

Prospecção Tecnológica de Patentes do Uso do Zebrafish em Substituição aos Animais de Laboratório

Patent Landscape of the Use of Zebrafish as Replacement of Laboratory Animals

Christoph Schweitzer Milewski¹

Leila Costa Duarte Longa¹

Wanise Borges Gouvea Barroso¹

¹Instituto de Ciência e Tecnologia em Biomodelos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Resumo

O presente estudo verifica o potencial de utilização do zebrafish em substituição ao uso de outros animais de laboratório a partir da prospecção tecnológica de patentes. Esse biomodelo tem sido amplamente reconhecido em publicações como uma alternativa promissora em diversas áreas de pesquisa. O estudo foi realizado em 2023, em um período de duas décadas: 1) identificação de informações sobre zebrafish; 2) busca de patentes utilizando Questel e Cortellis plataformas; e 3) análise, compilação dos resultados e formulação de conclusões. A análise encontrou 1.681 famílias de patentes. Os resultados destacam que a utilização, a manutenção e a criação do zebrafish podem oferecer benefícios no desenvolvimento de pesquisas na área biomédica, quando comparados com outras opções de animais de laboratório, resultando em um custo-benefício mais favorável. O zebrafish possui semelhança genética de aproximadamente 70% com os seres humanos. O estudo evidencia a viabilidade do zebrafish em testes relacionados à pesquisa de forma concreta.

Palavras-chave: Zebrafish; Prospecção Tecnológica; Patente.

Abstract

The present study explores the potential use of zebrafish as a substitute for the use of other laboratory animals through technological patent prospecting. This biomodel has been widely recognized in publications as a promising alternative across several research areas. The study was carried out in July 2023, spanning two decades: 1) identification of zebrafish information; 2) patent search using Questel and Cortellis platforms; and 3) analysis, compilation of results, and formulation of conclusions. The analysis identified 1,681 patent families. The results emphasize that the use, maintenance, and breeding of zebrafish can offer benefits in the development of biomedical research compared to other laboratory animal options, resulting in a more favorable cost-benefit ratio. Zebrafish share genetic similarities of approximately 70% with humans. The study underscores the concrete viability of zebrafish in health research-related tests.

Keywords: Zebrafish; Landscape; Patent.

Área Tecnológica: Ciências Agrárias. Ciências Biológicas. Química.



1 Introdução

No Brasil, a Lei n. 11.794, de 8 de outubro de 2008, conhecida como Lei Arouca, estabelece procedimentos para o uso científico de animais, criou o Conselho Nacional de Controle e Experimentação Animal (Concea) e possui competência para formular e zelar pelo cumprimento das normas relativas à utilização humanitária de animais com finalidade de ensino e pesquisa científica, entre outras (Brasil, 2008).

As normas estabelecidas nas Resoluções Normativas do Concea incluem o princípio dos 3Rs (*Reduce, Refine and Replace*) que significa, em português, Redução, Refinamento e Substituição, visando: i) reduzir o número de animais necessários para a pesquisa biomédica; ii) aprimorar as técnicas para minimizar o estresse e sofrimento dos animais; e iii) substituir animais vivos por simulações ou culturas de células sempre que possível.

Em encontro nacional sobre metodologias e gestão de laboratórios, a Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa, 2015) esclareceu que o uso de modelos animais em pesquisas deve ser objeto de debate ético, com ampla discussão de utilização na avaliação da toxicidade de compostos, ao qual o zebrafish se adequaria.

Apesar de existir uma quantidade significativa de métodos alternativos ao uso de animais de laboratório disponíveis, a utilização de vertebrados ainda é imprescindível para algumas áreas da ciência devido à sua elevada complexidade biológica e semelhança relativa com os seres humanos.

Assim, um animal vertebrado ainda pouco conhecido que vem ganhando espaço nos estudos científicos é o zebrafish também conhecido como paulistinha. Esse biomodelo já é o segundo animal mais utilizado em experimentação em todo o mundo, e a utilização de seus embriões é considerada uma alternativa ao uso de outros animais (UFPB, 2020).

