

Parecer

Petição n.º 141/XIII/1.ª

A petição aqui em análise tem por base uma declaração redigida por cientistas de excelência, discutida, refletida e assinada por umas dezenas de cientistas informados/as acerca da experimentação animal e das chamadas alternativas a este método institucionalizado na ciência.

A declaração de Lisboa surgiu de um consenso na comunidade científica acerca da falta de previsibilidade dos chamados modelos animais [Knight, 2008]. Desde experiências individuais, a análises sistemáticas da literatura, multiplica-se a evidência da falácia da experimentação animal.

No que ainda falta consenso é no caminho a seguir a partir daqui. Será indispensável continuar com a experimentação animal, porque “é o melhor que temos”? Será possível aumentar a previsibilidade dos testes em animais? Ou é possível e desejável dar um outro rumo à investigação biomédica?

Já foram identificados vários motivos para a falta de previsibilidade dos testes em animais [Greek, 2004, Knight, 2011]. Entre eles estão: (1) erros no desenho das experiências, (2) diferenças inter-espécie e (3) ambientes e protocolos stressantes.

Destas grandes categorias responsáveis pela falta de previsibilidade dos testes em animais, a **primeira** pode ser, em teoria, otimizada; a **terceira** pode ser parcialmente resolvida, mas teremos sempre animais em condições de cativeiro e sujeitos a procedimentos experimentais invasivos, que serão sempre stressantes pela sua natureza; e a **segunda** nunca será resolvida [Bettauer, 2010; Gagneux, 2004; Puente, 2006; Somel, 2011; Varki, 2011; Walker, 1997]. E é sobre esta segunda categoria que me vou debruçar, dado ser o ponto de aparente discórdia entre as partes mais favoráveis e mais desfavoráveis à experimentação animal.

A previsibilidade de um modelo tem de ser avaliada pela história da correlação dos seus resultados com a realidade. Aliás, no desenvolvimento das chamadas alternativas à experimentação animal, essa correlação é testada exaustivamente, tal como acontece nas mais variadas áreas científicas. Contrariamente, demoramos cerca de um século desde a normalização da experimentação animal

para começar a testar a sua capacidade de previsão. Existem várias formulas para quantificar a capacidade de previsão de modelos. Entre elas encontram-se a sensibilidade, a especificidade, o valor preditivo positivo e o valor preditivo negativo. Estas fórmulas têm em consideração os resultados verdadeiros positivos (VP), falsos positivos (FP), verdadeiros negativos e falsos negativos. Como estamos a falar da transposição de resultados em animais não-humanos para humanos, conhecemos normalmente os resultados para os testes positivos, mas não para os negativos. Os resultados negativos de testes em animais não-humanos, por norma, não passam para testes clínicos em humanos. Consequentemente, focar-me-ei no valor preditivo positivo (VPP) dos testes em animais, onde $VPP = VP/(VP+FP)$. De salientar ainda é o que entendemos por um modelo preditivo. Um valor de VPP de 0.5 não é suficiente para qualificar um modelo ou um método científico como preditivo na ciência médica. Este resultado seria o expectável no lançamento de uma moeda ao ar. A ciência médica exige valores à volta de 0.8, se a modalidade for utilizada para algo que intersectará os cuidados de saúde.

Como já referi acima, a falta de previsibilidade da experimentação animal já é consensual. Mas será que tal pode ser resolvido com o melhoramento do desenho das experiências e dos ambientes e protocolos a que os animais são sujeitos? Numa revisão sistemática da literatura, Hackam et al. [Hackam, 2006] chegou a um VPP de 0.37 para os estudos com animais mais citados, publicados em revistas de topo, que investigavam intervenções preventivas ou terapêuticas num modelo animal *in vivo*. Como assumem os autores deste estudo, os artigos incluídos nesta revisão são os que têm mais elevada probabilidade de translação. Os autores acabam por concluir que, mesmo nos estudos com animais de alta qualidade, deve ser esperada uma fraca reprodução por parte de quem conduz investigação clínica. Outros estudos têm chagado às mesmas conclusões [Voskoglou-Nomikos, 2003; Shanks, 2009; Sandercock, 2002; Roberts, 2002; Pound, 2004; Perel, 2007; Lindl, 2005; Knight, 2008, 2007].

