma linha de animais geneticamente modificados em qualquer condição, mas exclui a morte de animais apenas para uso de seus órgãos ou tecidos.” (Fonte: TAYLOR; ALVAREZ, 2019).

⁴ No estudo de Taylor e Alvarez (2019) foram considerados apenas os países com população humana maior do que 200.000 pessoas.

Ainda segundo o estudo de Taylor e Alvarez (2019), uma estimativa feita a partir de um modelo preditivo para o Brasil sobre a quantidade de procedimentos envolvendo o uso de animais em 2015, classificado pelo número de publicações baseadas em estudos em animais no PubMed em 2016, houve um aumento drástico de 86,4% de 2005 (em que o número previsto foi de 1.169.517 procedimentos) para 2015 (em que o número previsto foi de 2.179.621 procedimentos). Além disso, o Brasil ocupa a oitava posição entre os dez países que mais utilizaram animais em 2015. (Figura 6).

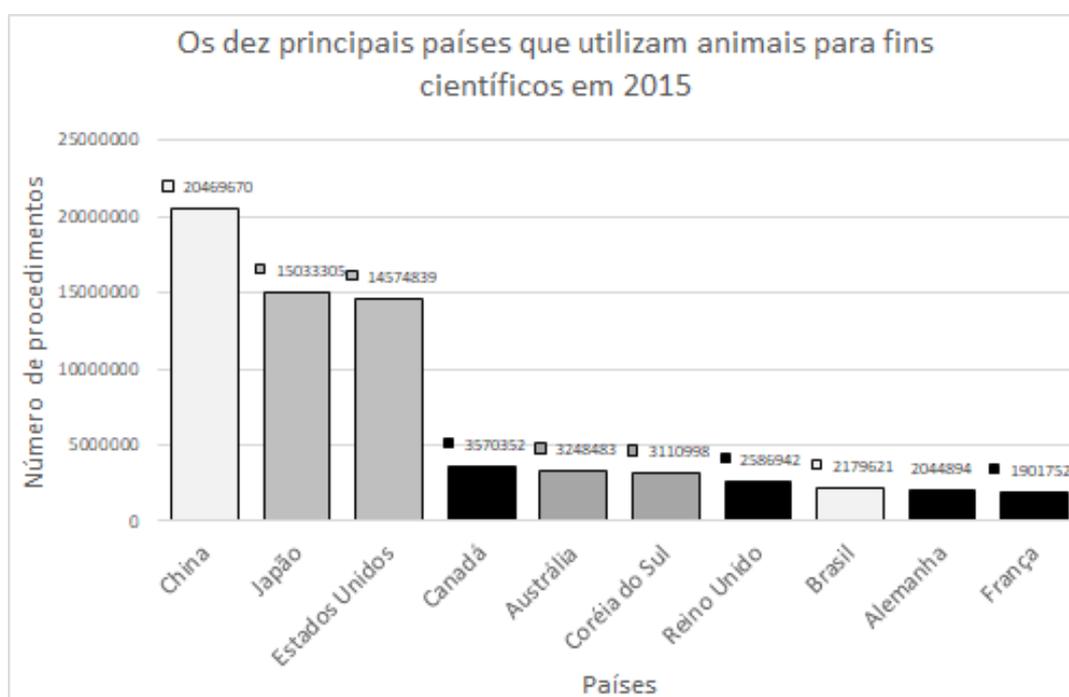


Figura 6 - Os dez principais países que utilizam animais para fins científicos. O gráfico foi feito a partir de números reais (representado com a cor preta), ajustados (representado com a cor cinza) e estimados (representado com a cor branca). A figura representa os números de procedimentos realizados no ano de 2015. Os valores foram ajustados de acordo com as definições da UE e os valores estimados foram derivados a partir do modelo estatístico. Fonte: Taylor e Alvarez (2019).

Focado na realidade local da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), o trabalho de Preuss (2018) contribui para um panorama mais específico da instituição. A autora analisou o impacto da criação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA/UFSC) e do Conselho Nacional de controle de experimentação animal (CONCEA) sobre o número de animais utilizado para pesquisa e ensino nos departamentos da UFSC. Como resultados, a pesquisadora avaliou que houve uma redução no número de animais utilizados nos 14 departamentos no período analisado entre 2005-2010 e 2011-2015 de 20,3%, mas ao aplicar teste estatístico para a amostra observou que não houve diferença estatística significativa entre as médias dos

períodos de estudo e, portanto, é necessário um período de análise maior visto que a redução pode ter ocorrido ou não devido a implantação do CONCEA (Tabela 3).

Departamentos UFSC (n=14)	2005-2010	2011-2015	Soma dos períodos	Varição das médias entre 1º e 2º período
Farmacologia	168.890	84.032	252.922	-40,29%
Bioquímica	43.592	36.032	79.624	-0,02%
Análises Clínicas	12.176	12.421	24.597	22,41%
Microbiologia	2.726	2.679	5.405	17,93%
Ciências Fisiológicas	40.017	39.797	79.814	19,34%
Nutrição	1.609	359	1.968	-73,23%
Biologia Celular, Embriologia e Genética	1.171	314	1.485	-67,82%
Órgão Suplementar	320	0	320	-100,00%
Ciências Morfológicas	70	421	491	621,71%
Cirurgia	213	2.621	2.834	1376,62%
Clínica Médica	430	1.073	1.503	199,44%
Laboratório Central de	163	0	163	-100,00%

**Microscopia
Eletrônica/Pró-
Reitoria de
Pesquisa**

Ciências 23 0 23 -100,00%

Farmacêuticas

Odontologia 144 284 428 136,67%

Total	271.544	180.033	451.577	-20,31%
--------------	----------------	----------------	----------------	----------------

Tabela 3 - Número de animais utilizados por departamento da Universidade Federal de Santa Catarina. Fonte: (PREUSS, 2018).

Por fim, houve uma análise de cinco espécies de animais vertebrados utilizados no meio científico de acordo com os relatórios do biotério central da UFSC (Tabela 4). Novamente aplicando teste estatístico para a amostra houve o resultado não significativo para a redução de 26,5% na quantidade de animais utilizados, portanto é necessário um período de estudo maior para avaliar se a implementação do CONCEA realmente gerou algum impacto. Seguindo a tendência demonstrada em escala global os roedores são os animais mais utilizados nas pesquisas. No caso da UFSC o camundongo Swiss foi o animal mais utilizado, e seguido em ordem decrescente pelo rato da linhagem Wistar, pelo rato da linhagem Hooded, pelos pombos, cães e por fim o porquinho-da-Índia, sendo que este último é o único animal que não é mais utilizado em estudos na Universidade.

Animais	Total no período 2005-2010	Total no período 2011-2015	Soma dos dois períodos	Varição entre 1º e 2º períodos
Camundongo Swiss (<i>Mus musculus</i>)	169.573	109.617	279.190	-35,4%
Rato Hooded	2.878	2.263	5.141	-21,4%

*(Rattus
norvegicus)*

Rato Wistar 96.564 86.118 182.682 -10,8%

*(Rattus
norvegicus)*

Pombo 722 345 1.067 -10,8%

(Columba livia)

Cão Beagle 96 90 186 -6,3%

*(Canis
familiaris)*

Porquinho-da-índia 65 0 65 -100,0%

*(Cavia
porcellus)*

Total	269.898	198.433	468.331	-26,5%
--------------	----------------	----------------	----------------	---------------

Tabela 4 - Número de animais vertebrados utilizados por espécie na Universidade durante o período de 2005-2010 e 2011-2015. Fonte: (PREUSS, 2018).

Um olhar crítico em relação à União Europeia e a proibição da experimentação animal relacionada a produtos cosméticos

Como neste trabalho iremos focar nas alternativas existentes relacionadas a toxicologia de pele, em especial, a sensibilização da pele e, em grande parte, os testes envolvendo esse tipo de experimentação são aplicados para avaliar a segurança de produtos como cosméticos, acreditamos ser importante compreender criticamente a decisão da União Europeia em proibir especificamente esses testes.

Em 11 de março de 2013, a União Europeia oficializou o fim da realização de experimentos com animais envolvendo todos os produtos cosméticos comercializados na União Europeia por meio da Diretiva 2003/15/CE.

Conforme Albuquerque e Rodrigues (2015), essa diretriz é resultado de mudanças em um longo processo da legislação europeia. Porém, existem críticas envolvendo a forma como a diretiva foi implantada por setores envolvendo a defesa dos direitos animais. Isso porque, há ingredientes que são utilizados em tintas, solventes, detergentes e remédios que ainda são

testados em animais, mas que também podem compor a fabricação de cosméticos. E, portanto, o banimento dos testes envolvendo animais deve ser impulsionado em outras áreas (BAUMGARTL-SIMONS; HOHENSEE, 2019). Esse posicionamento da União Europeia indica, também, a complexidade da problemática envolvendo alternativas à experimentação animal e demonstra a necessidade da atuação coordenada de vários setores sociais para além do meio científico para resoluções mais concretas a favor dos animais. Nesse sentido, McIvor (2019), explica que o progresso científico não representa, necessariamente, mudanças práticas, nas políticas públicas ou na legislação; mas o progresso político pode impulsionar a ciência. Portanto, são essenciais estratégias políticas eficazes.

1.7 Alternativas ao uso dos animais no meio científico

Madden *et al.* (2020) afirmam que devido à complexidade de avaliar os potenciais efeitos e a segurança de um composto químico e, compreendendo que não há atualmente disponíveis dados que abranjam a variação de tempo-concentração-meio de exposição e alvos a serem expostos, é necessário compreender que a avaliação da segurança química não será alcançada pela aplicação de apenas um único método alternativo. Sendo assim, cada método pode contribuir com informações essenciais para a compreensão de como um produto químico interage com um sistema biológico. Ferramentas como os modelos *in silico*, os modelos *in vitro*, o conjunto da ciência ômica, a tecnologia *organ-on-a-chip* são alguns exemplos que fazem parte das “*new approach methodology*” (NAM) - traduzido do inglês, de forma literal, como “metodologias de nova abordagem”. Esse termo refere-se ao conjunto de alternativas não animais, que podem ser usadas sozinhas ou em conjunto, para fornecer informações para avaliação de segurança.

Abe, Sezaki e Kinoshita (2019), endossam o desafio da obtenção de dados confiáveis sobre os potenciais de um produto químico a partir de apenas um único método alternativo. Nesse sentido, uma Abordagem Integrada em Testes e Avaliação (tradução literal do inglês para *Integrate Approach on Testing and Assessment (IATA)*)⁵ é uma abordagem que pode auxiliar a superar essa questão. O IATA pode incluir uma combinação de métodos que são resultados de uma ou várias abordagens metodológicas *in silico* (aqui incluindo o *QSAR Toolbox*, foco deste trabalho), *in chemico*, *in vitro*, *in vivo*, *ex vivo* ou tecnologias ômicas. Gerando, assim, uma avaliação mais abrangente e resultados com maior confiabilidade.

⁵ Para saber mais sobre essas abordagens é possível acessar o documento da OECD: [http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2016\)67&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/publicdisplaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2016)67&doclanguage=en) (Acesso em: 02 de fevereiro de 2021).

Conforme OECD (2016): A IATA deve fornecer uma organização que facilite a estruturação e a análise de informações dos métodos em diferentes níveis de organização biológica, para que assim os resultados dessas ferramentas possam auxiliar na tomada de decisão sobre os resultados adversos. Para isso, é empregado a “Via de resultado adverso” (tradução direta do inglês para *Adverse outcome pathway* (AOP)) que é uma sequência lógica de eventos-chave desencadeada pela exposição química e ocorrendo em nível molecular, celular, órgão, organismo inteiro ou em uma população.

A Figura 7 apresenta um exemplo de como a AOP pode ser utilizada como estratégia sequencial para a identificação de um ponto final (*endpoint*) discriminante (positivo ou negativo). Nesse exemplo, o evento de iniciação molecular (caracterizado por uma interação entre uma substância tóxica e o organismo, como por exemplo a ligação do químico com um receptor) é conhecido e pode ser caracterizado a partir do modelo (quantitativo) de relação estrutura-atividade - conhecido como ((Q)SAR). O resultado dessa previsão determina o caminho dos testes subsequentes. Caso o QSAR preveja um resultado positivo no teste de gatilho 1, em seguida, será realizado um ensaio que aborda o evento-chave 1 e tem uma alta previsibilidade positiva (baixos falsos positivos). Em contrapartida, se o QSAR preveja um resultado negativo no teste de gatilho 1 e, em seguida, irá desencadear o ensaio que aborda o evento-chave 1 e tem alta previsibilidade negativa (baixos falsos negativos). As substâncias para as quais o QSAR gera uma previsão inequívoca podem ser resolvidas no teste de gatilho 1 testando em um ensaio *in chemico* que aborda o evento de iniciação molecular. Um resultado positivo ou negativo deste ensaio determina qual tipo de ensaio de evento-chave 1 deve ser usado no teste de gatilho 2, ou seja, um com uma alta taxa de predição positiva ou alta negativa. Substâncias com resultados conflitantes de teste de gatilho 1 e 2 são testadas no teste de gatilho 3 por um ensaio chamado evento-chave 2 e uma abordagem de peso de evidência é usada para chegar a uma decisão final (OECD, 2016).

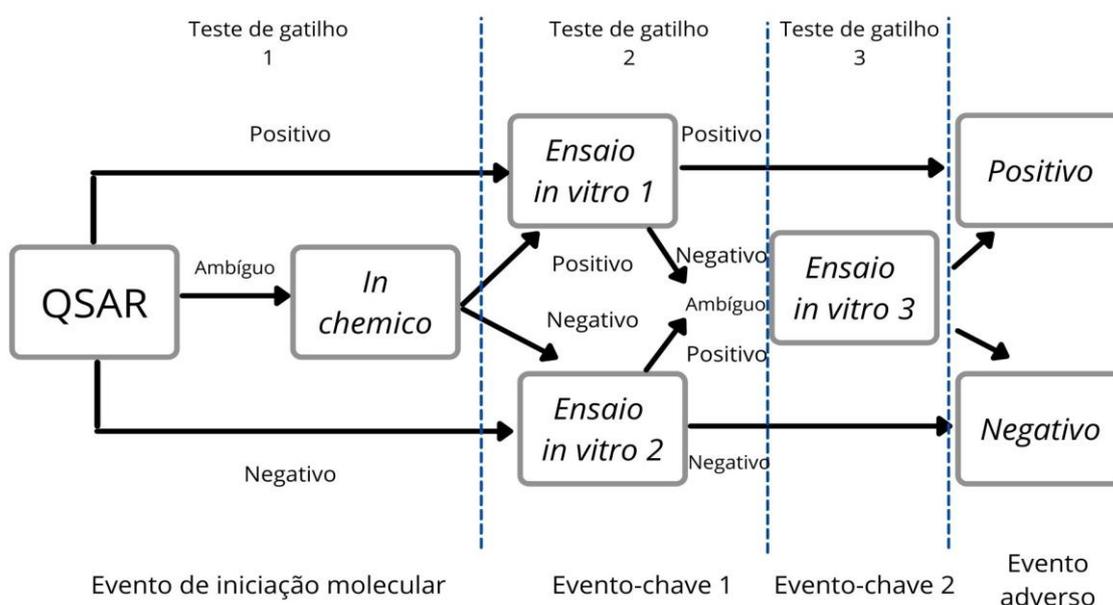


Figura 7 - Esquema exemplificando o uso de AOP como estratégia de teste sequencial para identificar um *endpoint* discriminante (positivo ou negativo). Adaptado de OECD (2016).

Veen *et al.* (2014) ilustraram um modelo de AOP focado na sensibilização de pele (Figura 8). Nessa abordagem os métodos são executados em sequência. O primeiro nível reflete a reatividade da proteína por meio de uma combinação do modelo QSAR com a reatividade do peptídeo. Aqui, a reatividade do peptídeo é usada para fornecer informações adicionais para os produtos químicos que o QSAR é incapaz de prever com probabilidade suficiente. Segundo os autores:

“O resultado dessa camada determina qual método de resposta epitelial é executado a seguir. Se for indicado um sensibilizador, o produto químico é testado no método epitelial com o menor número de resultados falso-positivos e, portanto, o maior valor preditivo positivo (VPP). Quando um não sensibilizador é indicado, o método epitelial com o menor número de resultados falso-negativos e, portanto, o maior valor preditivo negativo (NPV) é usado na segunda camada. Quando a primeira e a segunda camadas concordam, uma classe pode ser atribuída ao produto químico. Quando resultados contraditórios são obtidos, o método h-Clat determina a classe química na terceira camada.”

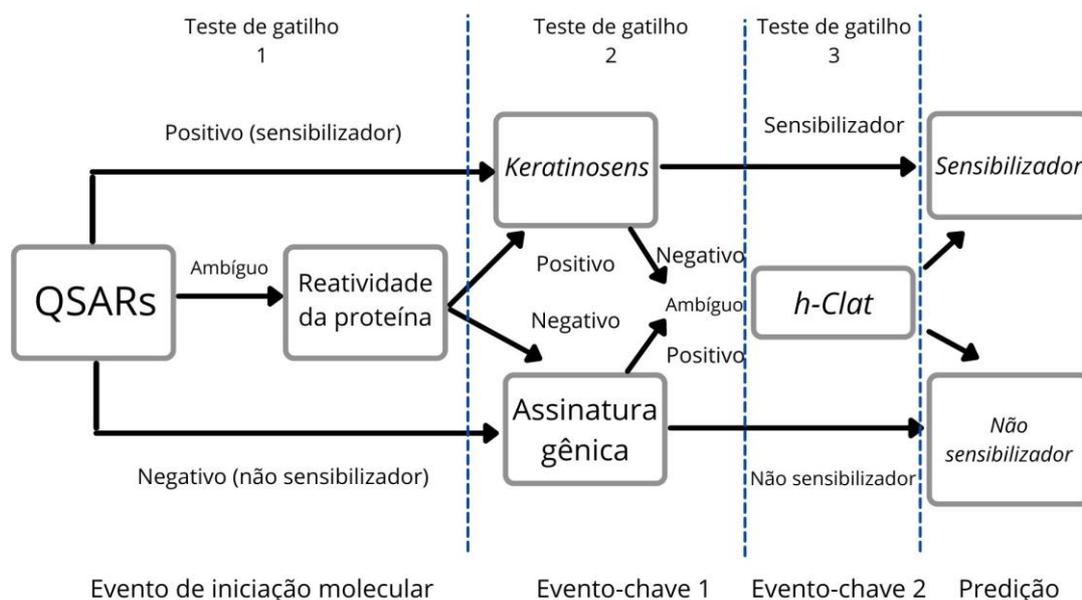


Figura 8 - Representação esquemática da estratégia de testes envolvida com a sensibilização de pele aplicada no estudo de Veen et al. (2014). Essa figura tem o propósito de ilustrar uma possibilidade de utilização do AOP com o modelo QSAR como parte das ferramentas utilizadas. Todos os testes envolvidos nesse exemplo são métodos que não envolvem a experimentação animal direta e foram aceitos pela OECD para fins regulatórios. Adaptado de: Veen et al. (2014).

