


REDUÇÃO DO USO DE ANIMAIS EM PESQUISA: TENDÊNCIAS E DESAFIOS NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL ENTRE 2016 E 2021

 <https://doi.org/10.56238/arev6n3-318>

Data de submissão: 25/10/2024

Data de publicação: 25/11/2024

Camila Botelho Miguel

Laboratório Multidisciplinar de Evidência Científica, Centro Universitário de Mineiros, Unifimes,
Mineiros, GO, Brasil.
Curso de Pós-graduação em Medicina Tropical e Infectologia, Universidade Federal do Triângulo
Mineiro, UFTM, Uberaba, MG, Brasil.

Gabriela Severino da Silva

Laboratório Multidisciplinar de Evidência Científica, Centro Universitário de Mineiros, Unifimes,
Mineiros, GO, Brasil.

Glicélia Pereira Silva

Laboratório Multidisciplinar de Evidência Científica, Centro Universitário de Mineiros, Unifimes,
Mineiros, GO, Brasil.

Ferdinando Agostinho

Universidade de Rio Verde, UniRv, Rio Verde, GO, Brasil.

Melissa Carvalho Martins de Abreu

Laboratório Multidisciplinar de Evidência Científica, Centro Universitário de Mineiros, Unifimes,
Mineiros, GO, Brasil.

Jamil Miguel Neto

Laboratório Multidisciplinar de Evidência Científica, Centro Universitário de Mineiros, Unifimes,
Mineiros, GO, Brasil.

Javier Emilio Lazo-Chica

Laboratório de Biologia Celular do Departamento de Biologia Estrutural do Instituto de Ciências
Biológicas e Naturais, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, UFTM, Uberaba, MG, Brasil.

Wellington Francisco Rodrigues

Laboratório Multidisciplinar de Evidência Científica, Centro Universitário de Mineiros, Unifimes,
Mineiros, GO, Brasil.
Curso de Pós-graduação em Medicina Tropical e Infectologia, Universidade Federal do Triângulo
Mineiro, UFTM, Uberaba, MG, Brasil.
Laboratório de Biologia Celular do Departamento de Biologia Estrutural do Instituto de Ciências
Biológicas e Naturais, Universidade Federal do Triângulo Mineiro, UFTM, Uberaba, MG, Brasil.
E-mail: wellington.frodrigues@unifimes.edu.br

RESUMO

Introdução: Nos últimos anos, esforços significativos têm sido direcionados para a redução, refinamento e substituição do uso de animais não humanos em pesquisa e ensino. Compreender a distribuição e a frequência do uso desses animais é essencial para desenvolver indicadores que

orientem essas práticas. Objetivo: O presente estudo teve como objetivo descrever a frequência de utilização de modelos de experimentação animal entre 2016 e 2021, além de investigar potenciais correlações temporais. Métodos: Foi realizado um estudo transversal retrospectivo, acessando dados da base pública do National Center for Biotechnology Information. Os dados referem-se a camundongos, ratos, coelhos, cobaias, macacos, peixes e cachorros. A análise estatística incluiu o teste de Spearman para avaliar correlações, com um nível de significância de 5%. Resultados: Os camundongos destacaram-se como os modelos mais utilizados, representando 57,73% das associações, seguidos por ratos (26,27%) e peixes (8,40%). Identificaram-se correlações negativas significativas para ratos ($\rho = -0,92$), coelhos ($\rho = -0,97$) e cobaias ($\rho = -0,96$), enquanto uma correlação positiva foi observada para macacos ($\rho = 0,91$). Conclusão: Os resultados indicam uma redução no uso de algumas espécies não primatas associadas a pesquisas básicas, juntamente com um aumento na utilização de primatas. Essa mudança ressalta a necessidade de políticas e práticas que promovam a substituição e o refinamento na experimentação animal, visando o bem-estar animal e a eficiência científica.

Palavras-chave: Pesquisa. Modelos de Experimentação Animal. Redução. Refinamento. Substituição.

1 INTRODUÇÃO

O uso de animais não humanos em pesquisas e aplicado às práticas de ensino notoriamente permitiu contribuições para o avanço científico e tecnológico observado em dias atuais, por outro lado a prática colabora para severas discussões sociais, científicas e filosóficas ao longo de vários anos (FRANCO, 2013; LAFOLLETTE; SHANKS, 2020).

Já se reconhece a experimentação animal como sendo de sumária importância e contribuição para os avanços científicos e educacionais (LAFOLLETTE; SHANKS, 2020), ainda não é possível mimetizar com exatidão todos os sistemas biológicos complexos esperados para os seres vivos (GURA, 1997) entretanto nas últimas décadas diversos esforços estão sendo feitos para garantir não somente o bem estar ao uso de animais de experimentação mas também manejos que permitam a redução o refinamento e a substituição de animais de experimentação por sistemas cada vez mais alinhados às características dos sistemas biológicos complexos (MOVIA; BRUNI-FAVIER; PRINAMELLO, 2020).

Há um consenso ao comportamento ético, cívico e sincero para todo o processo na experimentação animal, incluindo a aprovação de todos os protocolos à um comitê de ética preparado para avaliá-lo. Diretrizes abrangentes para projetar experimentos com animais foram recentemente desenvolvidas para atender a essa necessidade (LEWIS, 2019). O compromisso de melhorar o bem-estar animal, a qualidade científica, o cuidado da equipe e a transparência para todas as partes interessadas também promoverá uma cultura de cuidados com a pesquisa animal que beneficie todas as partes. Todos os 3 R's de Russell e Burch (substituir, reduzir e refinar) desempenham um papel no planejamento e na reprodutibilidade de estudos e testes que podem envolver animais.