A utilização de peixes como modelo de estudo alternativo teve a sua disseminação desde o século XIX. Estudos científicos têm sido realizados com *Danio rerio* (zebrafish), além de outras espécies de peixes, como *Oryzias latipes*, *Rutilus rutilus*, *Gasterosteus aculeatus*, *Takifugu rubripese* *Xiphophorus hellerii*, na substituição de animais no campo das pesquisas. O zebrafish é nativo do sul da Ásia, originário das partes baixas dos principais rios da Índia, Bangladesh e Nepal (Kütter *et al.*, 2023).

O zebrafish vem sendo utilizado desde 1934, porém como substituição ao uso de outros animais de laboratório passou a ser popularizado a partir de 1981, quando foram descritos métodos utilizando a espécie para geração de mutações por meio de ginogênese que é forma de reprodução assexuada relacionada à partenogênese (o desenvolvimento de embriões sem fertilização) (Kütter *et al.*, 2023).

Trabalhos desenvolvidos com zebrafish ganharam consolidação como modelo biomédico no mundo em 1996, tendo 37 artigos publicados sobre *screening* genético de mais de quatro mil mutações identificadas.

Conhecido popularmente, no Brasil, como paulistinha, a espécie é cultivada em tanques/aquários de água doce. Apesar de seu porte pequeno, possui em torno de 70% de homologia genética e fisiológica com os seres humanos, apresentando vantagens do seu uso nas pesquisas, se comparado com o uso de camundongos e ratos em laboratórios (Amorim, 2017).

Diversas publicações mencionam o zebrafish, como modelo, em diversas modalidades de pesquisa como: biologia; farmacologia e toxicologia; ecotoxicologia; ciências veterinárias; biologia da evolução; nanotecnologia e nano medicina; doenças humanas; vacinação; segurança alimentar; entre outras possibilidades (Pereira *et al.*, 2022).

No Brasil, o zebrafish foi introduzido como biomodelo¹ a partir de 1999 em estudos nas áreas de: Neurociência e Comportamento; Farmacologia e Toxicologia e Meio Ambiente e Ecologia (Kütter *et al.*, 2023).

Vale ressaltar que o zebrafish vem sendo utilizado como modelo *in vivo* para o desenvolvimento de testes pré-clínicos na medicina personalizada e na nanomedicina, bem como na utilização em estudos com fungos e estudos moleculares.

O modelo também pode ser aplicado em patologias oculares, por exemplo, em: estudos referentes à degeneração macular devido à idade (DMRI), glaucoma, catarata, retinopatia diabética, entre outras doenças oculares (Perissinato, 2019).

Muitas são as vantagens como modelos de desenvolvimento e bioindicadores do uso do zebrafish em pesquisas descritas em publicações, a seguir foram listadas algumas:

1. facilidade de visualização dos embriões devido à transparência que apresentam, facilitando na identificação da escolha dos que se tornam mais aptos para pesquisa;
2. apresentação de alta taxa de reprodução e fertilização, possibilitando a expansão da população em criadouro;
3. identificação de desenvolvimento rápido no seu ciclo de vida na maturidade da espécie;
4. identificação de ciclo de vida curto, o que permite o controle da espécie para pesquisa;
5. apresentação de tamanho pequeno dos peixes, o que facilita a obtenção de maior condicionamento e maior população em reservatórios, bem como controle factível na alimentação da espécie;
6. baixo custo agregado para aquisição e manutenção da espécie;
7. fácil manutenção em condições laboratoriais;
8. facilidade de monitoramento de genoma sequenciado;
9. identificação de semelhança genética com os humanos; e
10. possibilidade de linhagens mutantes e transgênicas.

O zebrafish (*Danio rerio*) possui vantagens experimentais específicas em relação a outros modelos animais, como otimização em homologia genética, anatômica e fisiológica aos mamíferos, fertilização externa, elevado número de progênies, transparência das larvas, pequeno porte e rápido desenvolvimento. Devido a essas características, as abordagens fenotípicas em larga escala são facilitadas ao mesmo tempo que mantêm a capacidade de resposta aos princípios dos 3Rs. Assim, a utilização do modelo zebrafish comparativamente com outros animais demonstra indicadores potenciais, conforme mencionam Lee *et al.* (2017), sendo capaz de validar a adoção do zebrafish em pesquisas científicas. A comparação das características de biomodelos, amplamente utilizadas, pode ser observada no Quadro 1.

¹ Biomodelos animais permitem a avaliação de fenômenos biológicos naturais, induzidos ou comportamentais, que possam ser comparados aos fenômenos humanos em questão.