Segundo Wilm, Kühnl e Kirchmair (2018), pela natureza dos experimentos envolvendo os animais, há uma cobertura de todo o processo de sensibilização da pele descrito no AOP, incluindo a ativação enzimática ou fisiológica do sensibilizador. Já os métodos de teste sem animais focam em eventos-chave únicos do AOP. Sendo assim, é recomendado que seja realizada uma associação de diferentes métodos de teste que não envolvam animais. Conforme um levantamento feito pelos autores que inclui os seguintes trabalhos: Raunio (2011); Mehling et al. (2012); Johansson e Lindstedt (2014); Ezendam et al. 2016; Goebel et al. (2017); OECD (2017) e Casati et al. (2018) a integração de métodos *in silico* é recomendada, em particular para a tarefa de previsão de potência. Além disso, Van der Veen et al. (2014); Urbisch et al. (2015); Alves, et al. (2016) e Benigni et al. (2016); Ezendam et al. (2016) são autores de estudos recentes que corroboram para a compreensão de que essas estratégias têm capacidade de maior precisão da predição na estimativa do risco para seres humanos do que as experimentações envolvendo animais.

Pensando na utilização, em específico, dos modelos QSARs para a predição, Verheyen et al. (2017), apontam que o uso de apenas um modelo QSAR para predição de sensibilidade de pele não é o ideal. Os autores demonstraram que a combinação de dois modelos QSAR melhora a precisão da previsão se comparado com o uso de um modelo individual, entretanto, o uso de três ou mais modelos reduz a precisão da previsão.

Adriaens *et al.* (2013) levantam um ponto importante da empreitada da substituição dos testes em animais que é compreender que as referências em animais não são perfeitas e devem ser levadas em conta as limitações desses modelos. Com isso, as incertezas dos modelos animais e os dados provenientes desses testes devem ser considerados ao avaliar/validar um método alternativo e/ou uma estratégia para substituí-los.

E, portanto, conforme Balls (2020) alerta, é importante que as novas metodologias não foquem em métodos que gerem precisamente os mesmos tipos de informações e resultados dos testes feitos atualmente em animais.

Van Norman (2020) aponta um aumento positivo no uso de métodos alternativos nos testes de produtos e em testes pré-clínicos. Em 2015, houve a publicação de mais de 88.000 estudos utilizando modelagem *in silico*, em contraste a 1990 quando houve apenas 7.405 estudos. Nesse mesmo período, foi observado uma redução do uso de porquinhos-da-Índia de 68% e de coelhos em 40% apontados como os mais utilizados na indústria cosmética.

1.8 Modelos *in silico*: potencialidades e limitações

A diversidade de ferramentas *in silico* para o desenvolvimento de métodos alternativos está associada à estrutura dos químicos de interesse. Madden *et al.* (2020) afirmam que o princípio fundamental desses modelos é que as propriedades intrínsecas, as potenciais interações e os efeitos finais de um produto químico são codificados em sua estrutura molecular. E, ao compreender essas propriedades, é possível desenvolver modelos (quantitativo) de relação estrutura-atividade - conhecido como ((Q)SAR) - ou modelo (quantitativo) de relação estrutura-propriedade - conhecido como ((Q)SPR). Espera-se que produtos químicos semelhantes produzam efeitos semelhantes. Portanto, o conhecimento de um produto químico (ou grupo de produtos químicos) pode ser usado para prever as características de produtos químicos análogos.

Há uma grande diversidade de nichos que utilizam as ferramentas *in silico*. Conforme Madden *et al.* (2020), os modelos têm sido usados na indústria farmacêutica, na indústria de cosméticos e produtos de cuidado pessoal, nas indústrias (agro)químicas e alimentícias para o desenvolvimento de produtos. Um ponto positivo levantado pelos autores é que essa troca de práticas e ideias entre os setores pode aumentar o avanço, a aceitação e a compreensão desses novos métodos, o que amplia o reconhecimento dos seus potenciais e amplia a utilização para fins regulamentares. Nesse sentido, o Regulamento de Registro, Avaliação, Autorização e Restrição de Substâncias Químicas (REACH, do inglês Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals) recomenda que os

produtos químicos sejam avaliados primeiramente em métodos alternativos, incluindo métodos *in silico* (EUROPEAN UNION, 2007). Além disso, segundo ECHA (2014), a EPA (Agência de Proteção Ambiental) nos Estados Unidos utiliza métodos computacionais como peso de evidência para a avaliação de risco de químicos.

Luechtefeld *et al.* (2018), compararam resultados obtidos em modelos animais e em modelos computacionais (utilizando a ferramenta *read-across* que prevê informações para uma substância alvo utilizando dados de análogos) para dados de perigos toxicológicos (sensibilização da pele, dano ocular, oral aguda, dérmica aguda, irritação/corrosão da pele, mutagenicidade, aquático crônico, aquático agudo, inalação aguda) e obtiveram como resultado que os métodos computacionais podem fornecer capacidade preditiva semelhante à dos modelos de teste em animais e potencialmente mais fortes em alguns domínios. Conforme Bottini e Hartung (2009), cerca de 3 bilhões de euros são gastos anualmente realizando testes de toxicologia em animais. Segundo Luechtefeld e colaboradores, muitos dos testes toxicológicos têm potencialidade de serem realizados a partir de metodologias *in silico* reduzindo tempo, custo e sofrimento animal. Além disso, os nove testes em animais analisados no estudo representam 57% de todos os animais utilizados para testes de segurança toxicológica na Europa em 2011. Portanto, as ferramentas *in silico* apresentam um grande potencial.

Além disso, conforme Wilm, Kühnl e Kirchmair (2018), ao comparar as abordagens computacionais com os métodos experimentais, essas apresentam vantagens como a produção de previsões de forma rápida, além de econômicas e não demandam a disponibilidade de dos materiais experimentais para os testes. Entretanto, a qualidade dos dados é um fator crucial para permitir uma melhor previsibilidade e aplicabilidade dessas ferramentas.

1.9 Análise quantitativa da relação estrutura-atividade (QSARs)

Hansch e Fujita (1964) descreveram pela primeira vez o modelo QSAR há quase 60 anos atrás. Desde então houve diversos avanços nesse método (NEVES *et al.*, 2018). Esse avanço pode ser observado na variabilidade de ferramentas desenvolvidas envolvendo o modelo QSAR. Focando na sensibilização da pele, Ezendam *et al.* (2016), apresentam um compilado de modelos gratuitos (*QSAR Toolbox*, *Toxtree* e *Vega*) e comerciais (*CASE Ultra*, *Derek Nexus*, *TIMES-SS* e *TOPKAT*) de QSAR. Além desses programas há também outros exemplos como o *PredSkin*, *REACHAcross*TM e *Danish QSAR Database* (GOLDEN *et al.*, 2021).

Conforme Madden *et al.* (2020), os modelos QSARs são utilizados para demonstrar a relação quantitativa entre propriedades de interesse para um produto químico e descritores que

são derivados de sua estrutura química. Sendo aplicados para previsão de (eco) toxicidade, potência de drogas, e também foram usados para prever propriedades físico-químicas (para essa última função são conhecidos como modelos quantitativos de relação estrutura-propriedade (QSPR)).

Entretanto, assim como qualquer modelo utilizado na ciência, há limitações. Madden *et al.* (2020) citam o “paradoxo da similaridade” referindo-se ao problema de substâncias químicas que aparentemente são semelhantes, mas que apresentam perfis de atividades diferentes. Cruz-Monteagudo *et al.* (2014) comentam sobre o problema dos “*activity cliffs*” - traduzido para o português, de forma literal, como “falésias de atividade” - em que pequenas mudanças na estrutura podem levar a mudanças extremas na resposta biológica, o que pode ser problemático para o desenvolvimento de (Q)SARs.

Outro problema apresentado por Fourches, Muratov e Tropsha (2016) refere-se à curadoria química e biológica dos dados como passo essencial para o sucesso dos estudos de quimioinformática. Conforme os autores apontam, é possível aplicar um fluxo de trabalho integrado de curadoria de dados químicos e biológicos, dividido em etapas para realizar o preparo, curadoria e padronização dos conjuntos de dados antes da modelagem.

Um ponto importante, levantado por Madden *et al.* (2020), é a importância da qualidade dos dados utilizados para a construção ou validação de um modelo (Q)SAR. Sendo um determinante da qualidade do modelo e da confiabilidade da previsão. Portanto, é necessário ter atenção com a verificação da precisão (por exemplo, evitar erros de transcrição em grandes compilações), a confiabilidade e a relevância dos dados e usar fontes primárias sempre que possível.

A Organização para a Cooperação e Desenvolvimento Econômico (OECD) tem uma série de cinco princípios que devem ser utilizados para a validação dos modelos (Q)SARs⁶. Conforme a documentação, os modelos devem ter um *endpoint* definido, um algoritmo transparente, um domínio definido de aplicabilidade e medidas adequadas de adequação, robustez e previsibilidade; e uma interpretação mecanicista, se possível.

⁶ A documentação pode ser acessada no seguinte endereço: Organisation for Economic Co-operation and Development (OECD) (org.). OECD principles for the validation, for regulatory purposes, of (quantitative) structure-activity relationship models. 2004. Disponível em: <http://www.ecetoc.org/publication/tr-116-category-approaches-read-across-qsar/>. Acesso em: 05 fev. 2021.

1.10 OECD QSAR Toolbox

O ano de 2002, conforme Jaworska *et al.* (2003), foi importante para o desenvolvimento dos modelos QSARs. Isso, porque foi realizado um workshop organizado pelo *European Chemical Industry Council* (CEFIC) e pelo *International Council of Chemical Associations* (ICCA) em Setúbal (Portugal) em que foi iniciado o desenvolvimento de princípios para a avaliação da adequação de QSARs para fins regulatórios. Como um dos resultados do workshop, a Organização para Cooperação Econômica e Desenvolvimento (OECD) se comprometeu com um projeto que tinha como um dos objetivos a criação do *OECD QSAR Toolbox* como uma abordagem prática, disponível, acessível, transparente e que não exigisse tantos recursos de infraestrutura.

O *software OECD QSAR Toolbox* (que será referido daqui para frente como *QSAR Toolbox*) é considerado um método alternativo ao uso dos animais. O programa *in silico* utiliza a modelagem QSAR, abordagem computacional que aplica técnicas de *machine learning* (ou aprendizado de máquina em português) e estatística para estabelecer correlações entre propriedades químicas intrínsecas (descrição químicas) e propriedades medidas (atividade, toxicidade, etc.) (ALVES *et al.*, 2018). Os modelos desenvolvidos são usados para prever as propriedades-alvo de compostos novos ou não testados, levando a um uso substancial tanto em toxicologia quanto em química medicinal para avaliar a segurança química ou projetar novos compostos. Como ferramenta computacional disponível gratuitamente, promove o uso de métodos de avaliação alternativos aos animais e minimiza testes desnecessários em animais sem reduzir a segurança da saúde dos seres humanos e do meio ambiente. O banco de dados do *software* está dividido em quatro categorias: propriedades físico-químicas, destino e transporte dos químicos até o ambiente, informação ecotoxicológica e risco para a saúde humana (OECD QSAR TOOLBOX, 2020). Na última categoria (risco para a saúde humana), um dos subgrupos é a avaliação do potencial de sensibilização da pele relacionado com a dermatite alérgica de contato. Essa área da toxicologia será melhor explicada no próximo tópico.

1.11 Avaliação do potencial de sensibilização da pele

Verheyen *et al.* (2017) explicam que a dermatite alérgica de contato (DAC) se refere a manifestação de uma alergia a substâncias aplicadas topicamente. Sendo uma reação de hipersensibilidade que pode ser induzida por produtos químicos reativos de baixo peso molecular que possuem a capacidade de penetrar a camada mais externa da pele, chamado estrato córneo. Estima-se, segundo Teubner *et al.* (2013), que 15 a 20% da população ocidental sofrerá com a dermatite de contato alérgica em algum momento durante a suas vidas, sendo

portanto, uma preocupação para a saúde humana. Sendo assim, a avaliação do potencial da sensibilização de pele é um processo essencial para definir medidas de segurança adequadas para químicos que podem entrar em contato com a pele (URBISCH *et al.*, 2016). Ainda segundo os autores, tipicamente, os testes com animais são usados para caracterizar o potencial de sensibilização.

Ao fazer uma linha histórica do avanço científico e o impacto na mudança nas experimentações, segundo Santos *et al.* (2018), o teste para irritação de pele chamado Ensaio do Linfonodo Local Murino (LLNA)⁷ foi desenvolvido como uma alternativa aos testes de Buehler e Maximização em porquinhos-da-índia⁸ [do inglês, *Guinea Pig Maximization Test (GPMT) / Buehler test (BT)*] que utilizavam um número ainda maior de animais. O LLNA tem sido utilizado para testes de sensibilização de pele e é apontado como um avanço pelas agências de controle envolvidas em métodos alternativos ao uso de animais (GERBERICK *et al.*, 2007). Nesse ensaio, os camundongos recebem a substância a ser testada no dorso da orelha e a avaliação da sensibilização cutânea é feita a partir da quantificação de linfócitos proliferados após a exposição repetida da substância por meio do sacrifício dos animais e da drenagem dos gânglios linfáticos auriculares (ROVIDA *et al.*, 2012). O potencial de sensibilização é expresso pelo valor EC3 (ou seja, a concentração necessária do químico para induzir um aumento de três vezes na proliferação de células dos linfonodos) (DUMONT *et al.*, 2016). Apesar da argumentação de que há uma redução na quantidade de animais envolvidos, ainda podemos classificar esse método como bem-estarista, pois ainda é pautado na utilização de animais. Portanto, compreendendo as limitações do modelo animal para esse teste (BASKETTER *et al.*, 2002; JOWSEY *et al.*, 2008; ANDERSON *et al.*, 2011) e tendo como horizonte a total substituição dos animais, ainda é necessário a busca por novos métodos científicos. Nesse sentido, conforme OECD (2014) e Golden *et al.* (2021), há esforços para a substituição desses testes *in vivo* por métodos alternativos, entre eles: testes para reatividade química e bioquímica direta (*in chemico*), testes para efeitos em células, tecidos e órgãos cultivados (*in vitro*), e

⁷ O teste é utilizado com o objetivo de identificar substâncias capazes de induzir dermatite de contato e tem como finalidade a quantificação celular nos linfonodos auriculares. Embora recomendado por agências internacionais envolvidas no desenvolvimento de metodologias alternativas, o LLNA ainda utiliza camundongos, modelo animal que apresenta contradições éticas no seu uso (SANTOS *et al.*, 2018).

⁸ “O teste de Böhler (BÜEHLER, 1965) e o teste Maximização (MAGNUSSON E KLIGMAN, 1969) são testes para identificar o potencial químico de uma substância de causar Dermatite de contato alérgica DCA. Todos os dois testes são realizados em duas etapas, na primeira etapa, a fase da sensibilização, os animais (cobaias) são expostos à substância de interesse através de uma ou mais vias de administração (aplicação tópica ou injeção intradérmica), em geral a aplicação é nas costas ou na região da nuca. Após algumas semanas, os animais são desafiados e expostos às mesmas substâncias da fase de sensibilização. A reação de hipersensibilidade de contato é medida em função do edema e/ou eritema observado.” (Fonte: SANTOS, 2010).

previsão de perigos modelada por computador (*in silico*). Sendo o modelo QSAR parte dos modelos *in silico* com potencial para avaliação de risco, em especial, para triagem de produtos químicos sensibilizantes da pele.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Este trabalho tem como objetivo problematizar a atual relação entre os animais humanos e não-humanos no meio científico e apresentar métodos *in silico* como alternativa ao uso de animais na pesquisa.

2.2 Objetivos Específicos

- Descrever e divulgar algumas possibilidades de métodos alternativos ao uso de animais na pesquisa focando no programa *OECD QSAR Toolbox*;
- Demonstrar, por meio de um exemplo, o funcionamento do programa *OCDE QSAR Toolbox* relacionado com o a área de sensibilização da pele;
- Realizar um levantamento bibliográfico de pesquisas envolvendo o programa *OCDE QSAR Toolbox*.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Análise da funcionalidade do *QSAR Toolbox*

A funcionalidade do *software* será examinada a partir da descrição e discussão das principais funções do programa. O artigo de Dimitrov *et al.* (2016) e os tutoriais encontrados na página oficial do *QSAR Toolbox* (<https://qsartoolbox.org/support/>) são a base teórica principal.

3.2 Exemplo da utilização do *QSAR Toolbox* relacionado com o potencial de sensibilização da pele

A substância utilizada para exemplificar a funcionalidade do software foi escolhida a partir do trabalho de Basketter *et al.* (2014), em que foi criado um conjunto de seis categorias (sendo a primeira classe com as substâncias com maior número de evidência de causar dermatite de contato alérgica e decaindo até a categoria cinco que indica as substâncias sensibilizadores fracas e a seis quando não há evidências convincentes de causar dermatite de contato alérgica, ou seja, não sensibilizantes).