Contudo abordagens que permitem mensurar os efeitos das políticas destinadas à redução ao uso de animais de experimentação, bem como gerar indicadores para práticas futuras são importantes. Assim o presente estudo objetivou descrever a frequência e potenciais correlações temporais para utilização de modelos de experimentação animal.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 ASPECTOS ÉTICOS

O presente estudo trata-se de uma avaliação secundária em acervo digital público e largamente difundido no meio científico e acadêmico. Ainda que o estudo não careça de previa avaliação e aprovação por Comitê de Ética na Utilização de Animais, por se tratar de uma abordagem ao uso de animais o estudo buscou considerar as premissas do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal como instrumento norteador para a construção do estudo.

2.2 DELINEAMENTO EXPERIMENTAL

Foi realizado um estudo secundário observacional analítico transversal retrospectivo e prospectivo. O período retrospectivo que configurou a transversalidade abordada para este inquérito foi entre os anos de 2016 a 2021.

A avaliação prospectiva foi definida pelo espaço temporal para redução das frequências em correlações negativas e aumento em 2 vezes para correlações positivas. Para a busca foram utilizados os seguintes termos: “models, animal”, “mice”, “rats”, “rabbit”, “guinea pig”, “monkey” e “fish”.

Não foi necessário cálculo para determinação de amostragens pois os dados coletados foram populacionais entre período do estudo.

2.3 CRITÉRIOS DE ELEGIBILIDADE

Foram incluídas abordagens à experimentação animal relacionadas à modelos experimentais estabelecidos com linhagens de camundongos, ratos, coelhos, cobaias, macacos ou peixes.

Os documentos inseridos e analisados no estudo pertenciam ao acervo digital do “National Center for Biotechnology Information” estabelecidos na base Medline/Pubmed. A busca foi realizada entre os meses de março (início: dia 28) e abril (final: dia 18) de 2022, para o período do estudo entre os anos de 2016 a 2021.

Estudos publicados em duplicatas, tais como “erratas” ou que não continham menções aos modelos experimentais no título e/ou resumos dos documentos não foram incluídos para as avaliações.

2.4 ANÁLISE DOS DADOS

Os dados coletados foram tabulados em “software” da Microsoft (Windows 10) o Excel®. As frequências foram utilizadas para avaliar as distribuições para o uso dos diferentes modelos experimentais, assim como as variações entre os tamanhos de efeitos dado pelas respectivas medias e desvios padrões, dos quais utilizados para as comparações.

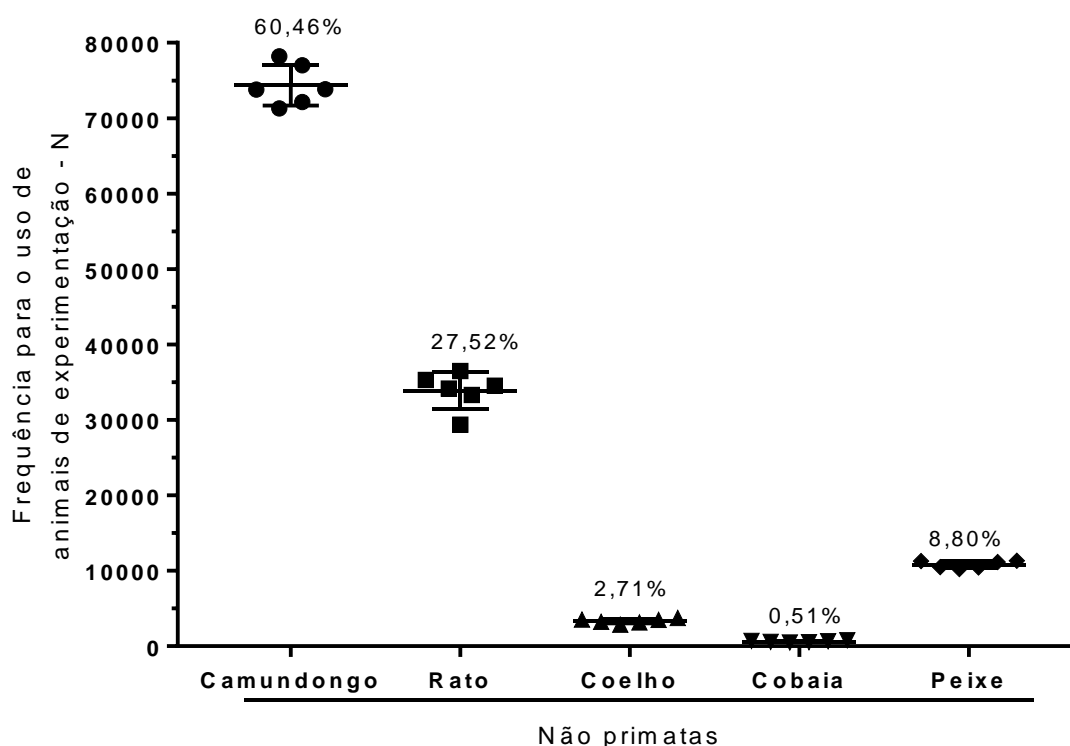
O teste de Shapiro Wilk foi utilizado para avaliar as distribuições e/ou normalidade. As correlações foram determinadas com o teste de “Spearman” e as predições foram avaliadas por meio das curvas de regressão linear. O nível de confiança considerado para todas as análises foi de 5%.