Quadro 1 – Comparação das características de biomodelos amplamente utilizados

	ZEBRAFISH	PRIMATA	ROEDOR	PINTINHO
Manipulação	Fácil	Difícil	Difícil	Moderado
Homologia genética	70%	96-98%	75%	62%
Rápido desenvolvimento	sim	não	não	sim
Transparência	sim	não	não	não
Número de embriões	100-600	1-2	~10	1-2
Modelos transgênicos	muitos	poucos	muitos	poucos
Custo de criação	barato	muito caro	caro	baratos

Fonte: Lee *et al.* (2017)

Destaca-se que a maior vantagem do uso do zebrafish na pesquisa consiste no custo de manutenção do zebrafish baixo frente ao uso de outros animais de laboratório.

O uso de animais em pesquisa científica é regulamentado por várias leis e normatizações em todo o mundo, incluindo aquelas relacionadas ao uso de zebrafish. Assim, a Instrução Normativa MAPA/SAP n. 10, de 17 de abril de 2020, estabelece normas, critérios e procedimentos para o comércio de espécies com fins de ornamentação e de aquarofilia no Brasil, abrindo um novo panorama para a atividade no país (Brasil, 2020).

A Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp, 2022) lançou um manual de criação de peixes e uma plataforma chamada Rede Zebrafish (Dammski; Müller; Gaya, 2011), desenvolvida pelo Centro de Toxinas, Resposta-Imune e Sinalização Celular (CeTICS). Essa plataforma é vinculada à Fapesp e inclui um guia que conta sobre os processos de manejo e de criação do modelo experimental de zebrafish. Segundo a Fapesp (2022), o objetivo inicial do guia consiste em disponibilizar a história para os membros da Rede Zebrafish e, posteriormente, divulgá-lo para os alunos dos cursos e oficinas da plataforma.

O Instituto Butantan também possui uma estrutura de pesquisa com zebrafish, localizada no Laboratório Especial de Toxinologia Aplicada (LETA), que faz parte do CeTICS (Laboratório de Proteômica, 2023).

A empresa brasileira Alesco é parceira da Rede Zebrafish (2023) e possui a expectativa de contribuir na realização de iniciativas importantes, como a Rede Zebrafish, que foi estabelecida em novembro de 2016 e pretende promover a comunicação, a integração e a colaboração. A Alesco atua como uma ponte entre os profissionais que trabalham com o zebrafish, participando de uma mudança fundamental no Brasil com impactos positivos para a sociedade, a ciência e a tecnologia nacionais.

De acordo com Alencar *et al.* (2015), as patentes são um tipo de documento que possuem uma elevada padronização, fornecendo campos que possibilitam a análise estratégica de informações sobre as tecnologias patenteadas. Santos e Antunes (2008) descrevem que a patente compreende um dos mais importantes indicadores para medir o crescimento de determinada área tecnológica.

A base de dados Questel Orbit Intelligence foi desenvolvida especificamente com informações de famílias de patentes; possui informações de cerca 250 escritórios de patentes, *design* e

marcas comerciais; na realização de busca são utilizados operadores booleanos, bem como as opções de busca utilizando truncagem e proximidade (Questel Orbit, 2023). A Questel Orbit Intelligence possibilita a busca e fornece como resultados o *status* legal, reivindicações e família de patentes; disponibiliza o histórico automático da busca realizada; permite várias formas de exportação dos resultados nos formatos TXT, XLS, PDF, VPT etc.; além disso, possibilita o refinamento dos resultados da busca de forma facilitada (Questel Orbit, 2023; Longa, 2022).

A base de dados comercial Cortellis Competitive Intelligence (Cortellis) (Cortellis Drugs, 2023), produzida pela empresa Clarivate, possui informações de fármacos, biológicos, estudos em fase pré-clínica, protegidos ou não por patentes. Nela encontram-se disponibilizadas informações de 700.000 moléculas, com informações baseadas em produtos.

O objetivo do presente estudo é verificar a possibilidade de utilização do zebrafish em substituição ao uso de outros animais de laboratório a partir da prospecção tecnológica de patentes. Analisou-se, no estudo, os países, os autores, as instituições, as empresas e as tecnologias que estão utilizando o zebrafish como modelo animal em testes pré-clínicos, possibilitando traçar estratégias para acelerar a implantação dos testes *in vivo* em pesquisas na área biomédica.