Nesse exemplo foi escolhida uma substância da primeira categoria, ou seja, com grandes evidências de causar dermatite de contato, denominada Dinitroclorobenzeno. Conforme recomendado pelo manual do programa, foi selecionada uma substância com uma força das relações binárias (no software designado como “CS Relation”) classificada como alto (high) por indicar que a identidade química tem um procedimento de controle de qualidade bem estabelecido.

Após a inserção da substância no software, foi realizado o teste seguindo o fluxo de trabalho padronizado. Nesse fluxo, o usuário tem a liberdade de realizar algumas decisões durante o processo. Nesse caso, as escolhas foram sobre os dados experimentais relacionados com a questão da sensibilização da pele (escolhemos utilizar todos os dados experimentais disponíveis, ou seja, dos testes LLNA e GPMT) e sobre os bancos de dados (escolhemos utilizar todas as bases de dados disponíveis, ou seja, *skin sensitization*, *skin sensitization ECETOC* e *REACH skin sensitization database*).

3.3 Revisão da literatura

A revisão bibliográfica baseia-se na busca, análise e discussão da literatura existente sobre determinada área de conhecimento (GOMES; CAMINHA, 2014). Neste trabalho, foram realizadas duas revisões da literatura distintas. A primeira buscou responder a pergunta norteadora “Qual a percepção da comunidade científica sobre a ferramenta *in silico* relacionada

com a sensibilização da pele?”. Já a segunda buscou realizar um compilado das iniciativas e ferramentas relacionadas aos métodos alternativos ao uso dos animais no meio científico. As duas buscas foram constantemente atualizadas durante todo o período de produção do trabalho e foram finalizadas no final do mês de fevereiro de 2021.

Para a primeira parte, foi feita uma coleta de dados por meio da busca eletrônica na ferramenta de pesquisa PubMed (<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/>) utilizando as seguintes palavras-chave: “*QSAR Toolbox*” e “*skin sensitization*”. A partir da busca, a amostragem dos trabalhos encontrados foi selecionada através da leitura dos títulos, resumos e palavras-chaves dos artigos. Após a leitura, foram selecionados os artigos que tinham relevância para o escopo deste trabalho.

A segunda parte foi realizada durante o processo de levantamento bibliográfico para a produção deste trabalho por meio da procura em *sites* e da assinatura de *newsletters* de iniciativas relacionadas que buscam a substituição dos animais no meio científico.

4. RESULTADOS & DISCUSSÃO

4.1 Análise da funcionalidade do software *QSAR Toolbox*

Segundo OECD QSAR Toolbox (2020), a versão 4.4 do *QSAR Toolbox* contém 92.134 produtos químicos com mais de 2,6 milhões de dados divididos em quatro grandes categorias: propriedades físico-químicas (com 49.422 substâncias e 224.886 valores experimentais), destino e transporte dos químicos até o ambiente (12.728 substâncias e 140.684 valores de parâmetro), informação ecotoxicológica (21.206 substâncias e 1.115.797 valores de parâmetro) e risco para saúde humana (44.111 substâncias e 1.153.091 valores de parâmetro).

Conforme Dimitrov *et al.* (2016), o *QSAR Toolbox* apresenta vantagens em relação a outros *softwares* de modelos QSAR, auxiliando na ampliação da utilização desses modelos. Isso, por ser uma ferramenta “tudo inclusa”, que permite a aplicação de três diferentes metodologias de preenchimentos de lacunas de dados para produtos químicos em apenas um único *software*. As metodologias serão apresentadas com mais detalhes a seguir. Além disso, há uma maior possibilidade de interação do usuário com o programa em que é possível definir hipóteses, selecionar uma categoria de substâncias conforme a hipótese e desenvolver modelos preditivos. Tudo de forma mais flexível que outros modelos QSARs tradicionais.

Entretanto, conforme Abe, Sezaki e Kinoshita (2019), essa flexibilidade do programa pode gerar resultados de previsão variáveis dependendo dos usuários. Podendo ser uma desvantagem, uma vez que usuários menos experientes geralmente enfrentam dificuldades na

seleção de criadores de perfil e bancos de dados. Para tornar a utilização do *software* mais fácil, houve a criação de fluxo de trabalho automático e padronizado.

Fluxo de trabalho do *QSAR Toolbox*

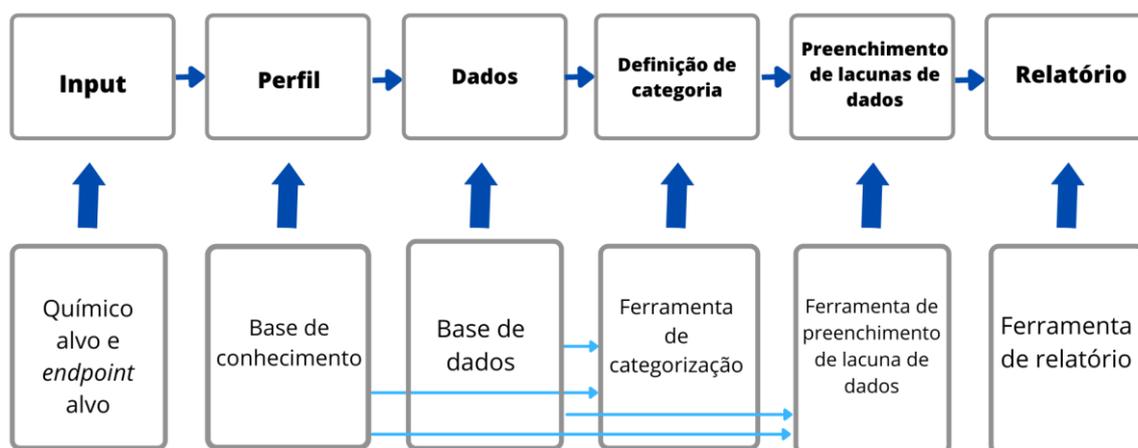


Figura 9 - Representação esquemática do fluxo de trabalho do QSAR Toolbox. (Adaptado de: Yordanova et al. (2019)).

O fluxo de trabalho do *QSAR Toolbox*, de forma resumida segundo Yordanova *et al.* (2019), inicia-se no “*Input*”. Nesse estágio, o usuário deve selecionar químico(s) e *endpoint* alvo(s). Em seguida, no segundo passo chamado de “*Profiling*” e traduzido para o português como “*Perfil*”, em que está separado em diferentes perfis a base de conhecimentos dos químicos e possíveis reatividades químicas e biológicas das substâncias. No módulo “*Category definition*”, traduzido para português como “*Definição de categorias*”, os resultados do perfil são utilizados como critérios de pesquisa na identificação de análogos apropriados. No módulo “*Dados*” são pesquisados os dados experimentais para análogos. Análogos com dados disponíveis são adicionados no módulo “*Data gap filling*”, traduzido como “*Preenchimento de lacunas de dados*”, para que seja possível prever lacunas de dados do químico alvo. Por fim, na última etapa chamada “*Report*”, traduzido como “*Relatório*”, é possível criar um relatório com detalhes da previsão obtida. A Figura 9 representa de forma esquemática o fluxo de trabalho do programa, as setas azuis na parte de baixo do esquema representam as possibilidades de não precisar seguir, apesar de ser recomendado, a ordem dos módulos apresentada no painel do *software*. Além disso, é importante salientar que o programa facilita os usuários a tomarem decisões sobre os produtos químicos, mas a opinião de um especialista deve ser consultada para aceitar as previsões.

Fluxo de trabalho automatizado e padronizado

Conforme Yordanova *et al.* (2019) explica, o *QSAR Toolbox* tem um fator limitante da sua ampla utilização que é a complexidade e dificuldade de ser utilizado para quem não é especialista. Pensando nisso, houve avanços na última atualização do *software* para facilitar seu uso com o desenvolvimento de fluxos de trabalho automatizados e padronizados. No primeiro, um algoritmo pré-definido gera uma previsão sem interações adicionais com o usuário, enquanto o segundo, permite que o usuário realize algumas escolhas em pontos-chave durante o fluxo de trabalho. Essa possibilidade de fluxo de trabalho está disponível para dados envolvendo testes de toxicologia aquática e sensibilização de pele. A Figura 10 permite a melhor visualização da diferença entre o fluxo de trabalho automatizado e padronizado.

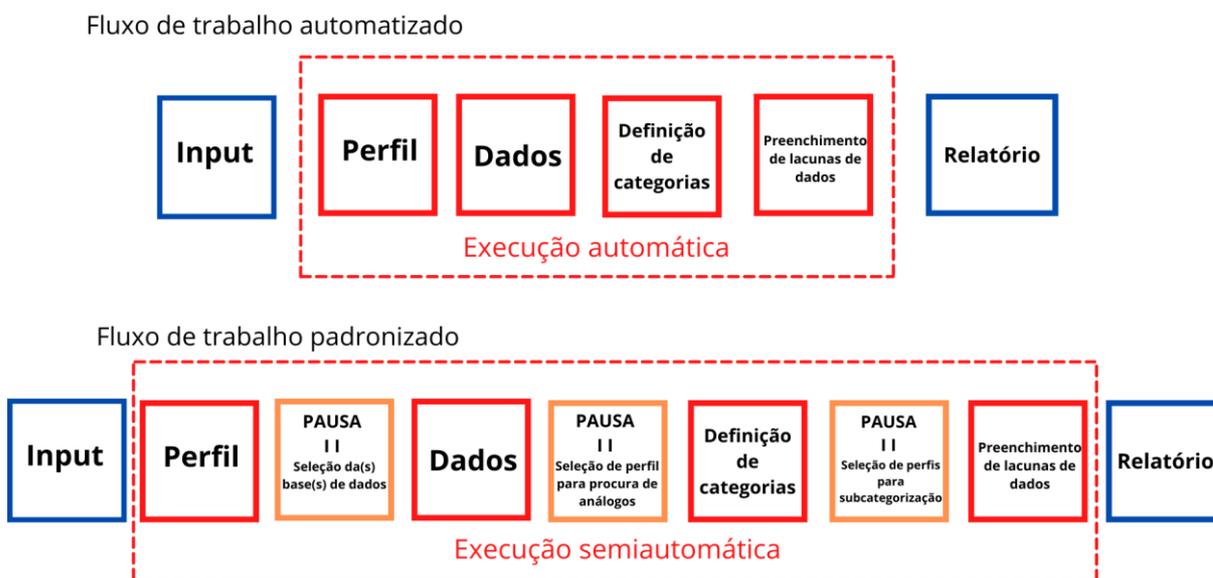


Figura 10 - Representação descritiva da diferença entre o fluxo de trabalho automatizado e padronizado do *QSAR Toolbox*. (Adaptado de: Yordanova *et al.* (2019)).

Principais funcionalidades do *QSAR Toolbox*

A seguir será apresentado, com mais detalhes, os módulos presentes no fluxo de trabalho do *QSAR Toolbox* e suas respectivas funções. O painel de trabalho do *QSAR Toolbox* está representado na Figura 11 para a melhor visualização dos leitores deste trabalho, os módulos destacados serão apresentados com maior detalhe a seguir.

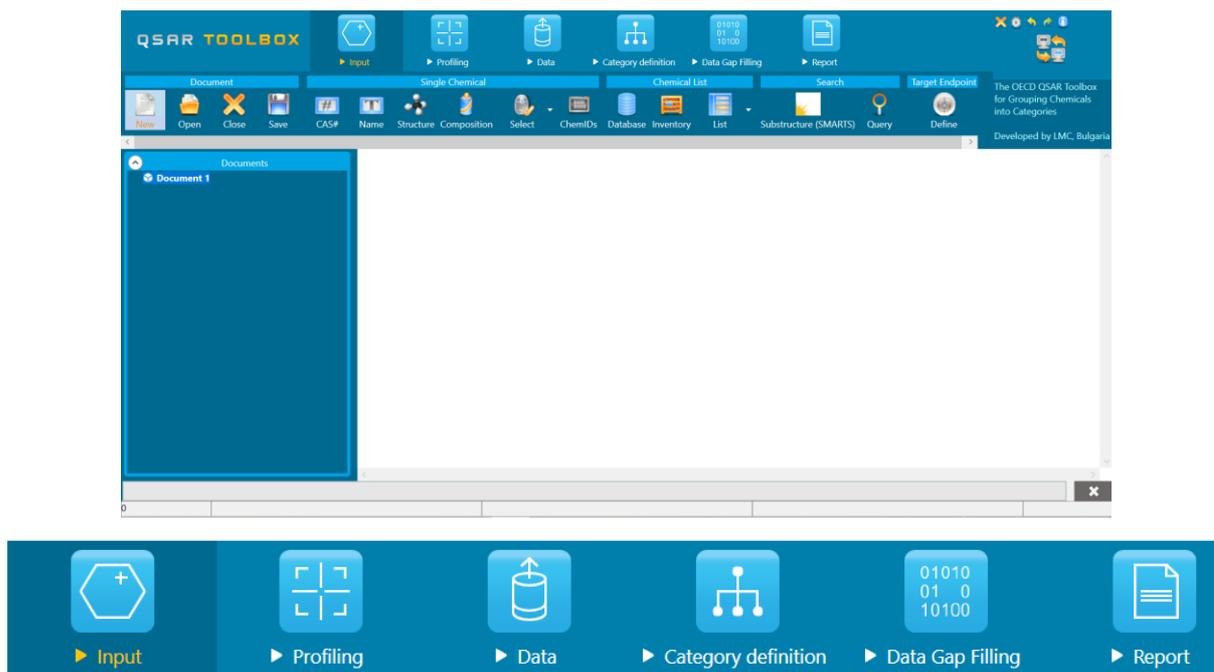


Figura 11 - Painel de trabalho do QSAR Toolbox. Em destaque os principais módulos de trabalho do programa.

A) Módulo inicial (*Input*) - determinação das características estruturais e mecanicistas do produto químico

O primeiro módulo fornece diferentes maneiras de especificar a identidade da substância alvo:

- Número de registro (por exemplo, CAS, EINECS);
- Nome (por exemplo, nome popular, nome comercial, IUPAC);
- Notações lineares (por exemplo, codificada em SMILES, InChi, SDF, MOL);
- Desenho;
- Seleção de uma lista predefinida de produtos químicos, inventário ou banco de dados.

O objetivo desse módulo é garantir que a estrutura molecular atribuída ao produto químico alvo seja a correta. Conforme Dimitrov *et al.* (2016), a categorização das substâncias químicas é um passo fundamental para a estruturação dos próximos módulos. Sendo assim, é necessárias informações precisas sobre as estruturas dos químicos. Para resolver o problema, o programa aplica buscas que atingem todas as relações binárias possíveis (por exemplo, CAS - Nome, Nome - Notação linear). A força dessas relações é classificada qualitativamente da seguinte forma:

- Alto (*High*) - a relação está presente em um inventário em que a identidade química está sujeita a um procedimento de controle de qualidade bem estabelecido.
- Moderado (*Moderate*) - a relação é encontrada em três ou mais fontes com um procedimento de controle de qualidade desconhecido.

- Baixa (*Low*) - relação existe em uma ou duas fontes com um procedimento de controle de qualidade desconhecido.
- Conflito (*Conflict*) - para o mesmo número CAS são encontradas estruturas diferentes em fontes com qualidade equivalente.
- N/A - a qualidade não pode ser determinada porque faltam alguns dos componentes da relação.

B) Módulo de criação de perfil (*Profiling*) - Recuperar informações com base na identidade da substância ou sua estrutura

Esse módulo auxilia na criação de um perfil estrutural para o(s) produto(s) químico(s) alvo(s) que auxiliam o usuário nas etapas subsequentes. Cada perfil é formado a partir de um sistema de regras. Os seguintes tipos de limites são usados para criar as regras:

- Limites estruturais - presença de fragmentos estruturais específicos, grupos reativos, grupos funcionais orgânicos ou elementos químicos;
- Limites paramétricos - faixas de propriedades predefinidas;
- Limites referenciais - regras predefinidas dentro do mesmo ou de outros criadores de perfil;
- Limites de correspondência exata - presença do produto químico em listas predefinidas de produtos químicos (por exemplo, inventários ou bancos de dados).

Além disso, é possível que o usuário desenvolva perfis personalizados a partir dos seus conhecimentos e habilidades por meio da funcionalidade *Profiler Editor*.

C) Módulo Dados (“*Data*”) - Recuperar resultados experimentais dos bancos de dados residentes

Esse módulo fornece aos usuários um processo para recuperar dados relevantes para fins regulatórios. O processo de coleta de dados pode ser realizado de forma global (isto é, coletando todos os dados disponíveis) ou em uma base mais definida (por exemplo, coletando dados para um número único ou limitado de *endpoints* predefinidos, como sensibilização da pele ou mutagenicidade).

D) Módulo “Definição de categoria” (*Category definition*) - Identificar produtos químicos que possam formar uma categoria com o produto químico "alvo"

Neste módulo é possível que o usuário agrupe produtos químicos em uma categoria significativa baseada nas semelhanças com a substância alvo. A similaridade é para além das

semelhanças estruturais envolvendo, também, propriedades físico-químicas, mecanismo de interação ou efeitos toxicológicos. Portanto, o contexto da aplicação das substâncias químicas é necessário para a definição das categorias. Ou seja, produtos químicos que apresentam semelhanças envolvendo a sensibilização da pele podem ter efeitos diferentes, como a desregulação endócrina. Por isso, a definição da categoria é uma etapa crítica no fluxo de trabalho do *software*.