3 RESULTADOS

As frequências absolutas e relativas foram inicialmente avaliadas para espécies de animais não primatas, e foi possível classificá-las em ordem decrescente para as citações nos diferentes estudos, onde em primeiro lugar apareceu os camundongos ($74387 \pm 2711 - 60,46\%$) seguido de ratos (33859

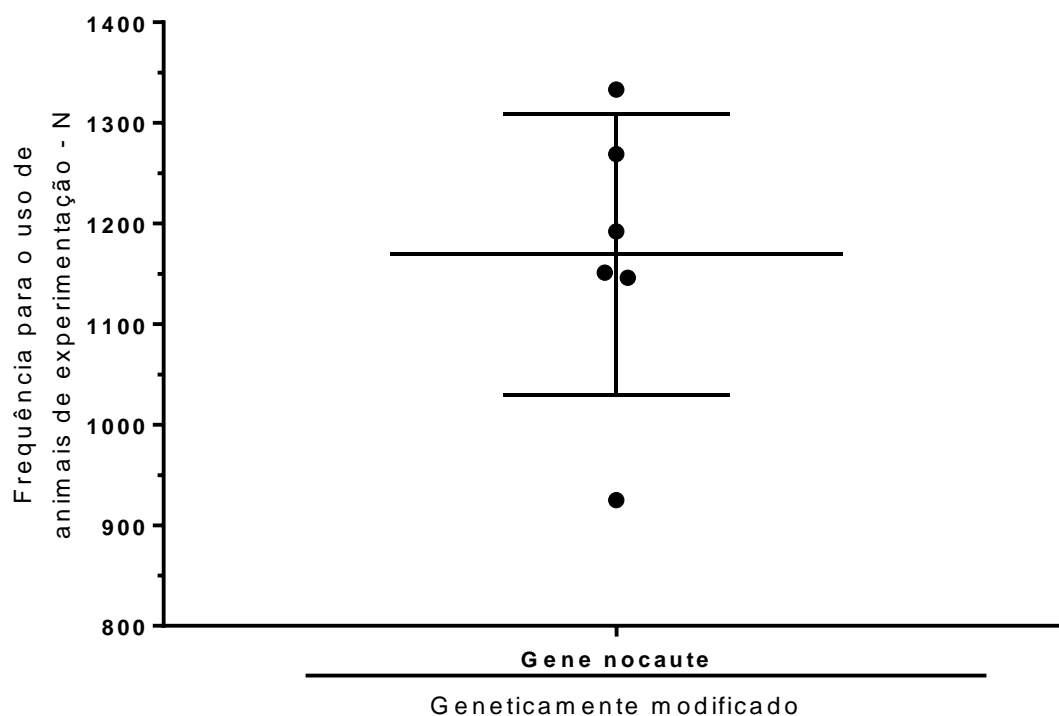
± 2445), peixes ($10823 \pm 488,70$), coelhos ($3338 \pm 312,90$) e cobaias ($626,30 \pm 110$) (Figura 1). As distribuições para as frequências de citações às diferenças espécies no período avaliado foram gaussianas ($w > 0,84$), demonstrando um padrão de normalidade para as avaliações ao uso dos animais.

Figura 1. Perfil para a distribuição da utilização de animais de experimentação não primatas para o período de 2016 a 2021. As frequências foram obtidas após consulta na base de dados Medline/Pubmed para as espécies de camundongo, rato, coelho, cobaia e peixe. Os dados foram tabulados em valores relativos e absolutos, onde as distribuições estão sendo demonstradas pela média e desvio padrão.



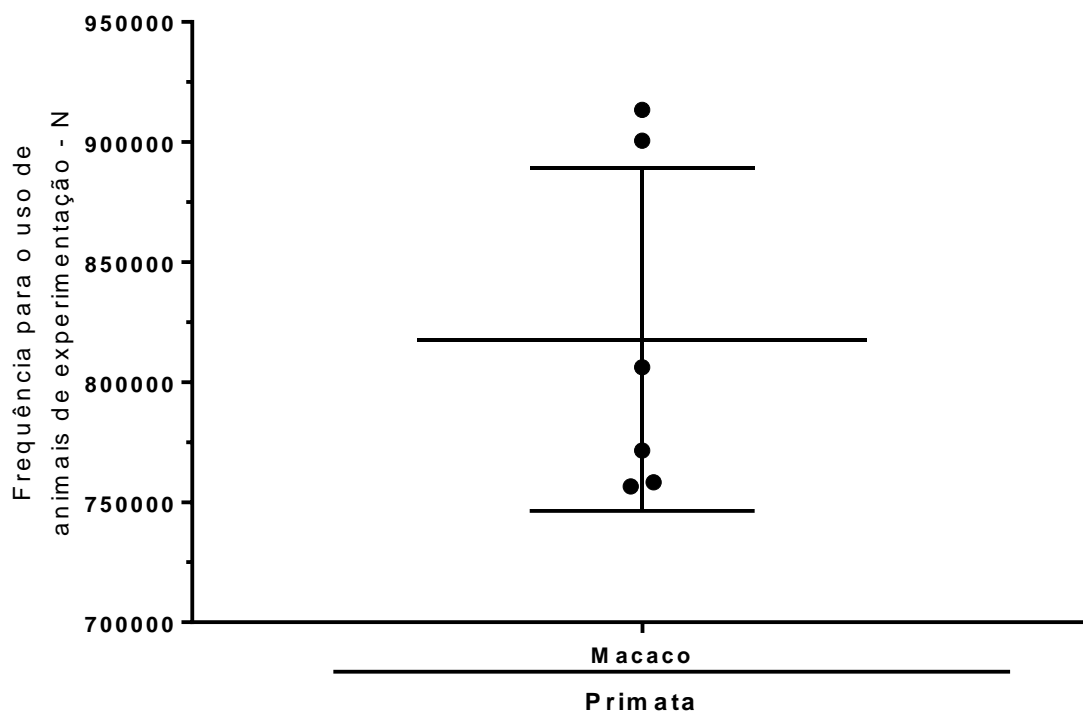
Como o uso de animais geneticamente modificados tem sido alvo à diversos estudos a sua frequência também foi avaliada. Foi possível observar uma distribuição normal para o período analisado ($W = 0,92$) e uma média de 1169 estudos por ano com um desvio padrão de 139,90 (IC 95% = 1023 a 1316) (Figura 2).