2 Metodologia

O presente estudo de prospecção tecnológica referente ao zebrafish foi realizado em três etapas principais, que foram:

1^a) Identificação das informações gerais sobre zebrafish.

Realizou-se busca no Google Acadêmico, Web of Science, Arca Fiocruz e Google para a recuperação de teses, artigos científicos, notícias, *websites*, entre outros documentos e informações, referentes ao zebrafish, de modo a compreender esse biomodelo e seu uso, bem como a identificação de instituições, empresas, legislações, guias, redes, plataformas, etc. Na realização da busca, utilizou-se as palavras-chave: zebrafish, “peixe-zebra” e paulistinha. Não se utilizou o nome científico na busca, uma vez que, para a utilização em testes pré-clínicos, os nomes citados como palavras-chave são os empregados. Após o resultado da busca, selecionou-se os documentos referentes a modelos animais, testes, revisões, etc. sobre o tema.

2^a) Realização de busca de patente.

A busca de patentes referente à tecnologia empregando o zebrafish foi realizada nos sistemas Questel Orbit Intelligence, aqui denominado simplesmente Orbit, e Cortellis.

No Orbit realizou-se a busca nos campos de título (TI), resumo (AB), objeto da patente (OBJ), vantagens sobre arte prévia (ADB), Reivindicações independentes (ICLM) empregando-se as palavras-chave *health*, *research*, *disease*, *zebra fish*, *dario rerio* e *zebrafish*, conforme estratégia de busca a seguir:

((HEALTH)/TI/AB/OBJ/ADB/ICLM OR (RESEARCH)/TI/AB/OBJ/ADB/ICLM OR (DISEASE)/TI/AB/OBJ/ADB/ICLM) AND ((ZEBRA FISH) /TI/AB/OBJ/ADB/ICLM OR (DARIO RERIO) /TI/AB/OBJ/ADB/ICLM) AND (ZEBRAFISH) /TI/AB/OBJ/ADB/ICLM))

Para o sistema Cortellis, utilizou-se a seguinte estratégia:

((ZEBRAFISH) All/DRUGS & BIOLOGICS AND GENES & TARGETS AND ORGANIC SYNTHESIS AND EXPERIMENTAL PHARMACOLOGY AND EXPERIMENTAL MODELS AND PHARMACOKINETICS AND DRUG METABOLISM AND CLINICAL STUDIES AND ORGANIZATIONS AND LITERATURE AND PATENTS AND DISEASE BRIEFINGS AND BIOMARKERS/USES))

3ª) Análise, elaboração dos resultados e das considerações finais.

Por fim, analisou-se todas as informações e patentes encontradas na busca, as quais se encontram descritas no item de resultados.

Destaca-se que as buscas foram realizadas considerando-se o período de 20 anos, ou seja, de 2003 a 2023, e foram realizadas no mês de julho de 2023.

3 Resultados e Discussão

Realizou-se a prospecção tecnológica de patentes para o biomodelo zebrafish com o propósito de viabilizar a integração da pesquisa científica aplicada às necessidades do mercado, identificando as tecnologias de zebrafish que foram desenvolvidas com o propósito de serem comercializadas, alcançando-se, assim, resultados mais promissores e mais rápidos na pesquisa *in vivo*.

Após a busca de patentes no Orbit, identificou-se um total de 1.681 famílias de patentes depositadas em diversos países que empregam o zebrafish como um componente fundamental em pesquisas resultantes de inovações tecnológicas.

Na análise do total de famílias de patentes de zebrafish, foi possível refinar o resultado da busca, considerando-se apenas aquelas famílias que possuíam conteúdo pertinente à utilização do zebrafish como modelo animal, e encontrou-se como resultado 1.188 famílias, que, em princípio, iriam ser a base para a realização do presente estudo, mas optou-se em utilizar no estudo o total dos 1.681 documentos, uma vez que essa análise é inicial e, por isso, pretende-se analisar todos os documentos dessa matéria.

Inicialmente, analisou-se o *status* das patentes, verificou-se que, por meio da informação da base de dados, um total de 700 famílias as quais já se encontravam patenteadas e cerca de 488 possuem o *status* de “em fase de exame”. Segundo os resultados do Orbit, o *status* da família de patentes compreende: 44,68% concedidas; 24,87% pendentes de decisão; 10,95% revogados e 18,86% em caducidade. Essa informação permite identificar o percentual das famílias de patentes que foram concedidas, as que estão em domínio público (caducadas ou expiradas) e as que estão em fase de exame.