As tentativas de melhorar as diferenças inter-espécie, com modelos geneticamente modificados, por exemplo, têm sido alvo de duras críticas científicas e não têm melhorado em nada a sua previsibilidade [Miklos, 2005; Liu, 2004; Kieburtz, 2007; Jankovic, 2005; Darlison, 2005].

Estes resultados da experimentação animal, assim como os avanços no conhecimento do sistema humano e as suas implicações na investigação clínica, têm vindo a favorecer o desenvolvimento da medicina personalizada [Wang, 2011; Hudson, 2011; Froehlich, 2011; Flaherty, 2010; Blair, 2009; Bhatena, 2008; Bates, 2008], onde o estudo do humano como indivíduo é primordial.



Hoje, já muito do que se investigava no animal se investiga no sistema humano. Utilizam-se combinações complexas de tecnologias *in vitro* e *in silico*, por exemplo, para explorar a toxicidade de novas substâncias, a permeabilidade da placenta humana, biologia molecular e celular e previsão de tratamentos clínicos em pacientes específicos; desenvolvem-se novas tecnologias de biomonitorização para monitorizar aspetos da biologia, química e fisiologia humana, que de outra forma não nos seria acessível; Investiga-se a genética humana onde se dão passos cruciais para, por exemplo, se prever a evolução de certos tipos de cancro e detetar que crianças são imunes a algumas vacinas universais, permitindo desenvolver tratamentos adequados para cada caso.

Muitos destes métodos são hoje utilizados em combinação com a experimentação animal, antes da passagem para os testes clínicos. O problema em utilizar métodos baseados em dois sistemas diferentes – humano e não-humano – é que as experiências com animais não humanos podem contradizer os resultados obtidos no estudo do sistema humano. Quando tal acontece – o que é frequente, como já foi explicado acima – os resultados da experimentação animal podem ser incorretamente favorecidos (direcionando a investigação por um caminho errado), porque eles representam “o sistema animal completo”. Tal acontece porque ainda existe esta falsa segurança em usar um organismo completo antes de testar em humanos. No entanto, por razões genéticas e fisiológicas que são imutáveis, as experiências com animais têm-se mostrado menos fidedignas do que até um sistema incompleto do corpo humano [Clemedson, 1996, 2000; MatTek, 2016; Worth, 2014].

A situação que temos atualmente em Portugal relativamente à experimentação animal é precária. Na avaliação de projetos que envolvem experiências com animais, os comités de ética pedem, na melhor das hipóteses, a opinião do/da investigador/a acerca da utilidade da experiência. É crucial que, tal como em qualquer outra área científica, a investigação proposta esteja assente em evidência científica. Em áreas como a educação médica, o desenvolvimento de tecnologias ou estudos clínicos, o escrutínio é constante e as práticas são ajustadas de acordo com os resultados desse escrutínio. É uma questão científica e ética que tal se aplique com celeridade à experimentação animal. As deficiências típicas das instituições responsáveis pela aplicação de diretivas e afins afetam também a

INSTITUTO
DE INVESTIGAÇÃO
E INOVAÇÃO
EM SAÚDE
UNIVERSIDADE
DO PORTO

Rua Alfredo Allen, 208
4200-135 Porto
Portugal
+351 220 408 800
info@i3s.up.pt
www.i3s.up.pt



Direção Geral de Alimentação e Veterinária (DGAV), que não parece ter meios para cumprir as funções que lhe foram imputadas.

Por fim, sabemos que cientistas informados não são capazes de avaliar sem enviesamento as controvérsias na sua área [Greenalgh, 1997; Shermer, 2011]. É, portanto, essencial que – para além da DGAV, dos médicos veterinários, dos Órgãos Responsáveis pelo Bem-Estar dos Animais (ORBEA) e das Comissões de Ética das instituições nas quais são criados, mantidos e utilizados os animais para fins científicos – tenhamos nas autoridades competentes especialistas da área da aplicação médica a que se propõe cada experiência com animais, experientes em outros métodos de investigação baseados no sistema humano que dêem um parecer vinculativo acerca da proposta de investigação com animais.