Figura 2. Frequência para a utilização de animais de experimentação geneticamente modificado entre o período de 2016 a 2021. As frequências foram obtidas após consulta na base de dados Medline/Pubmed para linhagens geneticamente modificadas. Os dados foram tabulados em valores absolutos, onde as distribuições estão sendo demonstradas pela média e desvio padrão.



Seguindo com as descrições para as frequências ao uso de animais de experimentação, foi avaliado as frequências para animais primatas não humanos de forma geral (Figura 3). Foi identificado uma distribuição normal para os anos de investigação ($W = 0,81$) com uma média de 817783 por ano e um desvio padrão de 71454 (IC 95% = 722797 a 892769) (Figura 3).

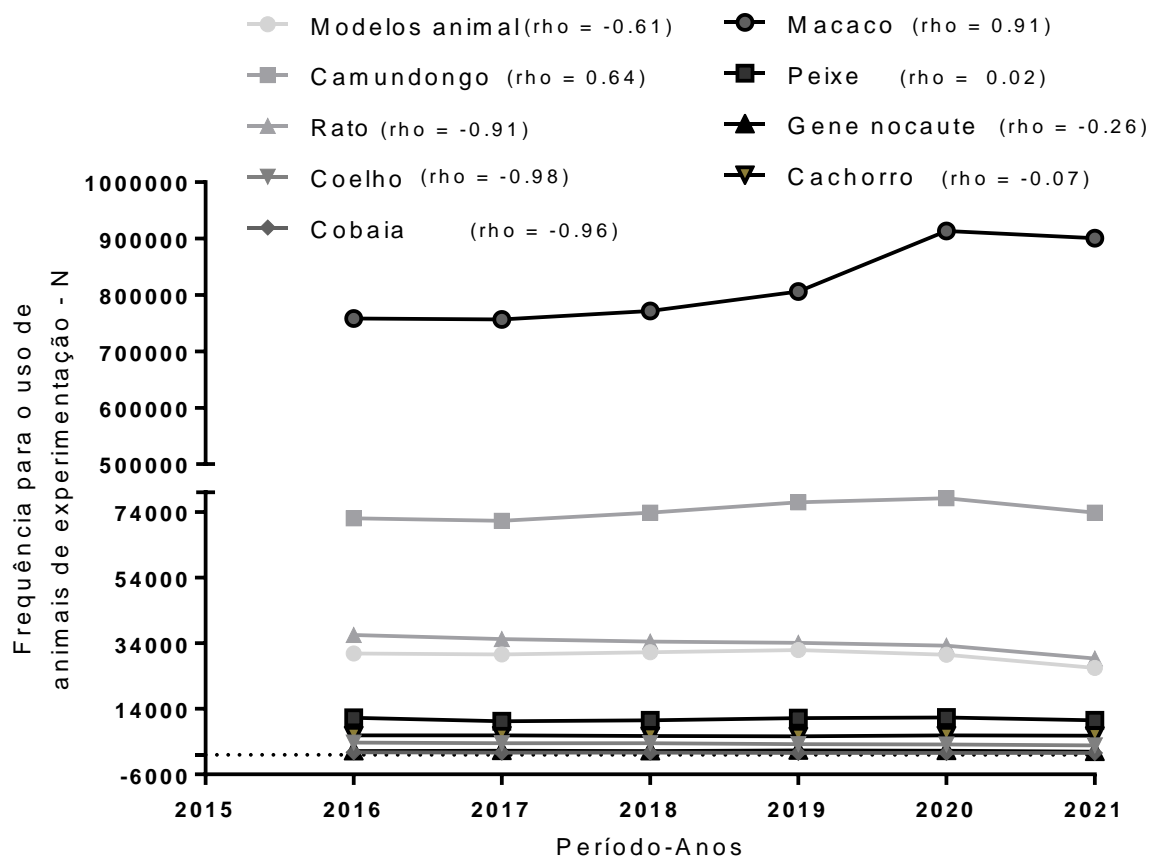
Figura 3. Frequência para a utilização de animais de experimentação primatas entre o período de 2016 a 2021. As frequências foram obtidas após consulta na base de dados Medline/Pubmed para as diferentes espécies de animais de experimentação primatas. Os dados foram tabulados em valores absolutos, onde as distribuições estão sendo demonstradas pela média e desvio padrão.