3.1 Análise do Depósito de Pedidos de Patente

A Tabela 1 representa a quantidade de depósitos de pedidos de patente que utilizam o zebrafish como modelo animal nos testes pré-clínicos, nos últimos 20 anos. Verifica-se que a

quantidade de depósito de patentes de 2003 a 2010 (oito anos) foi de 115 documentos, essa pequena quantidade de depósitos era esperada, pois a utilização de zebrafish passou a ser popularizada a partir de 1981. Entretanto, nos últimos oito anos (de 2016 a 2023), o número de depósitos começou a crescer de forma significativa, com um total de 1.296 famílias de patentes; assim, constata-se que os testes pré-clínicos da área biomédica passaram a utilizar o zebrafish, em mais vezes, propiciando inovações e reduzindo a utilização de cobaias.

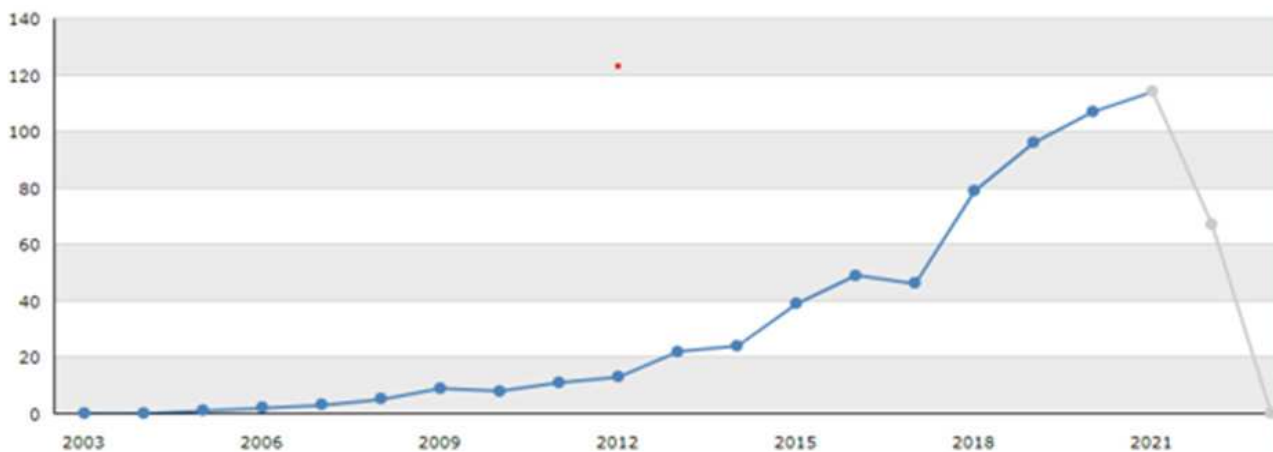
Tabela 1 – Quantidade de depósitos de famílias de patentes por período

ANO	NÚMERO DE FAMÍLIA DE PATENTES
2023-2020	554
2016-2020	742
2011-2015	247
2006-2010	78
Antes de 2006	37

Fonte: Elaborada pelos autores deste artigo a partir de busca no Questel Orbit (2023)

O Gráfico 1 representa o crescimento do número de depósitos de patente que empregam o zebrafish nos últimos 20 anos, mostrando que a utilização e a confiabilidade do zebrafish na pesquisa tem alcançado resultados promissores, e seu uso na pesquisa tem sido difundido e protegido por patentes. Assim, considera-se que a tendência do número de depósito de pedidos é aumentar devido à adoção de uma maior utilização do zebrafish nas pesquisas biomédicas.

Gráfico 1 – Número de depósito de pedidos de patente do uso de zebrafish nos últimos 20 anos



Fonte: Elaborado pelos autores deste artigo a partir de busca no Questel Orbit (2023)

3.2 Top 10 Países que Depositam Pedidos de Patentes de Zebrafish

O número de patentes é utilizado para medir o progresso tecnológico dos países, por isso, é considerado um excelente indicador, pois representa de forma concreta a criação e a difusão do conhecimento tecnológico.