Para auxiliar nesse processo de categorização é feito de forma gradual buscando melhorias consecutivas e reduzindo grupos de análogos selecionados por meio do processo de subcategorização. Inicialmente, devido à escassez de dados, é possível acabar selecionando substâncias impróprias ou com estruturas definidas de forma imprecisa. Para melhorar a categorização, algumas etapas formais, como a identificação do tipo de substância (por exemplo, parciais carregados, misturas, sais, polímeros, etc.) ou verificação da consistência da toxicidade observada com a solubilidade em água (ou seja, se a concentração tóxica relatada é maior do que a solubilidade da substância em água) pode ser usado para melhorar ainda mais a categoria. Por meio de etapas de subcategorização consecutivas, o conjunto inicial de análogos pode ser ainda mais reduzido e melhorado pela aplicação de recursos de similaridade mais específicos (como, mas não apenas, *endpoint* específico, empírico ou personalizado perfiladores), dependendo do *endpoint* estudado. E, em alguns casos, a subcategorização não é uma etapa necessária.

E) Módulo “Preenchimento de lacunas de dados” (*Data gap filling*)

Neste módulo ocorre o processo de estimar a propriedade de um membro não testado de uma categoria usando os resultados de teste disponíveis para outros membros da categoria. O *QSAR Toolbox* possibilita desenvolver esse módulo a partir de três métodos (listados diretamente conforme o aumento de complexidade): *read-across*, *trend analysis* (análise de tendências) e modelos QSARs existentes.

- *Read-across*: é o método mais simples para o preenchimento de lacunas de dados. Consiste na utilização direta de dados disponíveis de produtos químicos de uma categoria para outros químicos alvos da mesma categoria que tem dados faltantes. Pode haver dois tipos de incertezas envolvendo a propriedade de predição do químico alvo: a primeira reflete a incerteza da qualidade dos dados do(s) produto(s) químico(s) de referência. Já a segunda reflete a incerteza da construção da categoria (o quão similar realmente são as substâncias que formam as categorias). A primeira incerteza está relacionada com o resultado dos testes utilizados que geraram os dados dos produtos

químicos e a segunda depende do conhecimento, experiência e habilidade de quem construiu as categorias. Portanto, a construção e a adequação das categorias são um passo fundamental que reflete na qualidade e confiabilidade dos resultados. Esse método de preenchimento de lacunas é apropriado para “desfechos qualitativos”, como sensibilidade de pele ou mutagenicidade para os quais um número limitado de resultados é possível (por exemplo, positivo, negativo e duvidoso). Além disso, pode ser utilizado caso apenas um número pequeno de análogos com resultados experimentais foi identificado ou se a regressão linear não puder ser justificada.

- *Trend analysis* (análise de tendências): esse método utiliza de forma mais eficiente os dados disponíveis para os análogos. Após a construção da categoria os resultados observados dos análogos são plotados contra uma propriedade relevante (por exemplo, o coeficiente de partição n-octanol-água, $\log KOW^9$). Caso haja uma correlação, uma regressão linear (ou seja, uma equação linear) é derivada e utilizada para prever propriedades da substância-alvo. Geralmente, pelas características da regressão linear, é possível prever o *endpoint* e, portanto, pode ser considerada uma interpolação linear. De forma simplificada, a análise de tendência consiste em construir um QSAR simples para um uso específico - apenas para a substância alvo e o *endpoint* de interesse. Esse método de preenchimento é apropriado para “desfechos quantitativos” se um número suficiente de análogos com resultados experimentais for identificado. Essa abordagem não é aplicável para *endpoints* qualitativos.

- Modelos QSARs: estimam os valores ausentes de um modelo estatístico para uma categoria, podendo ser usado caso nenhum análogo adequado for encontrado para o químico alvo. O programa apresenta uma grande variedade de modelos QSARs (902 no total) para diferentes *endpoints*. Sendo possível utilizá-los para avaliação rápida de risco ou para coleta de peso de evidência. Além disso, é possível que o usuário construa seu próprio modelo QSAR (um exemplo com passo a passo está disponível na página de suporte do programa¹⁰).

F) Módulo “Relatório” (*Reporting*) - obtenha um relatório detalhado para a sua previsão

⁹ Conforme Arsego (2009): “O coeficiente de partição n-octanol-água (Kow) é definido como a relação da concentração de um pesticida na fase de n-octanol saturado em água e sua concentração na fase aquosa saturada em n-octanol. Tal coeficiente é um parâmetro muito importante nos estudos relacionados com o destino de moléculas orgânicas no ambiente, caracterizando-se como hidrofílico ($\log KOW < 4$) ou lipofílico ($\log KOW > 4$), estas com tendência à bioacumulação, principalmente, em ambientes aquáticos.

¹⁰ Link para o passo a passo da construção de um modelo QSAR: https://qsartoolbox.org/file/2020/04/Tutorial_6_Building-a-QSAR-model.pdf (Acesso: 11 de fevereiro de 2021).

O *QSAR Toolbox* possibilita o desenvolvimento de três tipos de relatórios, de acordo com os formatos fixos aprovados pela OECD e pela ECHA:

1. *Prediction report*: que contém informações para o alvo;
2. *Category report*: que contém informações para os análogos na categoria;
3. *Data report*: que contém informações para os análogos usados para a predição, mostrando os resultados dos perfis selecionados, dados experimentais e/ou parâmetros.

Outros elementos interessantes do *QSAR Toolbox* é a existência de uma página central com informações sobre o *QSAR Toolbox*¹¹ um fórum de discussão¹² em que os usuários podem tirar dúvidas, trocar experiências, obter informações sobre bancos de dados e fazer sugestões para melhorias. Além disso, há a disponibilidade de guias passo a passo, tutoriais online e exemplos de estudos de caso disponíveis na página de suporte do *QSAR Toolbox*¹³.

Um olhar sobre a questão animal envolvendo o *QSAR Toolbox*

Um ponto importante a ser levantado, dado que o trabalho pretende focar na questão da utilização de animais no meio científico e nas problemáticas envolvendo a utilização dos dados provenientes de modelos animais, é que o programa utiliza, de forma indireta, dados provenientes de diferentes bancos de dados obtidos a partir da experimentação animal. Apesar da compreensão que a completa substituição da experimentação animal em todas as áreas científicas que os utilizam nesse momento ainda é visto como algo impossível, é importante compreender a importância dessa reflexão para que a substituição da utilização dos animais seja parte do enfoque dos cientistas desde a sua formação até a sua atuação profissional.

Focando no escopo deste trabalho, a sensibilização cutânea é avaliada em humanos a partir do teste de contato repetido (*human repeated insult patch test*, em inglês, abreviado como HRIPT) feito a partir da aplicação de traços do ingrediente ou produto a ser testado no dorso de voluntários repetidamente durante algumas semanas (API; BASKETTER; LALKO, 2014). Entretanto, conforme Golden *et al.* (2021) explica, dados de sensibilização de pele a partir de humanos são limitados devido à considerações éticas e, portanto, os modelos *in silico* para

¹¹ Link para a página central do *OECD QSAR Toolbox*: <http://www.oecd.org/chemicalsafety/risk-assessment/oecd-qsar-toolbox.htm#Guidance Documents and Training Materials for Using the Toolbox>. (Acesso: 03 de fevereiro de 2021).

¹² Link para o fórum de discussão do *QSAR Toolbox*: https://community.oecd.org/community/toolbox_forum (Acesso: 03 de fevereiro de 2021)

¹³ Link para a página de suporte do *QSAR Toolbox*: <https://qsartoolbox.org/support/> (Acesso: 12 de fevereiro de 2021).

sensibilização de pele tem, majoritariamente, se baseado em dados de estudos em animais e em estudos *in vitro*.

Bancos de dados como o *Hazardous Substances Data Bank* (HSDB) que possui dados toxicológicos revisados por pares, suplementado com informações como exposições humanas e ambientais e requisitos regulatórios representam iniciativas que facilitam estudos envolvendo dados de estudos com seres humanos, o que possibilita uma capacidade de previsão mais direta para fins que foquem nos humanos. Contudo, apesar do conjunto desse banco de dados ser uma iniciativa inovadora, também demonstra a falta de profundidade e precisão que envolve os dados humanos atualmente. Seja por problemas de terminologia (confusão na literatura ao definir sensibilização da pele, como eczema de contato, alergia cutânea) ou pela falta de precisão ao relatar os efeitos da reação na saúde humana tornam a curadoria mais difícil e comprometem a qualidade dos dados. Os autores apontam a necessidade de utilizar a terminologia de forma mais consciente ao relatar os dados humanos da sensibilização da pele (GOLDEN *et al.*, 2021).

Outra iniciativa interessante, focando na sensibilização de pele, apresentada por Tung, Lin e Wang (2019), é a ferramenta *SkinSensPred*¹⁴. Buscando facilitar o desenvolvimento de métodos de previsão computacional baseado em AOP, o site conta com um banco de dados com curadoria manual da literatura científica publicada de químicos relacionados com a sensibilização da pele (com dados humanos relevantes). Além disso, é possível obter resultados binários (ou seja, positivo ou negativo) de ensaios para avaliar os sensibilizadores de pele, sendo um aliado para o desenvolvimento de modelos de previsão, como o QSAR.

Entretanto, Dimitrov *et al.* (2016), pontuam uma contrapartida importante: a eliminação gradual dos testes em animais para produtos cosméticos na Europa levantou o debate do que fazer e como usar os dados experimentais já disponíveis. Nesse sentido, os modelos QSARs são uma saída positiva para aplicar esses dados para realizar a avaliação das propriedades de outros químicos ainda não testados. Ao agrupar produtos químicos a partir das suas semelhanças, é possível utilizar os dados para preencher lacunas de dados para novas substâncias do mesmo grupo. Contudo, é importante lembrar as limitações dos dados extraídos de modelos animais já descritas na introdução deste trabalho.

Além disso, conforme Sullivan, Manuppello e Willett (2014), ferramentas baseadas em modelos QSARs são um aliado na promoção de métodos substitutivos para testes de produtos

¹⁴ A ferramenta está disponível gratuitamente pelo site: <https://cwtung.kmu.edu.tw/skinsensdb/predict> (Acesso: 12 de março de 2021).

químicos. Segundo os autores há três principais formas que essas ferramentas auxiliam nesse processo: formação de categorias, predição de *endpoint* e geração de hipóteses para direcionar os testes.

4.2 Exemplo da utilização do *QSAR Toolbox*

A substância utilizada para esse exemplo foi o Dinitrochlorobenzeno, com número CAS 97007, que é classificado na literatura (GERBERICK *et al.*, 2001) como “*strong*” (traduzido para o português como “forte”) ao avaliar o risco de sensibilização da pele. A seguir, será comentado pontos importantes dos resultados dos testes. O relatório obtido no *QSAR Toolbox* pode ser encontrado no Anexo A no final deste trabalho.

Como resultado, foram encontradas 5 substâncias com relações de similaridade: CDMT (com número CAS 97007), Cloreto de picril (com número CAS 88880), 2,4-Dinitrofenil triocianato (com número CAS 1594565), 2,4-Dinitrobromobenzeno (com número CAS 584485) e 4-cloro-6-(2-clorofenoxi)-5-fluoropirimidina (com número CAS 213265817). A similaridade das estruturas é representada na Tabela 5 a seguir.

Similaridade da estrutura calculada

	CAS 97007	CAS 3140736	CAS 88880	CAS 1594565	CAS 584485	CAS 213265817
CAS 97007	100%	8,33%	69%	78,6%	84,6%	27,6%
CAS 3140736	8,33%	100%	7,41%	0%	0%	7,41%
CAS 88880	69%	7,41%	100%	58,1%	62,1%	6,25%
CAS 1594565	78,6%	0%	58,1%	100%	78,6%	12,9%
CAS 584485	84,6%	0%	62,1%	78,6%	100%	13,8%
CAS 213265817	27,6%	7,41%	6,25%	12,9%	13,8%	100%

Tabela 5 - Cálculo da similaridade das estruturas selecionadas no *QSAR Toolbox*

Se comparado com a substância alvo (Dinitrochlorobenzeno), as substâncias selecionadas podem ser classificadas em ordem decrescente ao comparar a similaridade da

estrutura em: 2,4-Dinitrobromobenzeno (com 84,6% de similaridade da estrutura), 2,4-Dinitrofenil triocianato (com 78,6% de similaridade da estrutura), Cloreto de picril (com 69% de similaridade da estrutura), 4-cloro-6-(2-clorofenoxi)-5-fluoropirimidina (com 27,6% de similaridade da estrutura) e CDMT (com 8,33% de similaridade da estrutura). Portanto, caso fosse realizado um primeiro filtro a partir desse teste para saber uma potencial substância com um efeito similar de alta sensibilização de pele, a substância mais recomendada para os próximos testes seria a 2,4-Dinitrobromobenzeno.

Conforme já apontado na análise de funcionalidade do *QSAR Toolbox*, o *software* apresenta algumas dificuldades para usuários com pouca experiência. Essas dificuldades se mostraram presentes durante a execução e análise dos resultados desse trabalho, o que demonstra a necessidade de uma maior bagagem sobre o tema toxicologia de pele e habilidades com o próprio programa para realizar previsões mais concretas e aplicáveis na vida real. Um exemplo, seria caso os resultados encontrados fossem utilizados como um filtro de quais substâncias passariam para as próximas etapas de testes da AOP.

4.3 Resultados do levantamento bibliográfico

Levantamento bibliográfico sobre o *QSAR Toolbox*

A Tabela 6 resume a quantidade de artigos encontrados e selecionados resultantes da busca pelas palavras-chave no PubMed.

Palavras-chaves	Número de artigos encontrados em cada pesquisa	Número de artigos selecionados
“QSAR Toolbox”	81	7
“QSAR Toolbox” and “skin sensitization”	5	5*

Tabela 6 - Resultado das buscas feitas no PubMed com as palavras-chave. 5* = os artigos selecionados na segunda pesquisa foram encontrados também na primeira pesquisa

A Tabela 7 agrupa os artigos selecionados de acordo com o escopo da pergunta norteadora. A discussão desses artigos será feita logo em seguida.

Nº

Referência do artigo

- 1 ALVES, Vinicius M.; CAPUZZI, Stephen J.; MURATOV, Eugene N.; BRAGA, Rodolpho C.; THORNTON, Thomas E.; FOURCHES, Denis; STRICKLAND, Judy; KLEINSTREUER, Nicole; ANDRADE, Carolina H.; TROPSHA, Alexander. QSAR models of human data can enrich or replace LLNA testing for human skin sensitization. **Green Chemistry**, [S.L.], v. 18, n. 24, p. 6501-6515, 2016. Royal Society of Chemistry (RSC). <http://dx.doi.org/10.1039/c6gc01836j>.
- 2 BRAEUNING, C.; BRAEUNING, A.; MIELKE, H.; HOLZWARATH, A.; PEISER, M.. Evaluation and improvement of QSAR predictions of skin sensitization for pesticides. **Sar And Qsar In Environmental Research**, [S.L.], v. 29, n. 10, p. 823-846, 25 set. 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/1062936x.2018.1518261>.
- 3 FUNG, Ernest S.; TOWLE, Kevin M.; MONNOT, Andrew D.. Devising a Tier-based Skin Sensitisation Screening Strategy for Personal Care and Cosmetic Products. **Alternatives To Laboratory Animals**, [S.L.], v. 48, n. 2, p. 70-77, mar. 2020. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/0261192920924401>.
- 4 GOLDEN, E.; MACMILLAN, D. S.; DAMERON, G.; KERN, P.; HARTUNG, T.; MAERTENS, A. Evaluation of the global performance of eight in silico skin sensitization models using human data. **ALTEX - Alternatives to animal experimentation**, v. 38, n. 1, p. 33-48, 12 Jan. 2021.
- 5 URBISCH, D.; HONARVAR, N.; KOLLE, S.N.; MEHLING, A.; RAMIREZ, T.; TEUBNER, W.; LANDSIEDEL, R.. Peptide reactivity associated with skin sensitization: the qsar toolbox and times compared to the dpra. **Toxicology In Vitro**, [S.L.], v. 34, p. 194-203, ago. 2016. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tiv.2016.04.005>.
- 6 VERHEYEN, G. R.; BRAEKEN, E.; VAN DEUN, K.; VAN MIERT, S. Evaluation of in silico tools to predict the skin sensitization potential of chemicals. **Sar And Qsar In Environmental Research**, [S.L.], v. 28, n. 1, p. 59-73, 2 jan. 2017. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/1062936x.2017.1278617>.
- 7 WILM, Anke; KÜHNEL, Jochen; KIRCHMAIR, Johannes. Computational approaches for skin sensitization prediction. **Critical Reviews In Toxicology**, [S.L.], v. 48, n. 9, p. 738-760, 21 out. 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/10408444.2018.1528207>.

Tabela 7 - Artigos selecionados

Urbisch *et al.* (2016) compararam o teste LLNA com dois *softwares*, *TIMES-SS* e *QSAR Toolbox*, para predizer a sensibilidade da pele. O estudo foi realizado com um conjunto de 213 dados de LLNA e 111 dados de sensibilização da pele humana. A partir de uma combinação de métodos, a precisão dos melhores modelos com base no *QSAR Toolbox* e *TIMES-SS* atingiu 84% e 94%, respectivamente, na previsão dos resultados de LLNA. Um dado curioso levantado pelos autores é que a previsibilidade desses modelos foi menor para dados humanos, com modelos baseados no *QSAR Toolbox* e *TIMES-SS* atingindo precisões de até 82% e 76%,

respectivamente. Esse resultado reflete os conjuntos de dados utilizados no treinamento dessas ferramentas e, portanto, essa descoberta enfatiza a importância de considerar os dados humanos durante o desenvolvimento de ferramentas *in silico*.

Verheyen *et al.* (2017) analisaram cinco ferramentas *in silico* de domínio público e comerciais (*ToxTree*, *Vega*, *OECD QSAR Toolbox*, *Derek Nexus* e *CASE Ultra*), para discriminar sensibilizadores de pele de não sensibilizantes, a partir das seguintes métricas: precisão, especificidade, sensibilidade e cobertura (aplicabilidade). No estudo 82 sensibilizadores cutâneos e 78 sensibilizadores não cutâneos foram avaliados nos *softwares*. O *QSAR Toolbox* teve um número de falsos negativos bastante alto, resultando em uma sensibilidade mais baixa (43%) e valor preditivo negativo (57%). Além disso, a precisão foi de 60% e a especificidade foi de 15%. Os autores salientam a importância da combinação das abordagens por meio do IATA para melhorar a avaliação de risco da sensibilização da pele.