Após levantar e conhecer as distribuições médias para as frequências de diferentes espécies de animais usadas em experimentação ou ensino foi avaliada potenciais correlações entre as frequências absolutas e o período do estudo (Figura 4). Correlações negativas e significativas foram observadas para os modelos animais de forma geral ($\rho = -0,61$; $p < 0,05$) e de forma pontual para as espécies de ratos ($\rho = -0,91$; $p < 0,05$), coelhos ($\rho = -0,98$; $p < 0,05$) e cobaias ($\rho = -0,96$; $p < 0,05$).

Por outro lado, correlações positivas e significativas foram observadas para as espécies de camundongos ($\rho = 0,64$; $p < 0,05$) e macacos ($\rho = 0,91$; $p < 0,05$). Já para os cachorros, peixes e animais nocautes as flutuações não permitiram correlações significativas ($p > 0,05$) (Figura 4).

Figura 4. Correlação temporal para as frequências de utilização de animais de experimentação e o período de seis anos (2016 a 2021). As frequências foram obtidas após consulta na base de dados Medline/Pubmed para as diferentes espécies de animais de experimentação primatas. Os dados foram tabulados em valores absolutos e as series determinadas entre os valores de F(X). Para avaliar as correlações os valores rho foram determinados pelo teste de “Spearman”. O nível de significância utilizado foi de 5%.



Por fim uma avaliação prospectiva para todas as espécies com $\rho > |0,6|$ foi realizado para estimativas das frequências com 50% de diferença para as frequências do ano de 2021, seguindo o percurso vetorial (Tabela 1). Foi possível estimar que a primeira espécie a reduzir em 50% a sua frequência foi para as cobaias com estimativa para o ano de 2025, posteriormente seguiu-se para os coelhos (2030) e ratos (2035).

Por outro lado, a estimativa para o aumento em 2x a atual frequência para macacos foi estimada para o ano de 2047 e para os camundongos o ano de 2098. De maneira geral a média para redução de modelos animais experimentais em 50% ficou para o ano de 2046 (tabela 1).

Tabela 1. Predição para os efeitos às frequências ao uso de diferentes espécies de animais em experimentação.

Dados	Modelo animal	Camundongo	Rato	Coelho	Cobaia
2022 - Ano	28093,47	77626,00	29666,60	2766,73	428,33
2023 - Ano	27468,12	78551,43	28468,77	2603,42	371,76
2024 - Ano	26842,78	79476,86	27270,94	2440,10	315,19
2025 - Ano	26217,44	80402,29	26073,11	2276,79	258,62
≠ em 50% para 2021	13247,50 ↓	147678,00 ↑	14692,50 ↓	1424,00 ↓	253,50 ↓
Dif. em 50% - Ano	2046	2098	2035	2030	2025
Valor r	-0,61	0,64	-0,92	-0,98	-0,96

≠ = diferença. % = percentual. ↓↑ = demonstra a posição para as diferenças referente ao ano de 2021 (dividido ou multiplicado por 2). Dif. = diferença. Os anos foram estimados por meio de interpolação e equação dada na regressão linear (critério = $r > 0,6$ em módulo). Observação: Para os macacos os dados sofreram muitas interferências de números de estudos teóricos ou observacionais descritivos (apenas descrições populacionais).

4 DISCUSSÃO

Aqui, no presente estudo foi possível avaliar e discorrer sobre as frequências para o uso de diferentes espécies utilizadas na experimentação animal, assim como avaliar o espaço temporal para modificações em 50% das frequências atualmente descritas.

Os modelos associados à camundongos ainda são os modelos mais utilizados entre os animais não primatas, seguidos de ratos, peixes, coelho e cobaia. É possível observar uma versatilidade para indução de diferentes modelos experimentais com o uso de camundongos tanto para doenças inflamatórias infecciosas (ASSINGER; SCHROTTMAIER; SALZMANN; RAYES, 2019; CLEARY; PITCHFORD; AMISON; CARRINGTON *et al.*, 2020; RODRIGUES; MIGUEL; MARQUES; DA COSTA *et al.*, 2022), não infecciosas (SHOCHET; HOLDSWORTH; KITCHING, 2020; TSCHÖPE; AMMIRATI; BOZKURT; CAFORIO *et al.*, 2021) e modelos degenerativos (CHEN; LU; PENG; MAK *et al.*, 2022; DAWSON; GOLDE; LAGIER-TOURENNE, 2018) e ainda para diferentes doenças crônicas, incluindo hipertensão, obesidade e diabetes mellitus (GIRALT-LÓPEZ; MOLINA-VAN DEN BOSCH; VERGARA; GARCÍA-CARRO *et al.*, 2020; WOODS; SATOU; MIYATA; KATSURADA *et al.*, 2019) o que pode estar contribuindo para o perfil encontrado quanto a alta frequência ao uso da espécie, mas não somente, outros fatores parecem ser importantes, tais como a otimização para os espaços ocupados em biotérios, a disponibilidade para ‘kits’ comerciais que avaliam diferentes moléculas da espécie e claro a sua similaridade com humanos (BELONGIE; BRANSON; DOLLAR; RABAUD, 2005; SWEIS; ABRAM; SCHMIDT; SEELAND *et al.*, 2018). Provavelmente os fatores discorridos anteriormente irão influenciar a ordem das frequências para o uso de outras espécies animais para experimentação.