Portanto, é de extrema relevância para o tomador de decisão identificar os Top 10 mercados/países que receberam pedidos de patente que utilizam a tecnologia do zebrafish. Ao apresentar o *Mapa-Múndi*, foram considerados todos os depósitos de pedidos de patentes envolvendo o zebrafish, não apenas os de biomodelos para visualizar amplo mercado utilizando zebrafish nas proteções por patente. Dessa forma, a Figura 1 representa o *ranking* dos depósitos de família de patentes nos países, mostrando se existe ou não inovações nessa área tecnológica, assim, observa-se que a China é líder nessa área, pois possui um total de 1.141 famílias de patentes, seguida pelos Estados Unidos (41), Europa (36), Japão (24), Coreia do Sul (21), Índia (16), França (13), Reino Unido (13) e Alemanha (12). O Brasil não está representado no *ranking*, uma vez que a quantidade de famílias não foi suficiente para ser representada no mapa.

Assim, a Figura 1 comprova que a China é responsável pela maior quantidade de depósitos de pedidos de patentes, pois encontra-se marcada com a cor azul-marinho, fazendo com que se destaque em relação ao restante do mundo. Os países que receberam uma menor quantidade de pedidos foram pintados com azul céu, ou seja, EUA, Canadá, Rússia, Austrália, África do Sul, Índia, Japão e Países da Europa, e os demais na cor cinza não receberam pedidos de patente que tratam de zebrafish em quantidade suficiente para serem representados no mapa.

Portanto, o mercado chinês destaca-se intensamente na utilização de zebrafish, com isso mantendo-se na liderança em relação aos outros países devido à quantidade de depósitos de pedidos.

Figura 1 – Top 10 países que receberam depósitos de pedidos de patente com a tecnologia do zebrafish



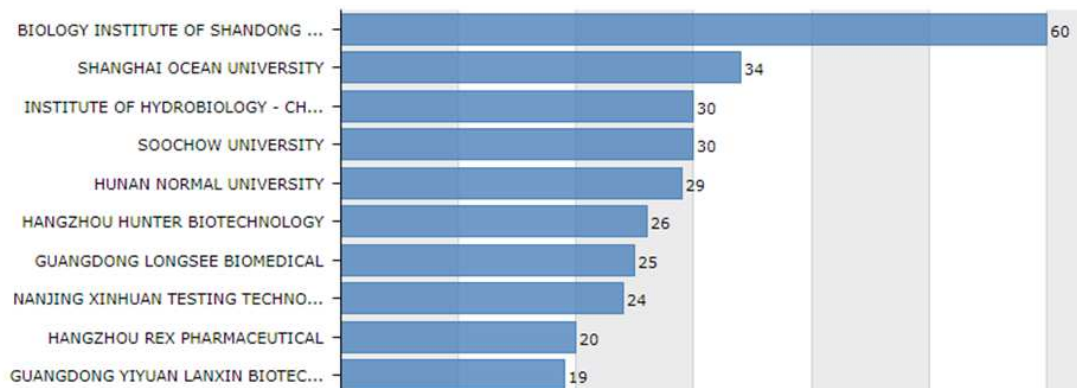
Fonte: Elaborada pelos autores deste artigo a partir de busca no Questel Orbit (2023)

3.3 Top 10 Depositantes de Patentes que Utilizam Zebrafish

É de extrema relevância identificar os Top 10 depositantes de patentes no mundo, de modo a identificar aqueles que detêm a *expertise* de determinada tecnologia. Assim, o Gráfico 2 representa os Top 10 depositantes e a respectiva quantidade de pedidos depositados sobre a temática.

Observa-se que os principais depositantes compreendem institutos de pesquisas e universidades. O depositante que se destaca, entre os Top 10, trata do Biology Institute of Shandong Academy of Sciences (Bisas) com 60 depósitos. A quantidade de depósitos do principal depositante é praticamente o dobro de cada um dos depositantes do segundo ao oitavo lugar do ranking, e o triplo do nono ao 10º lugar, o que demonstra sua relevância como *player* em pesquisa e desenvolvimento em zebrafish.