Alves *et al.* (2016) realizaram um processo de compilação, acurácia, análise e comparação de dados humanos e do ensaio do linfonodo local murino (LLNA) relacionado com a sensibilização da pele. Os dados foram aplicados em modelos computacionais QSAR para identificação de possíveis sensibilizadores de pele e os resultados foram comparados com o LLNA. Como resultado, os modelos QSAR desenvolvidos no estudo mostraram menor sensibilidade (65% vs. 83%), mas superaram o LLNA em termos de precisão geral, ou seja, “*correct Classification Rate*” (CCR) - calculado como a média da sensibilidade e especificidade do modelo - (71% vs. 63%), “*positive predictive value*” (PPV) (79% vs. 67%) e especificidade (76% vs. 43%). Os autores afirmam que a combinação de métodos experimentais e computacionais geram uma avaliação conservadora mais precisa de segurança para os seres humanos e que os modelos QSARs construídos com dados humanos têm uma capacidade de precisão maior do que o LLNA murino. E, portanto, os modelos *in silico* indicam uma alternativa para os testes em animais para a sensibilização da pele.

Braeuning *et al.* (2018) realizaram um estudo para avaliar a praticabilidade das previsões de ferramentas *in silico* relacionadas com a avaliação da sensibilização da pele para pesticidas. Os seis programas avaliados são *CAESAR*, *Toxtree*, *QSAR Toolbox*, *CASE Ultra*, *Leadscope* e *SciQSAR* e foram testadas 48 substâncias. Os autores analisaram as ferramentas e para substâncias que compõem pesticidas, o resultado mostrou que não foi possível distinguir os sensibilizantes de não sensibilizantes, expondo uma área para melhoria desses programas. Focando nos resultados do *QSAR Toolbox*, a ampla gama de ajustes dependentes do usuário foi apontada como um problema do programa, a atualização mais recente desse programa que possibilita a escolha dos fluxos automatizados e padronizados podem auxiliar em reduzir o

número de decisões do usuário. Entre as ferramentas comparadas, esse *software* foi o único capaz de fornecer previsões para as substâncias analisadas nesse estudo e, portanto, apesar das melhorias necessárias, é uma ferramenta *in silico* valiosa. Além disso, os autores apontam que a combinação de ensaios *in silico* e *in vitro* podem melhorar a previsibilidade dos resultados. Esse apontamento corrobora com os apontamentos feitos durante esse trabalho sobre a importância da integração das abordagens alternativas (IATA).

Golden *et al.* (2021) avaliaram a performance de oito modelos *in silico* de sensibilização cutânea (entre eles o *QSAR Toolbox*) utilizando dados humano relevantes a partir de métricas como cobertura (aplicabilidade), precisão/precisão balanceada, sensibilidade, especificidade e taxas de predição falsa. Um ponto importante levantado pelos autores é que a cobertura (53%) do aplicativo foi baixa se comparada aos outros modelos (*PredSkin*, *REACHAcross*™, *CAESAR*, *TIMES-SS* e *Derek* tinham coberturas de base acima de 85% e o *Danish QSAR database* tinha uma cobertura de modelo básico de 65%). Mas, esse resultado foi impulsionado pelo *software* não forçar previsões quando bons análogos não estão disponíveis. Além disso, apesar do modelo ter baixa cobertura, ele tem uma precisão relativamente alta (84%) e uma sensibilidade muito alta (86%), o que o torna útil para fins de triagem para eliminar produtos químicos dentro do domínio de aplicabilidade. Os autores avaliam que as ferramentas *in silico* oferecem resultados úteis para o contexto de triagem de substâncias, mas ainda são necessárias melhorias para ampliar a confiabilidade dessas ferramentas para fins regulatórios.

Wilm, Kühnl e Kirchmair (2018) realizaram uma revisão das ferramentas computacionais relacionadas com a sensibilização da pele e concluíram que: as abordagens baseadas em regras, *read-across* e modelos estatísticos lineares possuem uma boa interpretabilidade. Já as abordagens envolvendo aprendizado de máquina, geralmente, não são tão fáceis de interpretar. Além disso, os autores - assim como outros já abordados neste trabalho -, comentam sobre o caráter de “caixa preta” em que nem todos os dados e os processos são de livre acesso aos usuários. Entretanto, essas ferramentas são mais adequadas para modelar relações não-lineares complexas observadas para grande parte dos *endpoints* envolvendo a toxicidade. Os autores destacam a utilização da combinação de diferentes métodos computacionais (modelo híbrido) e a associação de métodos teóricos com dados experimentais como abordagens com grande potencial de maximizar a precisão e a aplicabilidade dessas ferramentas.

Fung, Towle e Monnot (2020) desenvolveram uma estratégia de triagem feita em três níveis para avaliação do potencial de sensibilização da pele usando ferramentas que não se baseiam em animais. Para esse estudo os autores aplicaram a metodologia em três

condicionadores WEN® by Chaz Dean que apresentaram alertas de potenciais efeitos adversos na saúde relacionados a irritação e sensibilização cutânea. O *QSAR Toolbox* foi utilizado no primeiro nível buscando avaliar o potencial de sensibilização da pele dos ingredientes de forma individual. Os outros níveis foram feitos com duas ferramentas *in chemico*, respectivamente, o *OECD in chemicoTest Guideline (TG) 442C* e o *OECD TG442C*. Conforme os autores destacam as análises *in silico* são baseadas em elementos estruturais e não levam em conta a concentração dos ingredientes no produto final e, portanto, os resultados devem ser interpretados conforme o contexto para avaliar a segurança. Outra limitação levantada pelos autores é que esses produtos de beleza contêm ingredientes que são misturas complexas sem estrutura química definida e, portanto, não conseguem ser avaliados pela ferramenta QSAR. Entretanto, esses ingredientes foram avaliados no terceiro nível dos testes, mostrando a importância da realização desses testes em conjunto (conforme o AOP) para um resultado mais confiável. Por fim, como resultado foi avaliado que as substâncias não acarretam uma resposta de sensibilização de pele. Essa conclusão está de acordo com os resultados de outro estudo (WARSHAW *et al.*, 2020) em que foi realizado o teste de contato repetido (HRIPT) com 200 voluntários com os mesmos produtos e não foi desenvolvido uma resposta de sensibilização da pele. Apesar das limitações, os autores avaliam que essa estratégia de teste tem grande potencial de utilização para a função de triagem de substâncias.

Levantamento bibliográfico de iniciativas e ferramentas relacionadas à métodos alternativos ao uso dos animais no meio científico

O compilado de iniciativas e ferramentas relacionadas à métodos alternativos ao uso dos animais no meio científico encontra-se na Tabela 8 (Anexo 1), dividida em ferramentas e plataformas internacionais e nacionais.

Um ponto importante observado durante o levantamento é a presença de grupos de pesquisa em Universidades públicas brasileiras que estão focados em desenvolver alternativas, como é o caso do Laboratório de Farmacologia e Toxicologia Celular (FarmaTec) e o Laboratório de Modelagem Molecular e Desenho de Fármacos (LabMol) da Faculdade de Farmácia (FF) da Universidade Federal de Goiás (UFG)¹⁵.

Outra iniciativa extremamente relevante é o prêmio Lush¹⁶ que oferece prêmios para apoiar iniciativas para finalizar ou substituir testes em animais, principalmente na área de

¹⁵ Para mais informações: <https://farmatec.farmacia.ufg.br/> e <http://www.labmol.com.br/> acesso em: 12 de dezembro de 2019.

¹⁶ Fonte: <https://lushprize.org/> acesso em: 09 de dezembro de 2019.

toxicologia de testes de produtos e ingredientes de interesse humano. Dividido em cinco categorias de prêmios: lobby, treinamento, conscientização pública, ciência e jovens pesquisadores. Importante destacar a participação de brasileiros que ganharam enfoque e aporte financeiro por meio dessa premiação buscando métodos alternativos ao uso de animais na pesquisa. Iniciativas como a do Instituto 1R, por meio da Rede Nacional de Educação Humanitária (RedEH), que busca, conforme informações do site¹⁷: “articular os pesquisadores da área de ensino e de pesquisa em educação em torno da substituição de práticas com animais em atividades de ensino e treinamento”, o cientista Vinicius Alves atualmente da *University of North Carolina* (UNC) com o desenvolvimento de uma plataforma web baseada em inteligência artificial para avaliação precoce da toxicidade de misturas presentes nas principais classes de produtos químicos industriais, a cientista da Lorena Neves da Universidade Católica de Petrópolis (UCP) com a pesquisa intitulada “Polivinilpirrolidona: uma alternativa de substituição aos insumos de origem animal para diagnóstico e pesquisa”, o cientista Renato Ivan de Ávila Marcelino da Universidade Federal de Goiás (UFG) com a pesquisa intitulada “Desenvolvimento de plataforma multiparamétrica substitutiva ao uso de animais de laboratório para avaliação do potencial alergênico de misturas da vida real”, a cientista Bianca Marigliani da Universidade Federal de São Paulo (USP) por pesquisar uma alternativa *in vitro* para o uso do soro bovino fetal (SBF), que é retirado de forma cruel dos fetos bovinos durante o abate de vacas prenhas, o cientista Róber Bachinski da Universidade Federal Fluminense (UFF) pesquisando modelos de cultura celular 3D e alternativas para uso na educação científica são exemplos notáveis da pesquisa nacional.

Focando na UFSC, a disciplina “Aspectos Éticos em Pesquisa e Ensino com Animais” ministrada pelo professor Carlos Roberto Zanetti e uma série de palestrantes convidados é outra iniciativa extremamente necessária. Durante o semestre são abordados, a partir de diferentes áreas como a filosofia, o direito e a etologia, o uso dos animais no meio científico. Muitas vezes, essa disciplina é o primeiro contato crítico com questões éticas envolvendo a experimentação animal para muitos estudantes da graduação que, ao longo da caminhada profissional, podem interagir com animais não-humanos.

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A argumentação ética contrária à experimentação animal que envolve a exposição de seres sencientes em situações de desconforto, dor e sofrimento associada a compreensão

¹⁷ Fonte: <http://instituto1r.org/project/rede-nacional-de-educacao-humanitaria-redeh/> acesso em: 05 de fevereiro de 2020.

das limitações e dos pontos de falhas do modelo animal são pontos urgentes que devem estar presentes de forma mais ativa na comunidade científica para evitar a perpetuação da atual forma como os seres humanos compreendem e se relacionam com os animais, como meros objetos e tubos de ensaios para experimentos, no meio científico.

A superação do paradigma da experimentação animal demanda uma atuação de diferentes áreas e setores dentro e fora da academia. As diversas falhas do modelo animal mostram a sua insuficiência à grandes custas como foi apresentado nesse trabalho. O campo dos métodos alternativos que, entre eles estão os modelos *in silico*, representa ferramentas com grande potencial para superar os modelos envolvendo experimentação animal. Nesse sentido, o *software OECD QSAR Toolbox* se mostra um aliado importante. A ampliação do investimento nesse tipo de pesquisa, associado ao desenvolvimento de técnicas de modelagem mais avançadas e a criação de maiores e mais confiáveis bancos de dados apresentam possibilidades de, em um futuro próximo, ampliar o nível de precisão e aplicabilidade e, conseqüentemente, torná-las partes essenciais para a avaliação de risco. Pensando nas perspectivas de continuidade desse trabalho, a realização de um estudo com dados aplicados ao *QSAR Toolbox* representa uma possibilidade de caminho para futuros trabalhos que busquem se aprofundar em métodos alternativos focado em ferramentas *in silico* para a predição da sensibilização da pele.

A toxicologia de pele, envolvendo em especial a sensibilização de pele, é uma das áreas mais avançadas nesse sentido, uma das possíveis causas é a proibição de testes em animais na União Europeia envolvendo produtos cosméticos. Esse fato demonstra como a questão da experimentação animal no meio científico é um problema complexo e que deve envolver diferentes áreas para além dos próprios cientistas (como a área do direito dos animais, a filosofia envolvida na ética animal, a participação popular por meio de pressões do movimento dos direitos dos animais e de ativistas da causa animal e do conhecimento do público geral sobre as condições e a dor e sofrimento envolvidos na realização das experimentações) para gerar resultados concretos. Além disso, a combinação dessas ferramentas com métodos *in chemico*, *in vitro*, *in vivo*, *ex vivo*, *organ-in-chip* e tecnologias ômicas, por meio das abordagens integradas, são um caminho promissor para uma ciência de fato ética, voltada para dados humanos e que possa, finalmente, se desvincular da experimentação animal.

REFERÊNCIAS

ADRIAENS, Els; BARROSO, João; ESKES, Chantra; HOFFMANN, Sebastian; MCNAMEE, Pauline; ALÉPÉE, Nathalie; BESSOU-TOUYA, Sandrine; SMEDT, Ann de; WEVER, Bart de; PFANNENBECKER, Uwe. Retrospective analysis of the Draize test for serious eye damage/eye irritation: importance of understanding the in vivo endpoints under un ghs/eu clp for the development and evaluation of in vitro test methods. **Archives Of Toxicology**, [S.L.], v. 88, n. 3, p. 701-723, 28 dez. 2013. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00204-013-1156-8>. Acesso em: 23 out. 2020.

ADRIAENS, Els; BARROSO, João; ESKES, Chantra; HOFFMANN, Sebastian; MCNAMEE, Pauline; ALÉPÉE, Nathalie; BESSOU-TOUYA, Sandrine; SMEDT, Ann de; WEVER, Bart de; PFANNENBECKER, Uwe. Retrospective analysis of the Draize test for serious eye damage/eye irritation: importance of understanding the in vivo endpoints under un ghs/eu clp for the development and evaluation of in vitro test methods. **Archives Of Toxicology**, [S.L.], v. 88, n. 3, p. 701-723, 28 dez. 2013. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00204-013-1156-8>. Acesso em: 11 nov. 2020.

ALTMAN, D. G; BLAND, J M.. Statistics Notes: diagnostic tests 2. **Bmj**, [S.L.], v. 309, n. 6947, p. 102-102, 9 jul. 1994. BMJ. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1136/bmj.309.6947.102>. Acesso em: 12 jan. 2021.

ALVES, Vinicius M.; CAPUZZI, Stephen J.; BRAGA, Rodolpho C.; BORBA, Joyce V. B.; SILVA, Arthur C.; LUECHTEFELD, Thomas; HARTUNG, Thomas; ANDRADE, Carolina Horta; MURATOV, Eugene N.; TROPSHA, Alexander. A Perspective and a New Integrated Computational Strategy for Skin Sensitization Assessment. **Acs Sustainable Chemistry & Engineering**, [S.L.], v. 6, n. 3, p. 2845-2859, 7 fev. 2018. American Chemical Society (ACS). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1021/acssuschemeng.7b04220>. Acesso em: 04 dez. 2020.

ALVES, Vinicius M.; CAPUZZI, Stephen J.; MURATOV, Eugene N.; BRAGA, Rodolpho C.; THORNTON, Thomas E.; FOURCHES, Denis; STRICKLAND, Judy; KLEINSTREUER, Nicole; ANDRADE, Carolina H.; TROPSHA, Alexander. QSAR models of human data can enrich or replace LLNA testing for human skin sensitization. **Green Chemistry**, [S.L.], v. 18, n. 24, p. 6501-6515, 2016. Royal Society of Chemistry (RSC). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1039/c6gc01836j>. Acesso em: 07 nov. 2020.

ANDERSON, Stacey E.; SIEGEL, Paul D.; MEADE, B. J. The LLNA: a brief review of recent advances and limitations. **Journal of allergy**, v. 2011, 2011.

ANGUS, Derek C.; LINDE-ZWIRBLE, Walter T.; LIDICKER, Jeffrey; CLERMONT, Gilles; CARCILLO, Joseph; PINSKY, Michael R.. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. **Critical Care Medicine**, [S.L.], v. 29, n. 7, p. 1303-1310, jul. 2001. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1097/00003246-200107000-00002>. Acesso em: 11 nov. 2020.

ARROWSMITH, John. A decade of change. **Nature Reviews Drug Discovery**, [S.L.], v. 11, n. 1, p. 17-18, jan. 2012. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nrd3630>. Acesso em: 06 nov. 2020.

ARSEGO, Itacir Bandiera. **Sorção dos herbicidas diuron e hexazinone em solos de texturas contrastantes**. Dissertação (Mestrado) - Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”. Piracicaba, 2009.

BAILEY, Jarrod; THEW, Michelle; BALLS, Michael. An Analysis of the Use of Animal Models in Predicting Human Toxicology and Drug Safety. **Alternatives To Laboratory Animals**, [S.L.], v. 42, n. 3, p. 181-199, jun. 2014. SAGE Publications. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1177/026119291404200306>. Acesso em: 13 jan. 2021.

BAILEY, Jarrod; THEW, Michelle; BALLS, Michael. An Analysis of the Use of Dogs in Predicting Human Toxicology and Drug Safety. **Alternatives To Laboratory Animals**, [S. l.], v. 41, n. 5, p. 335-350, nov. 2013. SAGE Publications. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1177/026119291304100504>. Acesso em: 13 jan. 2021.

BAILEY, Jarrod; THEW, Michelle; BALLS, Michael. Predicting Human Drug Toxicity and Safety via Animal Tests: can any one species predict drug toxicity in any other, and do monkeys help?. **Alternatives To Laboratory Animals**, [S.L.], v. 43, n. 6, p. 393-403, dez. 2015. SAGE Publications. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1177/026119291504300607>. Acesso em: 13 jan. 2021.

BAILEY, Jarrod; BALLS, Michael. Recent efforts to elucidate the scientific validity of animal-based drug tests by the pharmaceutical industry, pro-testing lobby groups, and animal welfare organisations. **Bmc Medical Ethics**, [S. l.], v. 20, n. 1, p. 1-7, 1 mar. 2019. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s12910-019-0352-3>. Acesso em: 13 jan. 2021.