Nas últimas décadas houve um aumento de estudos que divulgaram modelos experimentais promissores para o uso de peixes, principalmente para a espécie Zebrafish (ADAMSON; SHERIDAN; GRIERSON, 2018). Entre contribuições para modelo biológico se destaca avaliações toxicológicas,

neurobiológicas, imunológicas, câncer, desordens metabólicas entre outras (KEY; DEVINE, 2003; KUMAR; SINGH; SINGH, 2021; NOVAK; ŽEGURA; MODIC; HEATH *et al.*, 2017; VASYUTINA; ALIEVA; REUTOVA; BAKALEIKO *et al.*, 2022), certamente parece ser um dos modelos biológicos complexos promissor para diferentes empregos nas pesquisas e no ensino.

Entretanto na presente avaliação não foi encontrada uma correlação positiva para o uso de modelos com Zebrafish, acreditamos que a versatilidade do modelo biológico ainda não seja um fator que permita o mesmo ser utilizado de forma ampla, sobre tudo por centros de pesquisas em países em desenvolvimento, haja vista que a implementação de um biotério para a espécie em questão, assim como a sua manutenção ainda é dispendioso e carece de vários cuidados específicos (AVDESH; CHEN; MARTIN-IVERSON; MONDAL *et al.*, 2012; PONPORNPIST; JONGJAROENJAI; SUTHAMNATPONG; BURUT-ARCHANAI, 2022).

Para alguns dos modelos avaliados foi possível verificar uma tendência à diminuição para a utilização dos animais, como foi observado para ratos, coelhos, cobaias e para os animais de experimentação de uma forma em geral. Esse foi um indicador positivo importante do estudo do qual corrobora aos esforços vinculadas ao refinamento, redução e substituição para o uso de animais de experimentação amplamente disseminado (LILLEY; STANFORD; KENDALL; ALEXANDER *et al.*, 2020; TANNENBAUM; BENNETT, 2015). A inclusão de novos recursos computacionais e realísticos certamente tem colaborado para a implementação e utilização de novas estratégias para pesquisas reduzindo o número de animais de experimentação (NIEDERER; LUMENS; TRAYANOVA, 2019; YAMAMOTO; NAKAMURA; LIU; STEIN *et al.*, 2019), outro fator importante é o refinamento para as pesquisas, com métodos que garantem a replicabilidade bem como a construção de delineamentos assertivos quanto à avaliação das amostragens estatísticas (BURR, 2018; STIGLIC; KOCBEK; FIJACKO; ZITNIK *et al.*, 2020).

Por outro lado, foi notória o aumento para pesquisas com primatas nos últimos anos. O que parece que as frequências para o uso de primatas não humanos em pesquisas podem sofrer variações de acordo com a região avaliada, na união Europeia por exemplo há relatos que há uma diminuição para o uso de primatas e para diversas outras regiões do mundo a frequência tem aumentada (CHATFIELD; MORTON, 2018). Acreditamos que a proximidade filogenética dos primatas colaborou para o interesse aos seus usos em diferentes pesquisas, como destacada para um estudo com modelo de esclerose múltipla (BROK; BAUER; JONKER; BLEZER *et al.*, 2001), além disso, as práticas seguras e a rapidez das investigações nos últimos anos para a Covid-19, chegando rapidamente em medidas preventivas (vacinas) e de potenciais intervenções para a doença aqueceram a necessidade de modelos pré-clínicos mais assertivos para os avanços e aplicações biomédicas (CAO; DENG; DAI,

2020; COHEN, 2020). Somado a isso levantamentos epidemiológicos, avaliações para as diferentes interações biológicas de primatas com o meio ambiente os seus hospedeiros e as relações com os seres humanos fazem parte de atuais investigações. Em recente relato foi demonstrado práticas disseminadas restritas para algumas comunidades quanto ao uso de especiarias de primatas para buscar a cura de diferentes doenças, onde na mesma avaliação os autores destacaram a prática como fator negativo e a necessidade para a divagação do conhecimento e práticas voltadas para o fortalecimento de sistemas de saúde visando o desencorajamento ao uso de primatas nestas comunidades (DAOLAGUPU; TALUKDAR; CHOUDHURY, 2021). Em outro estudo parâmetros hematológicos, fisiológicos, morfométricos e parasitários foram avaliados em 26 macacos (*Sapajus libidinosus*) após serem resgatados e alocados em 2 centros no nordeste do Brasil (HERNÁNDEZ-CRUZ; FERREIRA; ROONEY; GUIDI *et al.*, 2022). Por outro lado, carece da atenção e o fortalecimento ético para todas as práticas voltadas para testagens em primatas (MARTIN, 2008). Nesse sentido há uma eminente preocupação com as questões éticas de pesquisa aplicadas à utilização de primatas para pesquisa, uma vez que as leis podem variar e serem mais flexíveis entre diferentes países (CHATFIELD; MORTON, 2018).