Dado o exposto acima, considero que as propostas da petição N° 141/XIII/1º só podem levar a uma maior transparência, necessária para o escrutínio científico da experimentação animal.

Luísa Ferreira Bastos, PhD

Monitoring & Simulation of Perinatal Asphyxia, Core Researcher

Instituto de Investigação e Inovação em Saúde, Universidade do Porto

Rua Alfredo Allen, 208 | 4200-135 Porto, Portugal

Mobile: +351 964 453 498 | e-mail: lbastos@fe.up.pt

www.i3s.up.pt

**INSTITUTO
DE INVESTIGAÇÃO
E INOVAÇÃO
EM SAÚDE**
UNIVERSIDADE
DO PORTO

Rua Alfredo Allen, 208
4200-135 Porto
Portugal
+351 220 408 800
info@i3s.up.pt
www.i3s.up.pt

Referências

- Bates S. Progress towards personalized medicine. *Drug discovery today*. 2010;15(3):115–20.
- Bettauer R. Chimpanzees in hepatitis C virus research: 1998–2007. *Journal of medical primatology*. 2010;39(1):9–23.
- Bhathena A, Spear BB. Pharmacogenetics: improving drug and dose selection. *Current opinion in pharmacology*. 2008;8(5):639–46.
- Blair E. Predictive tests and personalised medicine. *Drug Discovery World*. 2009;10(4):27–31.
- Clemedson C, Barile F, Chesne C, Cottin M, Curren R, EKWALL B, et al. MEIC evaluation of acute systemic toxicity. Part VII. Prediction of human toxicity by results from testing of the first 30 reference chemicals with 27 further in vitro assays. *ATLA Alternatives to laboratory animals*. 2000;28:161–200.
- Clemedson C, McFarlane-Abdulla E, Andersson M, Barile F, Calleja M, Chesne C, et al. MEIC evaluation of acute systemic toxicity. Part II. In vitro results from 68 toxicity assays used to test the first 30 reference chemicals and a comparative cytotoxicity analysis. *Alternatives to laboratory animals: ATLA*. 1996.
- Darlison MG, Pahal I, Thode C. Consequences of the evolution of the GABA A receptor gene family. *Cellular and molecular neurobiology*. 2005;25(3-4):607–24.
- Floherty KT, Puzanov I, Kim KB, Ribas A, McArthur GA, Sosman JA, et al. Inhibition of mutated, activated BRAF in metastatic melanoma. *New England Journal of Medicine*. 2010;363(9):809–19.
- Froehlich TE, Epstein JN, Nick TG, Castro MSM, Stein MA, Brinkman WB, et al. Pharmacogenetic predictors of methylphenidate dose-response in attention-deficit/hyperactivity disorder. *Journal of the American Academy of Child & Adolescent Psychiatry*. 2011;50(11):1129–39.
- Gagneux P, Muchmore EA. The Chimpanzee Model. *Hepatitis B and D Protocols: Volume 2: Immunology, Model Systems, and Clinical Studies*. 2004;289–318.
- Greek JS, Greek CR. *What Will We Do If We Don't Experiment on Animals?: Medical Research for the Twenty-first Century*. Trafford Publishing; 2004.
- Greenalgh T. How to read a paper: Papers that summarise other papers: systematic reviews and meta-analysis. *British Medical Journal*. 1997;315:672–5.
- Hackam DG, Redelmeier DA. Translation of Research Evidence From Animals to Humans. *JAMA*. 11 de Outubro de 2006;296(14):1731–2.
- Hudson KL. Genomics, health care, and society. *New England Journal of Medicine*. 2011;365(11):1033–41.
- Jankovic J, Noebels JL. Genetic mouse models of essential tremor: are they essential? *The Journal of clinical investigation*. 2005;115(3):584–6.
- Kiebertz K, Olanow CW. Translational experimental therapeutics: The translation of laboratory-based discovery into disease-related therapy. *Mount Sinai Journal of Medicine: A Journal of Translational and Personalized Medicine*. 2007;74(1):7–14.
- Knight A. Reviewing existing knowledge prior to conducting animal studies. *Altern Lab Anim*. Dezembro de 2008;36(6):709–12.
- Knight A. Systematic reviews of animal experiments demonstrate poor human clinical and toxicological utility. *Altern Lab Anim*. Dezembro de 2007;35(6):641–59.
- Knight A. Systematic reviews of animal experiments demonstrate poor contributions toward human healthcare. *Rev Recent Clin Trials*. Maio de 2008;3(2):89–96.
- Knight A. *The costs and benefits of animal experiments*. Springer; 2011.
- Lindl T, Voelkel M, Kolar R. [Animal experiments in biomedical research. An evaluation of the clinical relevance of approved animal experimental projects]. *ALTEX*. 2005;22(3):143–51.