Gráfico 2 – Top 10 *players*/depositantes de patentes que utilizam zebrafish no mundo



Fonte: Elaborado pelos autores deste artigo a partir de busca no Questel Orbit (2023)

A Diretoria de P&D do Bisas se subdivide em Bioquímica Analítica (Bisas, 2023a); Triagem de drogas; Biotecnologia Alimentar e Microbiologia Aplicada. A partir de uma das fotos do instituto Bisas, Figura 2, é possível observar o cultivo de zebrafish. Verifica-se que o instituto possui uma plataforma de zebrafish robusta e, por isso, eles têm a preocupação de depositar diversos pedidos de patente para proteger as invenções.

Figura 2 – Tecnologia do zebrafish da empresa Biology Institute of Shandong Academy of Sciences



Fonte: Bisas (2023b)

Este estudo pode ser aprofundado futuramente, já que todos os depositantes de zebrafish podem ser estudados de modo a se buscar aquela tecnologia de maior interesse a ser utilizada no Brasil, uma vez que não existe expressão de depósitos nessa área no país.

3.4 Oposições Envolvendo Zebrafish

A partir da análise dos documentos encontrados na busca no Orbit, identificou-se três oposições apresentadas em pedidos de patente, duas em pedidos depositados na China (CN) e uma no Escritório Europeu de Patentes (EPO).

Os pedidos de patente para os quais foram apresentadas oposições compreendem:

- a) CN101584307 (data de depósito 12/06/2009; titular: Beijing Esen Technology Development CO., LTD) – trata de uma caixa multifuncional para a purificação da qualidade da água em zebrafish e um sistema de reprodução e desenvolvimento de animais modelo.
- b) CN201467813 (data de depósito 12/06/2009; titular: Beijing Aisheng Technology Development CO., LTD) – compreende o cultivo e a coleta de ovos de peixe utilizados em pesquisas com zebrafish, bem como um sistema de cultivo e desenvolvimento de animais modelo.

A partir das bases de dados consultadas não é possível informar se as tecnologias dos documentos CN101584307 e CN201467813 encontram-se em domínio público.

- c) EP2104733 (data de depósito 13/12/2007; titular: Novartis AG) – se refere a composições e métodos para o tratamento de distúrbios musculares e cardiovasculares, em que a injeção de um inibidor específico em ovos fertilizados de zebrafish resulta em uma drástica redução da função cardíaca. Destaca-se que não foi concedida patente a esse pedido, ela se encontra em domínio público, assim a invenção descrita no pedido pode ser usada, produzida e comercializada por terceiros interessados.