Certamente com as práticas motivadoras para as implementações de modelos alternativos para o ensino e pesquisas, bem como ao refinamento de métodos e a disseminação de estudos que possam viabilizar a diminuição de esforços para busca de respostas de indagações já tangíveis de serem conhecidas por meio de revisões sistemáticas há uma previsão para redução ao uso de animais de experimentação (LEE; KANG; JEONG; KIM *et al.*, 2022), corroborando com as expectativas observadas ao longo das últimas décadas o estudo apresentado permitiu avaliar prospectivamente o uso de diferentes espécies na pesquisa e o que parece é que modificações mais acentuadas, para pelo menos 50% do que se tem hoje dependerão de mais 3 décadas. Contudo o fomento para geração de meios alternativos às investigações e ao ensino devem fazer parte e ser fortalecido para os próximos anos e além disso o avanço dos comitês de ética para o uso de animais serão fundamentais para futuras práticas (OLSSON; NIELSEN; CAMERLINK; PONGRÁCZ *et al.*, 2022), 2022), haja vista que ainda as práticas com animais de experimentação são alternativas indispensáveis e fundamentais para garantir o aprimoramento e o avanço da ciência, assim como viabilizar perspectivas para novos meios de prevenção, intervenções e manejo para doenças avassaladoras (LAFOLLETTE; SHANKS, 2020).

Ainda as estratificações para outras espécies, por países ou características sociodemográficas ou mesmo por taxas de pesquisas científicas e para as diferenças entre os tipos de pesquisas devem ser levantadas para melhorar os indicadores ao uso de animais de experimentação e esses pontos são as principais considerações para fragilidade do estudo apresentado.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

De forma geral nos últimos anos houve um decaimento para o uso de animais de experimentação, o que foi possível verificar para a maioria das espécies avaliadas no estudo, por outro lado não há perspectivas para redução ao uso de camundongos, espécie mais frequente não primata utilizada atualmente para experimentação animal e somado a isto há uma perspectiva para o aumento ao uso de animais primatas não humanos.

Modelos alternativos para investigações, refinamento ao delineamento das pesquisas e sumarização de dados são fatores que veem contribuindo para a redução ao uso de animais, mas certamente políticas inclinadas às boas práticas ao uso de animais para experimentação bem como ao fortalecimento dos comitês de ética serão fundamentais para viabilizar melhores resultados na prática ao uso de animais de experimentação.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio à pesquisa por meio da concessão de uma bolsa de pós-doutorado sênior à autora Camila Botelho Miguel, conforme o Edital 32/2023 e Processo 102630/2024-0, sob a supervisão de Carlo José Freire Oliveira.

CONFLITOS DE INTERESSE

Os autores declaram não haver conflitos de interesse.

REFERÊNCIAS

- ADAMSON, K. I.; SHERIDAN, E.; GRIERSON, A. J. Use of zebrafish models to investigate rare human disease. *Journal of medical genetics*, 55, n. 10, p. 641-649, 2018.
- ASSINGER, A.; SCHROTTMAIER, W. C.; SALZMANN, M.; RAYES, J. Platelets in sepsis: an update on experimental models and clinical data. *Frontiers in immunology*, 10, p. 1687, 2019.
- AVDESH, A.; CHEN, M.; MARTIN-IVERSON, M. T.; MONDAL, A. *et al.* Regular care and maintenance of a zebrafish (*Danio rerio*) laboratory: an introduction. *JoVE (Journal of Visualized Experiments)*, n. 69, p. e4196, 2012.
- BELONGIE, S.; BRANSON, K.; DOLLAR, P.; RABAUD, V., 2005, Monitoring animal behavior in the smart vivarium. Wageningen The Netherlands. 70-72.
- BROK, H. P.; BAUER, J.; JONKER, M.; BLEZER, E. *et al.* Non-human primate models of multiple sclerosis. *Immunological reviews*, 183, n. 1, p. 173-185, 2001.
- BURR, I. W. Statistical quality control methods. Routledge, 2018. 0203738527.
- CAO, Y.-C.; DENG, Q.-X.; DAI, S.-X. Remdesivir for severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 causing COVID-19: An evaluation of the evidence. *Travel medicine and infectious disease*, 35, p. 101647, 2020.
- CHATFIELD, K.; MORTON, D. The use of non-human primates in research. *In: Ethics Dumping: Springer, Cham*, 2018. p. 81-90.
- CHEN, C.; LU, J.; PENG, W.; MAK, M. S. *et al.* Acrolein, an endogenous aldehyde induces Alzheimer's disease-like pathologies in mice: A new sporadic AD animal model. *Pharmacological Research*, 175, p. 106003, 2022.
- CLEARY, S. J.; PITCHFORD, S. C.; AMISON, R. T.; CARRINGTON, R. *et al.* Animal models of mechanisms of SARS-CoV-2 infection and COVID-19 pathology. *British journal of pharmacology*, 177, n. 21, p. 4851-4865, 2020.
- COHEN, J. COVID-19 shot protects monkeys. *American Association for the Advancement of Science* 2020.
- DAOLAGUPU, D.; TALUKDAR, N. R.; CHOUDHURY, P. Ethnozoological use of primates in northeastern India. *Journal of Threatened Taxa*, 13, n. 11, p. 19492-19499, 2021.
- DAWSON, T. M.; GOLDE, T. E.; LAGIER-TOURENNE, C. Animal models of neurodegenerative diseases. *Nature neuroscience*, 21, n. 10, p. 1370-1379, 2018.
- FRANCO, N. H. Animal experiments in biomedical research: a historical perspective. *Animals*, 3, n. 1, p. 238-273, 2013.

GIRALT-LÓPEZ, A.; MOLINA-VAN DEN BOSCH, M.; VERGARA, A.; GARCÍA-CARRO, C. *et al.* Revisiting experimental models of diabetic nephropathy. *International Journal of Molecular Sciences*, 21, n. 10, p. 3587, 2020.

GURA, T. Systems for identifying new drugs are often faulty. *American Association for the Advancement of Science* 1997.