BALLS, Michael. It’s Time to Reconsider The Principles of Humane Experimental Technique. **Alternatives To Laboratory Animals**, [S. l.], v. 48, n. 1, p. 40-46, jan. 2020. SAGE Publications. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1177/0261192920911339>. Acesso em: 09 fev. 2021.

BASKETTER, D.A.; EVANS, P.; FIELDER, R.J.; GERBERICK, G.F.; DEARMAN, R.J.; KIMBER, I. Local lymph node assay — validation, conduct and use in practice. **Food And Chemical Toxicology**, [S.L.], v. 40, n. 5, p. 593-598, maio 2002. Elsevier BV. Disponível em: [http://dx.doi.org/10.1016/s0278-6915\(01\)00130-2](http://dx.doi.org/10.1016/s0278-6915(01)00130-2). Acesso em: 02 out. 2020.

BASKETTER, David A.; ALÉPÉE, Nathalie; ASHIKAGA, Takao; BARROSO, João; GILMOUR, Nicola; GOEBEL, Carsten; HIBATALLAH, Jalila; HOFFMANN, Sebastian; KERN, Petra; MARTINOZZI-TEISSIER, Silvia. Categorization of Chemicals According to Their Relative Human Skin Sensitizing Potency. **Dermatitis**, [S.L.], v. 25, n. 1, p. 11-21, jan. 2014. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1097/der.0000000000000003>. Acesso em: 15 nov. 2020.

BAUMGARTL-SIMONS, Christiane; HOHENSEE, Christiane. How Can the Final Goal of Completely Replacing Animal Procedures Successfully Be Achieved?. **Animal Experimentation: Working Towards a Paradigm Change**. Brill, 2019. p. 88-123.

BENIGNI, Romualdo; BOSSA, Cecilia; TCHEREMENSKAIA, Olga. A data-based exploration of the adverse outcome pathway for skin sensitization points to the necessary requirements for its prediction with alternative methods. **Regulatory Toxicology And**

Pharmacology, [S.L.], v. 78, p. 45-52, jul. 2016. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2016.04.003>. Acesso em: 08 nov. 2020.

BOLKER, Jessica. There's more to life than rats and flies. **Nature**, [S.L.], v. 491, n. 7422, p. 31-33, 31 out. 2012. Springer Science and Business Media LLC. Acesso em: <http://dx.doi.org/10.1038/491031a>. Acesso em: 12 jan. 2021.

CASATI, S.; ASCHBERGER, K.; BARROSO, J.; CASEY, W.; DELGADO, I.; KIM, T. S.; KLEINSTREUER, N.; KOJIMA, H.; LEE, J. K.; LOWIT, A.. Standardisation of defined approaches for skin sensitisation testing to support regulatory use and international adoption: position of the international cooperation on alternative test methods. **Archives Of Toxicology**, [S.L.], v. 92, n. 2, p. 611-617, 10 nov. 2017. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00204-017-2097-4>. Acesso em: 09 dez. 2020.

CRUZ-MONTEAGUDO, Maykel; MEDINA-FRANCO, José L.; PÉREZ-CASTILLO, Yunierkis; NICOLOTTI, Orazio; CORDEIRO, M. Natália D.s.; BORGES, Fernanda. Activity cliffs in drug discovery: dr jekyll or mr hyde?. **Drug Discovery Today**, [S.L.], v. 19, n. 8, p. 1069-1080, ago. 2014. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.drudis.2014.02.003>. Acesso em: 03 dez. 2020.

DAVIES, Gail; GREENHOUGH, Beth; HOBSON-WEST, Pru; KIRK, Robert G. W.. Science, Culture, and Care in Laboratory Animal Research. **Science, Technology, & Human Values**, [S.L.], v. 43, n. 4, p. 603-621, 13 fev. 2018. SAGE Publications. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1177/0162243918757034>. Acesso em: 18 nov. 2020.

DIMITROV, S. D.; DIDERICH, R.; SOBANSKI, T.; PAVLOV, T. S.; CHANKOV, G. V.; CHAPKANOV, A. S.; KARAKOLEV, Y. H.; TEMELKOV, S. G.; VASILEV, R. A.; GEROVA, K. D.. QSAR Toolbox – workflow and major functionalities. **Sar And Qsar In Environmental Research**, [S.L.], v. 27, n. 3, p. 203-219, 19 fev. 2016. Informa UK Limited. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/1062936x.2015.1136680>. Acesso em: 16 out. 2020.

DUMONT, Coralie; BARROSO, João; MATYS, Izabela; WORTH, Andrew; CASATI, Silvia. Analysis of the Local Lymph Node Assay (LLNA) variability for assessing the prediction of skin sensitisation potential and potency of chemicals with non-animal approaches. **Toxicology In Vitro**, [S.L.], v. 34, p. 220-228, ago. 2016. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tiv.2016.04.008>. Acesso em: 09 jan. 2021.

ECHA. **The Use of Alternatives to Testing on Animals for the REACH Regulation: Second Report under Article 117(3) of the REACH Regulation**. Disponível em: https://echa.europa.eu/documents/10162/13639/alternatives_test_animals_2017_en.pdf. Acesso em: 17 mar. 2021.

EUROPEAN UNION. Regulation (EC) No 1907/2006. **Official Journal of the European Union**, n. L 136, p. 3–280, 2007.

EZENDAM, Janine; BRAAKHUIS, Hedwig M.; VANDEBRIEL, Rob J.. State of the art in non-animal approaches for skin sensitization testing: from individual test methods towards testing strategies. **Archives Of Toxicology**, [S. l.], v. 90, n. 12, p. 2861-2883, 14 set. 2016. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00204-016-1842-4>. Acesso em: 26 dez. 2020.

FELIPE, Sônia T. Agência e paciência moral: razão e vulnerabilidade na constituição da comunidade moral. **ethic@-An international Journal for Moral Philosophy**, v. 6, n. 3, p. 69-82, 2007.

FELIPE, Sônia. **Ética e experimentação animal: fundamentos abolicionistas**. 2. ed. Florianópolis: Editora Ufsc, 2019.

FOURCHES, Denis; MURATOV, Eugene; TROPSHA, Alexander. Trust, but Verify II: a practical guide to chemogenomics data curation. **Journal Of Chemical Information And Modeling**, [S.L.], v. 56, n. 7, p. 1243-1252, 22 jun. 2016. American Chemical Society (ACS). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1021/acs.jcim.6b00129>. Acesso em: 21 nov. 2020.

FREEDMAN, Leonard P.; COCKBURN, Iain M.; SIMCOE, Timothy S.. The Economics of Reproducibility in Preclinical Research. **Plos Biology**, [S.L.], v. 13, n. 6, p. 1-9, 9 jun. 2015. Public Library of Science (PLoS). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pbio.1002165>. Acesso em: 18 dez. 2020.

FUNG, Ernest S.; TOWLE, Kevin M.; MONNOT, Andrew D.. Devising a Tier-based Skin Sensitisation Screening Strategy for Personal Care and Cosmetic Products. **Alternatives To Laboratory Animals**, [S.L.], v. 48, n. 2, p. 70-77, mar. 2020. SAGE Publications. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1177/0261192920924401>. Acesso em: 13 nov. 2020.

GARNER, Joseph P; GASKILL, Brianna N; WEBER, Elin M; AHLOY-DALLAIRE, Jamie; PRITCHETT-CORNING, Kathleen R. Introducing Therioepistemology: the study of how knowledge is gained from animal research. **Lab Animal**, [S.L.], v. 46, n. 4, p. 103-113, abr. 2017. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/lablan.1224>. Acesso em: 27 out. 2020.

GEERTS, Hugo. Of Mice and Men. **Cns Drugs**, [S.L.], v. 23, n. 11, p. 915-926, nov. 2009. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.2165/11310890-000000000-00000>. Acesso em: 11 out. 2020.

GERBERICK, G. Contact allergenic potency: correlation of human and local lymph node assay data. **American Journal Of Contact Dermatitis**, [S.L.], v. 12, n. 3, p. 156-161, set. 2001. Ovid Technologies (Wolters Kluwer Health). <http://dx.doi.org/10.1053/ajcd.2001.23926>. Disponível em: doi:10.1053/ajcd.2001.23926. Acesso em: 11 abr. 2021.

GERBERICK, G. Frank; RYAN, Cindy A.; DEARMAN, Rebecca J.; KIMBER, Ian. Local lymph node assay (LLNA) for detection of sensitization capacity of chemicals. **Methods**, [S.L.], v. 41, n. 1, p. 54-60, jan. 2007. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ymeth.2006.07.006>. Acesso em: 09 dez. 2020.

GREEK, Ray. The Ethical Implications for Humans in Light of the Poor Predictive Value of Animal Models. **International Journal Of Clinical Medicine**, [S.L.], v. 05, n. 16, p. 966-1005, 2014. Scientific Research Publishing, Inc.. Disponível em: https://www.scirp.org/pdf/IJCM_2014082110222902.pdf. Acesso em: 23 set. 2020.

GREEK, Ray; KRAMER, Lisa A. The scientific problems with using non-human animals to predict human response to drugs and disease. In: **Animal Experimentation: Working Towards a Paradigm Change**. Brill, 2019. p. 391-416.

GOEBEL, Carsten; KOSEMUND-MEYNEN, Kirstin; GARGANO, Emanuele Marco; POLITANO, Valerie; VON BÖLCSHAZY, Gábor; ZUPKO, Kimberly; JAISWAL, Neelam; ZHANG, Jin; MARTIN, Sheppard; NEUMANN, Daniel. Non-animal skin sensitization safety assessments for cosmetic ingredients – What is possible today? **Current Opinion In Toxicology**, [S.L.], v. 5, p. 46-54, ago. 2017. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cotox.2017.08.005>. Acesso em: 30 nov. 2020.

GOLDEN, E.; MACMILLAN, D. S.; DAMERON, G.; KERN, P.; HARTUNG, T.; MAERTENS, A. Evaluation of the global performance of eight in silico skin sensitization models using human data. **ALTEX - Alternatives to animal experimentation**, v. 38, n. 1, p. 33-48, 12 Jan. 2021.

GOMES, Isabelle Sena; CAMINHA, Iraquitan de Oliveira. GUIA PARA ESTUDOS DE REVISÃO SISTEMÁTICA: uma opção metodológica para as ciências do movimento humano. **Movimento (Esefid/Ufrgs)**, [S.L.], v. 20, n. 1, p. 395, 11 dez. 2013. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.22456/1982-8918.41542>. Acesso em: 13 nov. 2020.

GUTFREUND, Yoram. Harm-Benefit Analysis May Not Be the Best Approach to Ensure Minimal Harms and Maximal Benefits of Animal Research—Alternatives Should Be Explored. **Animals**, [S.L.], v. 10, n. 2, p. 291-298, 12 fev. 2020. MDPI AG. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/ani10020291>. Acesso em: 13 fev. 2021.

HARTUNG, Thomas. Look back in anger – what clinical studies tell us about preclinical work. **Altex**, [S.L.], v. 30, n. 3, p. 275-291, 2013. ALTEX Edition. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.14573/altex.2013.3.275>. Acesso em: 08 jan. 2021.

HARRISON, Richard K.. Phase II and phase III failures: 2013-2015. **Nature Reviews Drug Discovery**, [S. l.], v. 15, n. 12, p. 817-818, 4 nov. 2016. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/nrd.2016.184>. Acesso em: 09 fev. 2021.

HOLMAN, Constance; PIPER, Sophie K.; GRITTNER, Ulrike; DIAMANTARAS, Andreas Antonios; KIMMELMAN, Jonathan; SIEGERINK, Bob; DIRNAGL, Ulrich. Where Have All the Rodents Gone? The Effects of Attrition in Experimental Research on Cancer and Stroke. **Plos Biology**, [S. l.], v. 14, n. 1, p. 1-12, 4 jan. 2016. Public Library of Science (PLoS). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pbio.1002331>. Acesso em: 28 nov. 2020.

HANSCH, Corwin.; FUJITA, Toshio.. P- σ - π Analysis. A Method for the Correlation of Biological Activity and Chemical Structure. **Journal Of The American Chemical Society**, [S. l.], v. 86, n. 8, p. 1616-1626, abr. 1964. American Chemical Society (ACS). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1021/ja01062a035>. Acesso em: 09 nov. 2020.

JAWORSKA, Joanna s; COMBER, M; AUER, C; VAN LEEUWEN, C J. Summary of a workshop on regulatory acceptance of (Q)SARs for human health and environmental endpoints. **Environmental Health Perspectives**, [S. l.], v. 111, n. 10, p. 1358-1360, ago. 2003.

Environmental Health Perspectives. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1289/ehp.5757>. Acesso em: 14 nov. 2020.

JOHANSSON, Henrik; LINDSTEDT, Malin. Prediction of Skin Sensitizers using Alternative Methods to Animal Experimentation. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, [S.L.], v. 115, n. 1, p. 110-117, 18 fev. 2014. Wiley. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/bcpt.12199>. Acesso em: 12 nov. 2020.

JOWSEY, Ian R.; CLAPP, Catherine J.; SAFFORD, Bob; GIBBONS, Ben T.; BASKETTER, David A.. The impact of vehicle on the relative potency of skin-sensitizing chemicals in the local lymph node assay. **Cutaneous And Ocular Toxicology**, [S.L.], v. 27, n. 2, p. 67-75, jan. 2008. Informa UK Limited. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/15569520801904655>. Acesso em: 09 dez. 2020.

JUSTICE, Monica J.; DHILLON, Paraminder. Using the mouse to model human disease: increasing validity and reproducibility. **Disease Models & Mechanisms**, [S.L.], v. 9, n. 2, p. 101-103, 1 fev. 2016. The Company of Biologists. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1242/dmm.024547>. Acesso em: 12 ago. 2020.

KEEN, Jim. Wasted money in United States biomedical and agricultural animal research. In: **Animal Experimentation: Working Towards a Paradigm Change**. Brill, 2019. p. 244-272.

LUECHTEFELD, Thomas; MARSH, Dan; ROWLANDS, Craig; HARTUNG, Thomas. Machine Learning of Toxicological Big Data Enables Read-Across Structure Activity Relationships (RASAR) Outperforming Animal Test Reproducibility. **Toxicological Sciences**, [S. l.], v. 165, n. 1, p. 198-212, 11 jul. 2018. Oxford University Press (OUP). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1093/toxsci/kfy152>. Acesso: 21 dez. 2020.

MADDEN, Judith C.; ENOCH, Steven J.; PAINI, Alicia; CRONIN, Mark T.D.. A Review of In Silico Tools as Alternatives to Animal Testing: principles, resources and applications. **Alternatives To Laboratory Animals**, [S. l.], v. 48, n. 4, p. 146-172, jul. 2020. SAGE Publications. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1177/0261192920965977>. Acesso em: 03 fev. 2021.

MARSHALL, Lindsay J.; AUSTIN, Christopher P.; CASEY, Warren; FITZPATRICK, Suzanne C.; WILLET, Catherine. Recommendations toward a human pathway-based approach to disease research. **Drug Discovery Today**, [S.L.], v. 23, n. 11, p. 1824-1832, nov. 2018. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.drudis.2018.05.038>. Acesso em: 09 out. 2020.

MCIVOR, Emily. Political Campaigning: Where Scientific and Ethical Arguments Meet Public Policy. In: **Animal Experimentation: Working Towards a Paradigm Change**. Brill, 2019. p. 151-167.

MEDEIROS, Fernanda Luiza Fontoura de. **Direito dos Animais**. Porto Alegre: Livraria do Advogado, 2013.

MEHLING, Annette; ERIKSSON, Tove; ELTZE, Tobias; KOLLE, Susanne; RAMIREZ, Tzutzy; TEUBNER, Wera; VAN RAVENZWAAY, Bennard; LANDSIEDEL, Robert. Non-animal test methods for predicting skin sensitization potentials. **Archives Of Toxicology**, [S.

l.], v. 86, n. 8, p. 1273-1295, 16 jun. 2012. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00204-012-0867-6>. Acesso em: 09 out. 2020.

MERKES, Monika. **Better ways to do research: An overview of methods and technologies that can replace animals in biomedical research and testing**. Humane Research Australia, 2019. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/333554895_Better_ways_to_do_research_An_overview_of_methods_and_technologies_that_can_replace_animals_in_biomedical_research_and_testing. Acesso em: 28 set. 2020.

NEVES, Bruno J.; BRAGA, Rodolpho C.; MELO-FILHO, Cleber C.; MOREIRA-FILHO, José Teófilo; MURATOV, Eugene N.; ANDRADE, Carolina Horta. QSAR-Based Virtual Screening: advances and applications in drug discovery. **Frontiers In Pharmacology**, [S. l.], v. 9, p. 1-12, 13 nov. 2018. Frontiers Media SA. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2018.01275>. Acesso em: 18 out. 2020.

NISSEN, Silas Boye; MAGIDSON, Tali; GROSS, Kevin; BERGSTROM, Carl T. Publication bias and the canonization of false facts. **Elife**, [S. l.], v. 5, p. 1-19, 20 dez. 2016. ELife Sciences Publications, Ltd. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.7554/elife.21451>. Acesso em: 20 jan. 2021.

OECD (2014), **The Adverse Outcome Pathway for Skin Sensitisation Initiated by Covalent Binding to Proteins**, OECD Series on Testing and Assessment, No. 168, OECD Publishing, Paris. Disponível em: <https://doi.org/10.1787/9789264221444-en>. Acesso em: 20 mar. 2021.

OECD. **Guidance Document for the Use of Adverse Outcome Pathways in Developing Integrated Approaches to Testing and Assessment (IATA)**. OECD Publishing, 2016.

OECD. **Test No. 442E: In vitro skin sensitisation**. 2017. Disponível em: <http://www.oecd.org/env/test-no-442e-in-vitro-skin-sensitisation-9789264264359-en.htm>. Acesso em: 15 fev. 2021.

OECD E ECHA. **QSAR Toolbox**. [2019]. Disponível em: <https://qsartoolbox.org/>. Acesso em: 21 nov. 2019.