Liu Z, Maas K, Aune TM. Comparison of differentially expressed genes in T lymphocytes between human autoimmune disease and murine models of autoimmune disease. *Clinical Immunology*. 2004;112(3):225–30.

MatTek Corporation. <https://www.mattek.com/references/>. Acedido a 11 de Outubro de 2016.

Miklos GLG. The human cancer genome project—one more misstep in the war on cancer. *Nature biotechnology*. 2005;23(5):535–7.

Perel P, Roberts I, Sena E, Wheble P, Briscoe C, Sandercock P, et al. Comparison of treatment effects between animal experiments and clinical trials: systematic review. *BMJ*. 27 de Janeiro de 2007;334(7586):197–197.

Pound P. Where is the evidence that animal research benefits humans? *BMJ*. 28 de Fevereiro de 2004;328(7438):514–7.

Puente XS, Velasco G, Gutiérrez-Fernández A, Bertranpetit J, King M-C, López-Otín C. Comparative analysis of cancer genes in the human and chimpanzee genomes. *BMC genomics*. 2006;7(1):15.

Roberts I. Does animal experimentation inform human healthcare? Observations from a systematic review of international animal experiments on fluid resuscitation. *BMJ*. 2002;324(7335):474–6.

Sandercock P, Roberts I. Systematic reviews of animal experiments. *The Lancet*. Agosto de 2002;360(9333):586.

Shanks N, Greek R, Greek J. Are animal models predictive for humans? *Philosophy, Ethics, and Humanities in Medicine*. 2009;4(1):2.

Shermer M. *The believing brain: From ghosts and gods to politics and conspiracies—How we construct beliefs and reinforce them as truths*. Macmillan; 2011.

Somel M, Liu X, Tang L, Yan Z, Hu H, Guo S, et al. MicroRNA-driven developmental remodeling in the brain distinguishes humans from other primates. *PLoS Biol*. 2011;9(12):e1001214.

Varki NM, Strobert E, Dick Jr EJ, Benirschke K, Varki A. Biomedical differences between human and nonhuman hominids: potential roles for uniquely human aspects of sialic acid biology. *Annual Review of Pathology: Mechanisms of Disease*. 2011;6:365–93.

Voskoglou-Nomikos T, Pater JL, Seymour L. Clinical predictive value of the in vitro cell line, human xenograft, and mouse allograft preclinical cancer models. *Clin Cancer Res*. 15 de Setembro de 2003;9(11):4227–39.

Walker CM. Comparative features of hepatitis C virus infection in humans and chimpanzees. Em: *Springer seminars in immunopathology*. Springer; 1997. p. 85–98.

Wang D, Guo Y, Wright S, Cooke G, Sadee W. Intronic polymorphism in CYP3A4 affects hepatic expression and response to statin drugs. *The pharmacogenomics journal*. 2011;11(4):274–86.

Worth A, Barroso J, Bremer S, Burton J, Casati S, Coecke S, et al. Alternative methods for regulatory toxicology—a state-of-the-art review. *JRC Sci Policy Rep EUR*. 2014;26797:1–475.