HERNÁNDEZ-CRUZ, G.; FERREIRA, R. G.; ROONEY, N. J.; GUIDI, R. D. S. *et al.* Haematology, physiological parameters, morphometry and parasitological status of rescued bearded capuchin monkeys (*Sapajus libidinosus*). *Journal of Medical Primatology*, 2022.

KEY, B.; DEVINE, C. A. Zebrafish as an experimental model: strategies for developmental and molecular neurobiology studies. *Methods in cell science*, 25, n. 1, p. 1-6, 2003.

KUMAR, V.; SINGH, C.; SINGH, A. Zebrafish an experimental model of Huntington's disease: Molecular aspects, therapeutic targets and current challenges. *Molecular Biology Reports*, 48, n. 12, p. 8181-8194, 2021.

LAFOLLETTE, H.; SHANKS, N. *Brute science: Dilemmas of animal experimentation*. Routledge, 2020. 1003060005.

LEE, S. Y.; KANG, J. H.; JEONG, J. W.; KIM, J. H. *et al.* Alternative experimental approaches to reduce animal use in biomedical studies. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, p. 103131, 2022.

LEWIS, D. I. Animal experimentation: implementation and application of the 3Rs. *Emerging Topics in Life Sciences*, 3, n. 6, p. 675-679, 2019.

LILLEY, E.; STANFORD, S. C.; KENDALL, D. E.; ALEXANDER, S. P. *et al.* ARRIVE 2.0 and the British Journal of Pharmacology: Updated guidance for 2020. *British journal of pharmacology*, 177, n. 16, p. 3611, 2020.

MARTIN, C. Experimental use of nonhuman primates is not a simple problem. *Nature Medicine*, 14, n. 10, p. 1011-1011, 2008.

MOVIA, D.; BRUNI-FAVIER, S.; PRINA-MELLO, A. In vitro alternatives to acute inhalation toxicity studies in animal models—a perspective. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 8, p. 549, 2020.

NIEDERER, S. A.; LUMENS, J.; TRAYANOVA, N. A. Computational models in cardiology. *Nature Reviews Cardiology*, 16, n. 2, p. 100-111, 2019.

NOVAK, M.; ŽEGURA, B.; MODIC, B.; HEATH, E. *et al.* Cytotoxicity and genotoxicity of anticancer drug residues and their mixtures in experimental model with zebrafish liver cells. *Science of The Total Environment*, 601, p. 293-300, 2017.

OLSSON, I. A. S.; NIELSEN, B. L.; CAMERLINK, I.; PONGRÁCZ, P. *et al.* An international perspective on ethics approval in animal behaviour and welfare research. *Applied Animal Behaviour Science*, p. 105658, 2022.

PONPORNPIKIT, A.; JONGJAROENJAI, M.; SUTHAMNATPONG, N.; BURUT-ARCHANAI, S. Application of a Single-Tank Sequencing Batch Reactor for Long-Term Zebrafish Care. *THAI JOURNAL OF VETERINARY MEDICINE*, 52, n. 3, p. 451-463, 2022.

RODRIGUES, W. F.; MIGUEL, C. B.; MARQUES, L. C.; DA COSTA, T. A. *et al.* Predicting Blood Parasite Load and Influence of Expression of iNOS on the Effect Size of Clinical Laboratory Parameters in Acute *Trypanosoma cruzi* Infection With Different Inoculum Concentrations in C57BL/6 Mice. *Frontiers in Immunology*, p. 1113, 2022.

SHOCHET, L.; HOLDSWORTH, S.; KITCHING, A. R. Animal models of ANCA associated vasculitis. *Frontiers in immunology*, 11, p. 525, 2020.

STIGLIC, G.; KOCBEK, P.; FIJACKO, N.; ZITNIK, M. *et al.* Interpretability of machine learning-based prediction models in healthcare. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Data Mining and Knowledge Discovery*, 10, n. 5, p. e1379, 2020.

SWEIS, B. M.; ABRAM, S. V.; SCHMIDT, B. J.; SEELAND, K. D. *et al.* Sensitivity to “sunk costs” in mice, rats, and humans. *Science*, 361, n. 6398, p. 178-181, 2018.

TANNENBAUM, J.; BENNETT, B. T. 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*, 54, n. 2, p. 120-132, 2015.

TSCHÖPE, C.; AMMIRATI, E.; BOZKURT, B.; CAFORIO, A. L. *et al.* Myocarditis and inflammatory cardiomyopathy: current evidence and future directions. *Nature reviews cardiology*, 18, n. 3, p. 169-193, 2021.

VASYUTINA, M.; ALIEVA, A.; REUTOVA, O.; BAKALEIKO, V. *et al.* The zebrafish model system for dyslipidemia and atherosclerosis research: Focus on environmental/exposome factors and genetic mechanisms. *Metabolism*, p. 155138, 2022.

WOODS, T. C.; SATOU, R.; MIYATA, K.; KATSURADA, A. *et al.* Canagliflozin prevents intrarenal angiotensinogen augmentation and mitigates kidney injury and hypertension in mouse model of type 2 diabetes mellitus. *American journal of nephrology*, 49, n. 4, p. 331-342, 2019.

YAMAMOTO, K. N.; NAKAMURA, A.; LIU, L. L.; STEIN, S. *et al.* Computational modeling of pancreatic cancer patients receiving FOLFIRINOX and gemcitabine-based therapies identifies optimum intervention strategies. *PloS one*, 14, n. 4, p. e0215409, 2019.