OECD QSAR TOOLBOX. **User manual Toolbox 4.4 Release Notes**. [2020]. Disponível em: <https://qsartoolbox.org/wp-content/uploads/2020/02/Toolbox-4.4-Release-Notes.pdf>. Acesso em: 12 jan. 2021.

POUND, Pandora. Are Animal Models Needed to Discover, Develop and Test Pharmaceutical Drugs for Humans in the 21st Century? **Animals**, [S. l.], v. 10, n. 12, p. 1-7, 21 dez. 2020. MDPI AG. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/ani10122455>. Acesso em: 19 jan. 2021.

RAUNIO, Hannu. In Silico Toxicology – Non-Testing Methods. **Frontiers In Pharmacology**, [S. l.], v. 2, n. 1, p. 1-8, 2011. Frontiers Media SA. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3389/fphar.2011.00033>. Acesso em: 08 jan. 2021.

RÉDA, Clémence; KAUFMANN, Emilie; DELAHAYE-DURIEZ, Andrée. Machine learning applications in drug development. **Computational And Structural Biotechnology Journal**,

[S. l.], v. 18, p. 241-252, 2020. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.csbj.2019.12.006>. Acesso em: 26 jan. 2021.

ROVIDA, Costanza; RYAN, Cindy; CINELLI, Serena; BASKETTER, David; DEARMAN, Rebecca; KIMBER, Ian. The Local Lymph Node Assay (LLNA). **Current Protocols In Toxicology**, [S. l.], v. 51, n. 1, p. 1-15, fev. 2012. Wiley. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/0471140856.tx2007s51>. Acesso em: 20 out. 2020.

RUSSELL, William Moy Stratton; BURCH, Rex Leonard. **The principles of humane experimental technique**. Methuen, 1959. Disponível em http://altweb.jhsph.edu/pubs/books/humane_exp/het-toc. Acesso em 02 jan. 2021.

SANTOS, Bárbara Andréa Fortes dos. Ensaio do linfonodo local murino (LLNA) na diferenciação entre a dermatite de contato alérgica e de contato irritante: um estudo da expressão de marcadores de superfície de linfócitos T. **Vigilância Sanitária em Debate**, [s.l.], v. 6, n. 3, p. 54-63, 31 ago. 2018. Vigilância Sanitária em Debate: Sociedade, Ciência y Tecnologia. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.22239/2317-269x.01088>. Acesso em: 28 nov. 2020.

SCHULZ, Jörg B.; COOKSON, Mark R.; HAUSMANN, Laura. The impact of fraudulent and irreproducible data to the translational research crisis - solutions and implementation. **Journal Of Neurochemistry**, [S. l.], v. 139, p. 253-270, out. 2016. Wiley. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1111/jnc.13844>. Acesso em: 14 fev. 2021.

SMITH; LILLEY. The Role of the Three Rs in Improving the Planning and Reproducibility of Animal Experiments. **Animals**, [S. l.], v. 9, n. 11, p. 975-983, 14 nov. 2019. MDPI AG. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/ani9110975>. Acesso em: 09 fev. 2021.

SPRINGER, Mark S.; MURPHY, William J. Mammalian evolution and biomedicine: new views from phylogeny. **Biological Reviews**, v. 82, n. 3, p. 375-392, 2007.

SULLIVAN, K. M.; MANUPPELLO, J. R.; WILLETT, C. E. Building on a solid foundation: SAR and QSAR as a fundamental strategy to reduce animal testing. **SAR and QSAR in Environmental Research**, v. 25, n. 5, p. 357-365, 2014.

TANNENBAUM, Jerrold; BENNETT, B. Taylor. Russell and Burch's 3Rs then and now: the need for clarity in definition and purpose. **Journal of the American Association for Laboratory Animal Science**, v. 54, n. 2, p. 120-132, 2015. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4382615/> Acesso em: 15 mar. 2021.

TAYLOR, Katy; ALVAREZ, Laura Rego. An Estimate of the Number of Animals Used for Scientific Purposes Worldwide in 2015. **Alternatives To Laboratory Animals**, [S. l.], v. 47, n. 5-6, p. 196-213, nov. 2019. SAGE Publications. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1177/0261192919899853>. Acesso em: 13 jan. 2021.

TEUBNER, Wera; MEHLING, Anette; SCHUSTER, Paul Xaver; GUTH, Katharina; WORTH, Andrew; BURTON, Julien; VAN RAVENZWAAY, Bennard; LANDSIEDEL, Robert. Computer models versus reality: how well do in silico models currently predict the sensitization potential of a substance. **Regulatory Toxicology And Pharmacology**, [S.L.], v.

67, n. 3, p. 468-485, dez. 2013. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2013.09.007>. Acesso em: 18 nov. 2020.

TRÉZ, Thales. **Experimentação animal: um obstáculo ao avanço científico**/ Porto Alegre: Tomo Editorial, 2015. 264 p.

TUNG, Chun-Wei; LIN, Yi-Hui; WANG, Shan-Shan. Transfer learning for predicting human skin sensitizers. **Archives Of Toxicology**, [S.L.], v. 93, n. 4, p. 931-940, 26 fev. 2019. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s00204-019-02420-x>. Acesso em: 02 jan. 2021.

URBISCH, Daniel; MEHLING, Annette; GUTH, Katharina; RAMIREZ, Tzutzy; HONARVAR, Naveed; KOLLE, Susanne; LANDSIEDEL, Robert; JAWORSKA, Joanna; KERN, Petra S.; GERBERICK, Frank. Assessing skin sensitization hazard in mice and men using non-animal test methods. **Regulatory Toxicology And Pharmacology**, [S.L.], v. 71, n. 2, p. 337-351, mar. 2015. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2014.12.008>. Acesso em: 15 nov. 2020.

URBISCH, D.; HONARVAR, N.; KOLLE, S.N.; MEHLING, A.; RAMIREZ, T.; TEUBNER, W.; LANDSIEDEL, R.. Peptide reactivity associated with skin sensitization: the qsar toolbox and times compared to the dpra. **Toxicology In Vitro**, [S.L.], v. 34, p. 194-203, ago. 2016. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tiv.2016.04.005>. Acesso em: 15 nov. 2020 .

VAN MEER, Peter J.K.; KOOIJMAN, Marlous; WIED, Christine C. Gispén-De; MOORS, Ellen H.M.; SCHELLEKENS, Huub. The ability of animal studies to detect serious post marketing adverse events is limited. **Regulatory Toxicology And Pharmacology**, [S.L.], v. 64, n. 3, p. 345-349, dez. 2012. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2012.09.002>. Acesso em: 16 nov. 2020.

VAN NORMAN, Gail A. Limitations of Animal Studies for Predicting Toxicity in Clinical Trials. **Jacc: Basic to Translational Science**, [S.L.], v. 4, n. 7, p. 845-854, nov. 2019. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacbts.2019.10.008>. Acesso em: 15 nov. 2020.

VAN NORMAN, Gail A. Limitations of animal studies for predicting toxicity in clinical trials: part 2: potential alternatives to the use of animals in preclinical trials. **Basic to Translational Science**, v. 5, n. 4, p. 387-397, 2020. Disponível em: <https://www.jacc.org/doi/full/10.1016/j.jacbts.2020.03.010>. Acesso em: 15 nov. 2020.

VAN NORMAN, Gail A. Phase II Trials in Drug Development and Adaptive Trial Design. **Jacc: Basic to Translational Science**, [S. l.], v. 4, n. 3, p. 428-437, jun. 2019. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jacbts.2019.02.005>. Acesso em: 20 dez. 2020.

VEEN, Jochem W. van Der; RORIJE, Emiel; EMTER, Roger; NATSCH, Andreas; VAN LOVEREN, Henk; EZENDAM, Janine. Evaluating the performance of integrated approaches for hazard identification of skin sensitizing chemicals. **Regulatory Toxicology And Pharmacology**, [S. l.], v. 69, n. 3, p. 371-379, ago. 2014. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.yrtph.2014.04.018>. Acesso em: 03 nov. 2020.

VERHEYEN, G. R.; BRAEKEN, E.; VAN DEUN, K.; VAN MIERT, S.. Evaluation of in silico tools to predict the skin sensitization potential of chemicals. **Sar And Qsar In Environmental Research**, [S.L.], v. 28, n. 1, p. 59-73, 2 jan. 2017. Informa UK Limited. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/1062936x.2017.1278617>. Acesso em: 18 nov. 2020.

VOGT, Lucile; REICHLIN, Thomas S.; NATHUES, Christina; WÜRBEL, Hanno. Authorization of Animal Experiments Is Based on Confidence Rather than Evidence of Scientific Rigor. **Plos Biology**, [S.L.], v. 14, n. 12, p. 1-24, 2 dez. 2016. Public Library of Science (PLoS). Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pbio.2000598>. Acesso em: 23 jan. 2021.

WARSHAW, Erin M.; SCHLARBAUM, Jamie P.; LIOU, Yujie L.; KIMYON, Rebecca S.; ZHANG, Amy J.; NIKLE, Anne B.; MONNOT, Andrew D.; HYLWA, Sara A.. Tolerability of hair cleansing conditioners: a double-blind randomized, controlled trial designed to evaluate consumer complaints to the u.s. food and drug administration. **Cutaneous And Ocular Toxicology**, [S.L.], v. 39, n. 2, p. 89-96, 2 mar. 2020. Informa UK Limited. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/15569527.2020.1722154>. Acesso em: 18 fev. 2021.

WILM, Anke; KÜHNEL, Jochen; KIRCHMAIR, Johannes. Computational approaches for skin sensitization prediction. **Critical Reviews In Toxicology**, [S.L.], v. 48, n. 9, p. 738-760, 21 out. 2018. Informa UK Limited. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1080/10408444.2018.1528207>. Acesso em: 03 nov. 2020.

WÜRBEL, Hanno. More than 3Rs: the importance of scientific validity for harm-benefit analysis of animal research. **Lab Animal**, [S.L.], v. 46, n. 4, p. 164-166, abr. 2017. Springer Science and Business Media LLC. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1038/labam.1220>. Acesso em: 21 jan. 2021.

YORDANOVA, Darina; SCHULTZ, Terry W.; KUSEVA, Chanita; TANKOVA, Ksenia; IVANOVA, Hristiana; DERMEN, Irina; PAVLOV, Todor; TEMELKOV, Stanislav; CHAPKANOV, Atanas; GEORGIEV, Marin. Automated and standardized workflows in the OECD QSAR Toolbox. **Computational Toxicology**, [S.L.], v. 10, p. 89-104, maio 2019. Elsevier BV. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.comtox.2019.01.006>. Acesso em: 09 jan. 2020.

ZLATAROV, Prof. Assen. **Automated and Standardized workflows for predicting Acute aquatic toxicity and Skin sensitization**. 2020. Disponível em: https://qsartoolbox.org/file/2020/02/QSARToolbox44_Workflows_for_Ecotox_and_Skin_sens.pdf. Acesso em: 22 mar. 2021.

APÊNDICE A

Apêndice A - Tabela 8: Compilação de ferramentas que auxiliam no desenvolvimento de métodos alternativos ao uso de animais na pesquisa realizada durante o processo de levantamento bibliográfico da pesquisa.

Ferramentas e Plataformas Internacionais

Nome	Tipo de ferramenta	Link	Comentário
<i>AnimAlt ZEBET</i>	Banco de dados	https://www.bfr.bund.de/en/animal_t_zebet__database_for_alternative_methods_to_animal_experiments-62822.html	O banco de dados AnimAlt ZEBET (<i>site</i> em inglês) está disponível gratuitamente na internet desde 2000 e inclui alternativas de qualidade e cientificamente reconhecidas no campo da toxicologia e farmacologia, além de pesquisas fundamentais.
<i>The Alternatives Research & Development Foundation</i>	Site que auxilia na busca por alternativas ao métodos científicos baseados em animais	https://www.ardf-online.org/index.html	Desde 1993, o <i>Alternatives Research & Development Foundation</i> (ARDF) tem sido um apoio para o desenvolvimento de alternativas para métodos científicos baseados em animais. Por meio de programas de bolsas, prêmios e patrocínio de conferências científicas, o ARDF promove pesquisas científicas de alta qualidade que visam substituir e reduzir o uso de animais.
<i>Humane Research Australia Inc.</i>	Site da organização sem fins lucrativos	https://www.humaneresearch.org.au/	A <i>Australian Association for Humane Research Inc</i> foi fundada em outubro de 1979 e desde então desafia o uso dos animais na pesquisa e promove uma ciência mais humana e com validação científica sem o uso de animais na pesquisa.
<i>Human-Relevant Research</i>	Lista de dados	https://www.pcrm.org/sites/default/files/2018-11/Human-Relevant-Research-Universities-	Lista de Universidades no Estados Unidos que realizam pesquisas relevantes para seres humanos

<i>Universities Across the United States</i>		List.pdf?emci=4d8f97f2-a493-ea11-86e9-00155d03b5dd&emdi=1e331e5f-b496-ea11-86e9-00155d03b5dd&ceid=6101184	
EURL ECVAM Review of non-animal models in biomedical research - Breast Cancer	Banco de dados com modelos que não utilizam animais para o estudo do câncer de mama	https://data.jrc.ec.europa.eu/dataset/ffebe454-ed9a-47cf-8a33-8cf70c1b7d38	O <i>The European Commission's Joint Research Center (JRC)</i> realizou uma extensa revisão de modelos não animais avançados usados para pesquisa básica e aplicada em câncer de mama. Os pesquisadores caracterizaram e catalogaram 935 modelos para torná-los mais acessíveis para estudos humanos relevantes que evitem o uso de animais.
<i>Doctors Against Animal Experiments Germany</i>	Site da organização social com informações contra a experimental animal	https://www.aerzte-gegen-tierversuche.de/en/	Organização social de médicos e cientistas alemães que trabalham no campo da medicina (<i>site</i> em inglês e algumas partes em alemão). Defendem a abolição da experimentação animal e, para isso, disponibilizam informações sobre a crueldade das experiências com animais, fornecemos material de informação com base científica em experiências com animais, tanto para médicos quanto para cientistas, bem como para o público em geral.
<i>Norecopa</i>	Plataforma com informações sobre	https://norecopa.no/	Plataforma norueguesa (<i>site</i> em inglês) disponível desde 2007 baseada no princípio dos 3Rs com opções e textos sobre a substituição dos modelos

	alternativas ao uso de animais no meio científico		animais. Além de ter informações sobre bancos de dados e guias, uma parte voltada para educação, e notícias atualizadas sobre métodos alternativos.
<i>Database NAT</i>	Banco de dados de métodos que não envolvem a experimentação animal	https://www.nat-database.org/	O banco de dados NAT (do inglês <i>Non Animal Technologies</i>) é um banco de dados gratuito disponível ao público que contém vários métodos de pesquisa que não são animais desenvolvidos em todo o mundo
<i>The Johns Hopkins Center for Alternatives to Animal Testing (CAAT)</i>	Plataforma americana sobre métodos alternativos ao uso de animais na pesquisa	https://caat.jhsph.edu/about/index.html	O Centro Johns Hopkins para Alternativas a Testes em Animais (CAAT) (<i>site</i> em inglês) promove a ciência humana, apoiando a criação, desenvolvimento, validação e uso de alternativas aos animais em pesquisas, testes de segurança de produtos e educação. (informações retiradas do <i>site</i>). Possuem muitas informações, publicações, além de desenvolverem cursos e palestras (alguns inclusive podem ser vistos <i>online</i>) sobre a temática. Além disso, é possível inscrever seu e-mail para receber boletins informativos mensais sobre novidades do site e publicações.
<i>FRAME - Fund for the Replacement of Animals in</i>	<i>Site</i> da instituição que atua na busca de alternativas aos testes em animais	https://frame.org.uk/	FRAME é uma instituição de caridade independente, financiada por doações e legados corporativos e individuais. Atual há mais de 40 anos para promover alternativas aos testes em animais. O FRAME é dedicado ao desenvolvimento de métodos novos e válidos que

<i>Medical Experiments</i>			substituirão a necessidade de animais de laboratório em pesquisa, educação e testes médicos e científicos. Possui possibilidades de cursos e treinamentos de técnicas de métodos alternativos (<i>site</i> em inglês).
AltTox.org	Site sobre métodos alternativos focado na área de toxicologia	http://alttox.org/	O AltTox.org é um <i>site</i> dedicado ao avanço de métodos não-animais de teste de toxicidade. O <i>site</i> foi desenvolvido para incentivar o intercâmbio de informações técnicas e políticas sobre métodos <i>in vitro</i> e <i>in silico</i> para todos os tipos de testes de toxicidade. O público-alvo inclui participantes do setor, governo, academia e organizações não-governamentais (informações retiradas do <i>site</i>). Tem informações sobre eventos, testes <i>in vitro</i> e <i>in silico</i> , banco de dados, softwares e métodos alternativos na área de toxicologia (<i>site</i> em inglês).
COSMOS	Ferramenta computacional	http://www.cosmostox.eu/home/welcome/	O COSMOS é um projeto da União Europeia que desenvolve métodos para determinar a segurança de ingredientes cosméticos para humanos, sem o uso de animais, usando modelos computacionais. As informações e o software estão disponíveis no <i>site</i> (em inglês).
<i>Integrating bioinformatics and chemoinformatics approaches for the</i>	Ferramenta computacional	http://www.etoxproject.eu/index.html	Ferramenta computacional criada para prever a potencialidade de substâncias químicas utilizando princípios da bioinformática (<i>site</i> em inglês).

<p><i>development of expert systems allowing the in silico prediction of toxicities (eTOX)</i></p>			
<p><i>Funding Opportunities for Non-Animal Research</i></p>	<p>Lista de oportunidades de financiamento de pesquisas focadas na não utilização de animais</p>	<p>https://www.pcrm.org/sites/default/files/2019-03/Funding_Opportunities_NonAnimal_Research.pdf</p>	<p>Documento feito pela <i>The Physicians Committee for Responsible Medicine</i> com uma lista de sites e projetos focados em oportunidades de financiamento de pesquisas sem a utilização de animais (documento em inglês).</p>
<p><i>The Animal Protection Information Service (APIS)</i></p>	<p>Banco de dados com informações sobre a questão animal no meio científico e na parte dos direitos dos animais.</p>	<p>https://www.hennet.org/apis/index.php</p>	<p>Banco de dados com informações úteis para advogados de animais, estudantes, repórteres, legisladores, cientistas, formuladores de políticas em negócios e educação e o público em geral. O banco de dados APIS (<i>site</i> em inglês) contém mais de 5.000 resumos de artigos publicados, detalhando questões relacionadas ao uso de animais e à aplicação das leis de proteção animal nas seguintes áreas: Pesquisa em animais, animais em laboratórios, animais na educação, alternativas viáveis ao uso de animais, animais no entretenimento, fazendas industriais e animais selvagens (informações retiradas do <i>site</i>).</p>

<p><i>European Coalition to End Animal Experiments (ECEAE)</i></p>	<p>Site de grupos de organizações de proteção animal localizados na Europa.</p>	<p>https://www.eceae.org/index.html</p>	<p><i>European Coalition to End Animal Experiments</i> (ECEAE) é um agrupamento de 14 organizações de proteção animal em toda a União Europeia (UE) fundada em 1990 voltada para o fim dos testes de animais (principalmente na parte dos cosméticos). Possui exemplos de campanhas feitas durante o histórico da organização e uma parte focada em argumentos em prol do abolicionismo do uso dos animais no meio científico (<i>site</i> em inglês).</p>
<p><i>Alternative for Animal Testing (ATLA)</i></p>	<p>Revista científica</p>	<p>https://journals.sagepub.com/home/atl</p>	<p>O ATLA é uma revista revisada por pares, destinada a cobrir todos os aspectos do desenvolvimento, validação, implementação e uso de alternativas a animais de laboratório em pesquisas biomédicas e testes de toxicidade. Além da substituição de animais, também abrange trabalhos que visam reduzir o número de animais utilizados e refinar as experiências <i>in vivo</i> que ainda são realizadas (<i>site</i> em inglês).</p>
<p><i>Physicians Committee for Responsible Medicine (PCRM)</i></p>	<p>Site do Comitê de Médicos para Medicina Responsável</p>	<p>https://www.pcrm.org/ethical-science</p>	<p>O Comitê de Médicos para Medicina Responsável (PCRM) é uma organização sem fins lucrativos de pesquisa e advocacia sediada em Washington, DC, que promove uma dieta baseada em plantas, medicina preventiva e alternativas à pesquisa com animais e incentiva o que descreve como "padrões mais altos" ética e eficácia na pesquisa ". Seu registro fiscal mostra suas atividades como "prevenção da crueldade contra animais ". (informações retiradas do site. Site em inglês).</p>

			Possui uma grande quantidade de referências científicas, cursos, infográficos sobre substituição do modelo animal no meio científico.
<i>The Lush Prize</i>	Site do prêmio Lush que apoia financeiramente iniciativas que buscam substituir os testes em animais	https://lushprize.org/	O Prêmio Lush oferece um fundo de prêmio global para apoiar iniciativas para encerrar ou substituir os testes em animais. É o maior fundo de prêmios no setor de testes não animais, com um fundo de prêmios de £ 250.000. (Informações retiradas do site. Site em inglês).

Ferramentas e Plataformas Nacionais			
Nome	Tipo de ferramenta	Link	Comentário
Ética Animal	Plataformas com explicações e conteúdos sobre ética animal	https://www.animal-ethics.org/pt/	A Ética Animal foi formada para fornecer informações e promover discussões e debates sobre questões da ética animal, e para fornecer referências aos defensores dos animais. (Informações retiradas do <i>site</i>) (<i>site</i> em português)
Pred-Skin	Aplicativo disponível para download para celular para avaliar o potencial de sensibilização da pele.	http://predskin.labmol.com.br/	O aplicativo Pred-Skin é uma ferramenta rápida, confiável e fácil de usar e um método alternativo para avaliar o potencial de sensibilização da pele de substâncias químicas. Desenvolvido pelo Laboratório de Planejamento de Fármacos e Modelagem Molecular da Universidade Federal de Goiás (UFG). (Informações retiradas do <i>site</i>) (apesar de ser uma iniciativa brasileira o <i>site</i> é em inglês).
Rede Nacional de Métodos Alternativos (RENAMA)	<i>Site</i> do governo brasileiro sobre métodos alternativos ao uso de animais no Brasil	https://www.mctic.gov.br/mctic/opencms/ciencia/SEPED/Saude/renama/renama.html	Iniciativa do Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações se integrando aos princípios dos 3Rs e buscando a existência de uma infraestrutura laboratorial e de recursos humanos especializados capazes de implantar métodos alternativos ao uso de animais e de desenvolver e validar novos métodos no Brasil. (Informações retiradas do <i>site</i>) (<i>site</i> em português).
Laboratório Nacional de	<i>Site</i> de um laboratório brasileiro que realiza	https://lnbio.cnpem.br/	<i>Site</i> do Laboratório Nacional de Biociências, localizado em Campinas (SP), que realiza pesquisas de grande inovação científica com órgão no chip ¹⁸ (<i>site</i> em

¹⁸ Notícia sobre a pesquisa realizada no LNBio com órgão no chip, método alternativo ao uso de animias na pesquisa: <https://lnbio.cnpem.br/study-shows-how-mini-laboratory-synthesized-organs-can-metabolize-paracetamol/> Acesso: 28 de janeiro de 2020.

<p>Biociências (LNBio)</p>	<p>pesquisas envolvendo métodos alternativos ao uso de animais na pesquisa</p>		<p>inglês).</p>
<p>Centro Brasileiro para Validação de Métodos Alternativos (BraCVAM, Brazilian Center for Validation of Alternative Methods)</p>	<p>Plataforma de validação de métodos alternativos ao uso de animais do Brasil.</p>	<p>https://www.incqs.fiocruz.br/index.php?option=com_content&view=article&id=1188&Itemid=214</p>	<p>O Centro Brasileiro para Validação de Métodos Alternativos (BraCVAM) visa, principalmente, validar métodos alternativos ao uso de animais na experimentação e na educação. Ao receber uma demanda, o BraCVAM, após análise, encaminhará a solicitação ao Conselho Diretor da RENAMA que identificará quais laboratórios poderão participar e executará o processo de validação. (informações retirada do <i>site</i>) (<i>site</i> em português).</p>
<p>Instituto 1R - Instituto de Promoção e Pesquisa para Substituição da Experimentação Animal</p>	<p>Plataforma do instituto</p>	<p>http://instituto1r.org/</p>	<p>O Instituto 1R busca promover e pesquisar a implementação de métodos substitutivos em atividades que envolvam o uso científico e didático de animais. O compromisso primeiro do Instituto é com a crítica pedagógica e científica ao uso de animais – reconhecendo, muito embora, que a crítica ética e moral seja igualmente relevante para que possamos avançar para uma ciência não apenas mais avançada do ponto de vista técnico, como também mais humanitária.</p> <p>A finalidade do Instituto 1R é apoiar e desenvolver ações para promoção, estudo e desenvolvimento de métodos que visem a substituição do uso de animais em</p>

			atividades de ensino, pesquisas e testes e produção de produtos biológicos. (informações retiradas do <i>site</i>) (<i>site</i> em português).
FarmaTec – Centro de Pesquisa, Desenvolvimento Tecnológico e Inovação em Fármacos, Medicamentos e Cosméticos	<i>Site</i> do Laboratório FarmaTec da Universidade Federal de Goiás (UFG)	https://farmatec.farmacia.ufg.br/	<i>Site</i> do Laboratório FarmaTec que possui uma linha específica de metodologias alternativas à experimentação animal. Sendo assim, um bom exemplo de possíveis perspectivas e inspirações para futuros pesquisadores que queiram atuar nesta temática. (<i>Site</i> em português)

Tabela 8 - Compilação de iniciativas e ferramentas que auxiliam no desenvolvimento de métodos alternativos ao uso de animais na pesquisa realizada durante o processo de levantamento bibliográfico da pesquisa.

ANEXO A

Relatório do *QSAR Toolbox* envolvendo a substância teste Dinitrochlorobenzene.

QSAR Toolbox report for category

1. CATEGORY DEFINITION

1.1. Category definition

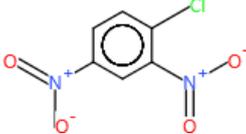
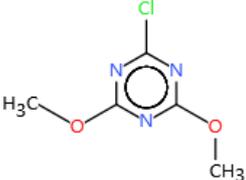
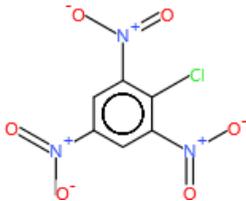
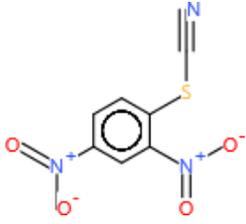
Covered (target) endpoint(s)

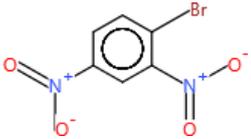
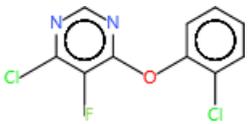
- Human Health Hazards/Sensitisation: EC3 <OR> S M W N <OR> Skin sensitisation, GPMT <OR> LLNA, in Vivo, Skin

1.2. Category members

Information of category members

Table of category members

#	CAS	Name	SMILES	Structure
1	97-00-7	dinitrochlorobenzene	<chem>[O-][N+](=O)c1ccc(Cl)c(c1)[N+](=[O-])=O</chem>	
2	3140-73-6	CDMT	<chem>COc1nc(Cl)nc(OC)n1</chem>	
3	88-88-0	Picryl chloride	<chem>[O-][N+](=O)c1cc(c(Cl)c(c1)[N+](=[O-])=O)[N+](=[O-])=O</chem>	
4	1594-56-5	2,4-DINITROPHENYLTHIOCYANATE	<chem>[O-][N+](=O)c1ccc(SC#N)c(c1)[N+](=[O-])=O</chem>	

5	584-48-5	2,4-Dinitrobromobenzene	[O-][N+](=O)c1ccc(Br)c(c1)[N+](O-)=O	
6	213265-81-7	4-chloro-6-(2-chlorophenoxy)-5-fluoropyrimidine	Fc1c(Cl)ncnc1Oc1ccccc1Cl	

1.3. Profiles/metabolisms

List of profiles/metabolisms

Profiles used for grouping/subcategorization:

- SNAr >> Nucleophilic aromatic substitution on activated aryl and heteroaryl compounds >> Activated aryl and heteroaryl compounds (Protein binding alerts for skin sensitization by OASIS) (primary grouping)

2. CONSISTENCY CHECK

2.1. Physicochemical similarity

PHYSICOCHEMICAL SIMILARITY BASED ON CALCULATED PARAMETERS

NOT AVAILABLE

2.2. Structural similarity

STRUCTURAL SIMILARITY

Table with calculated structural similarity

Options

Mode: Hologram, CombineAllFeatures Measure: Dice

Molecular features: AtomCenteredFragments

Atom characteristics: AtomType, CountHAttached, Hybridization

Calculated structure similarity

	1	16	14	24	35
	CAS 97-00-7	CAS 3140-73-6	CAS 88-88-0	CAS 1594-56-5	CAS 584-48-5

1 CAS 97-00-7	100%	8,33 %	69 %	78,6 %	84,6 %
16 CAS 3140-73-6	8,33 %	100%	7,41 %	0 %	0 %
14 CAS 88-88-0	69 %	7,41 %	100%	58,1 %	62,1 %
24 CAS 1594-56-5	78,6 %	0 %	58,1 %	100%	78,6 %
35 CAS 584-48-5	84,6 %	0 %	62,1 %	78,6 %	100%
39 CAS 213265-81-7	27,6 %	7,41 %	6,25 %	12,9 %	13,8 %

	39 CAS 213265-81-7
1 CAS 97-00-7	27,6 %
16 CAS 3140-73-6	7,41 %
14 CAS 88-88-0	6,25 %
24 CAS 1594-56-5	12,9 %
35 CAS 584-48-5	13,8 %
39 CAS 213265-81-7	100%

2.3. MECHANISTIC SIMILARITY

Mechanistic similarity profilers

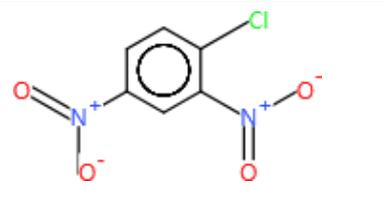
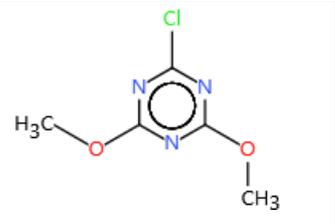
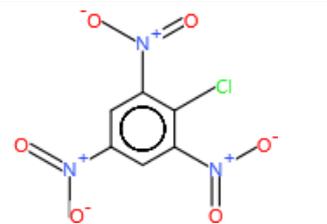
- Protein binding alerts for skin sensitization by OASIS
- Substance type

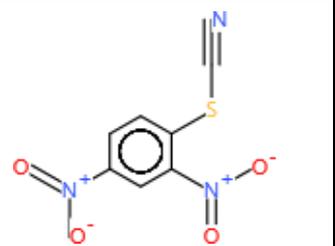
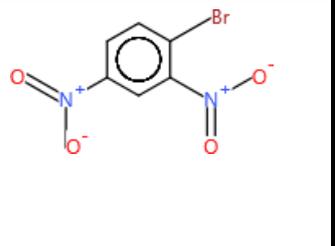
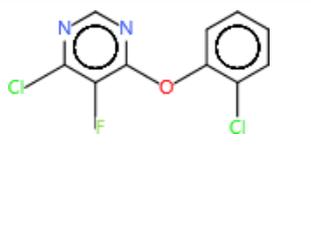
Simulators

- Autoxidation simulator
- Skin metabolism simulator

Table with profiling results for "Protein binding alerts for skin sensitization by OASIS"

1 CAS# 97-00-7	2 CAS# 3140-73-6	3 CAS# 88-88-0
----------------	------------------	----------------

		
Activated aryl and heteroaryl compounds	Activated aryl and heteroaryl compounds	Activated aryl and heteroaryl compounds

4 CAS# 1594-56-5	5 CAS# 584-48-5	6 CAS# 213265-81-7
		
Activated aryl and heteroaryl compounds Thiocyanates	Activated aryl and heteroaryl compounds	Activated aryl and heteroaryl compounds

2.4. ADDITIONAL ENDPOINTS

-Human Health Hazards#Sensitisation

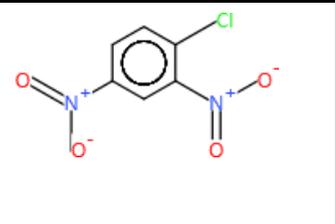
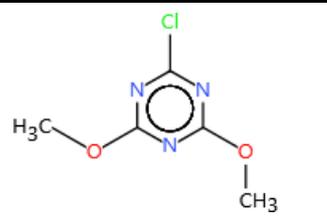
-Human Health Hazards#Sensitisation#[s]Endpoint:EC3 <OR> S M W N <OR> Skin sensitisation#[s]Assay:GPMT <OR> LLNA#[s]Type of method:in Vivo#[s]Organ:Skin

NOTE:

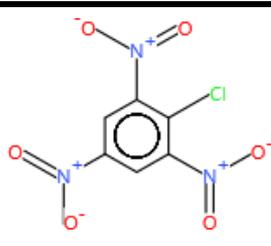
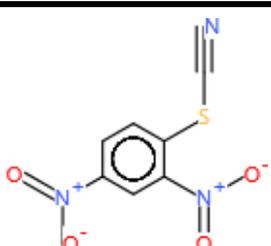
[s] - string metadata

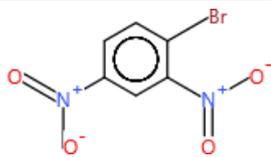
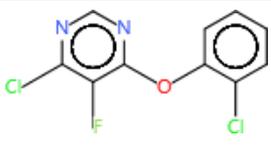
[v] - numerical metadata

Table with selected endpoint data values

	1 CAS# 97-00-7	2 CAS# 3140-73-6
		
Human Health Hazards/Sensitisation	0,0119÷0,19 % (x23)	
Human Health Hazards/Sensitisation	Strong sensitizer [Skin sensitisation IV (GPMT)]	

Human Health Hazards/Sensitisation: EC3 <OR> S M W N <OR> Skin sensitisation, GPMT <OR> LLNA, in Vivo, Skin	0,0119÷0,19 % (x23)	
Human Health Hazards/Sensitisation: EC3 <OR> S M W N <OR> Skin sensitisation, GPMT <OR> LLNA, in Vivo, Skin	Strong sensitizer [Skin sensitisation IV (GPMT)]	

	3 CAS# 88-88-0	4 CAS# 1594-56-5
		
Human Health Hazards/Sensitisation	0,05 %	0,047 %
Human Health Hazards/Sensitisation	Strong sensitizer [Skin sensitisation IV (GPMT)]	
Human Health Hazards/Sensitisation: EC3 <OR> S M W N <OR> Skin sensitisation, GPMT <OR> LLNA, in Vivo, Skin	0,05 %	0,047 %
Human Health Hazards/Sensitisation: EC3 <OR> S M W N <OR> Skin sensitisation, GPMT <OR> LLNA, in Vivo, Skin	Strong sensitizer [Skin sensitisation IV (GPMT)]	

	5 CAS# 584-48-5	6 CAS# 213265-81-7
		
Human Health Hazards/Sensitisation	0,085 %	
Human Health Hazards/Sensitisation		

Human Health Hazards/Sensitisation: EC3 <OR> S M W N <OR> Skin sensitisation, GPMT <OR> LLNA, in Vivo, Skin	0,085 %	
Human Health Hazards/Sensitisation: EC3 <OR> S M W N <OR> Skin sensitisation, GPMT <OR> LLNA, in Vivo, Skin		