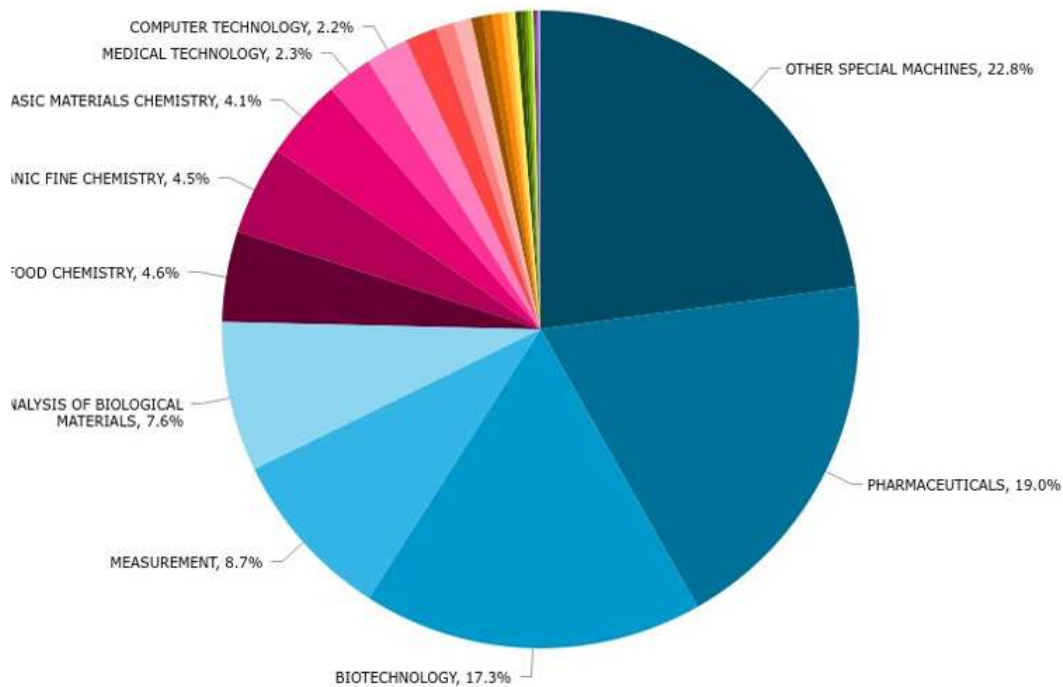
3.5 Top 10 de Domínio Tecnológico

Ao explorar o portfólio dos documentos relacionados ao zebrafish e examinar suas classificações quanto aos segmentos tecnológicos, é possível identificar a amplitude ou a especificidade dos pedidos de patentes depositados. O Gráfico 3 mostra o domínio tecnológico das invenções descritas nos pedidos de patente. Importante destacar que as categorizações por domínio tecnológico são baseadas em agrupamentos de códigos da International Patent Classification (IPC), pois é a forma de se classificar as patentes nas diversas áreas tecnológicas.

A partir do Gráfico 3, em formato de pizza, verifica-se que 22,8% das patentes foram agrupadas na fatia denominada de “outros”, ou seja, abrangem diversas áreas tecnológicas que não

foram destacadas no gráfico. As áreas com maior quantidade de depósitos compreendem a Farmacêutica e a de Biotecnologia, com 19% e 17,3%, respectivamente, de famílias de patentes.

Gráfico 3 – Percentual de patentes por domínio tecnológico



Fonte: Elaborado pelos autores deste artigo a partir de busca no Questel Orbit (2023)

Outras áreas que utilizam o zebrafish e que merecem destaque são: medida (8,7% das patentes, análise de materiais biológicos (7,6%), química alimentar (4,6%), química fina orgânica (4,6%). Verifica-se que em inovações relacionadas ao zebrafish também podem ser encontradas na área de tecnologia computacional com 2,2% de pedidos, provavelmente devem estar utilizando Inteligência Artificial (IA). Um estudo detalhado dessas patentes pode ser realizado futuramente, considerando que a IA possibilita agilidade e avanço nas pesquisas.

3.6 Principais Tecnologias

A partir da busca no Orbit, identificou-se que as principais tecnologias que utilizam zebrafish são das áreas de engenharia química, tecnologia médica, química alimentar, química básica de materiais, química fina orgânica, análise de materiais biológicos, medição e biotecnologia, conforme descritas no Quadro 1.

Alguns exemplos de aplicações da área biomédica que utilizam o zebrafish encontram-se listadas no Quadro 1. Verifica-se que as áreas tecnológicas abrangem vários escopos para aplicação de produtos, contudo são necessários estudos mais aprofundados para identificar com maior propriedade aplicabilidades em vacinas, diagnósticos, doenças emergenciais, entre outras

possibilidades para realização de testes, que sejam de interesse de entidades governamentais no país.

Quadro 1 – Principais tecnologias que utilizam testes com o zebrafish

ÁREAS TECNOLÓGICAS	APLICAÇÕES INDUSTRIAIS
Engenharia química	Medicamento contém o andrographolide
Tecnologia médica	Método para modular células tronco
	Dispositivos de fibra óptica para analisar frequência cardíaca
	Dispositivo de fixação de anestesia para sistema de imagem
Química alimentar	Método para produzir uma planta transgênica ou uma célula vegetal transgênica capaz de adicionar resíduos de galactose
	Método para melhorar imunidade
Química básica de materiais	Método de crescimento de célula tronco
	Diagnóstico e terapias de tumores
	Composto fluorescente para detecção de câncer cervical
Química fina orgânica	Confecção de peixe transgênico
	Kit de diagnóstico e chip para câncer de bexiga
	Composto antiosteoporose
Análise de materiais biológicos	Previsão de toxicidade de produtos farmacêuticos usando células tronco
	Peixes transgênicos e seus usos
	Método para avaliar valor nutricional referente a ativos antifadiga de origem alimentar
Medição	Previsão de toxicidade de produtos farmacêuticos
Biotecnologia	Terapia médica para o tratamento de cegueira parcial ou total
	Métodos compostos para testes em células tronco
	Composto com um efeito antiosteoporose

Fonte: Elaborado pelos autores deste artigo a partir de busca no Questel Orbit (2023)

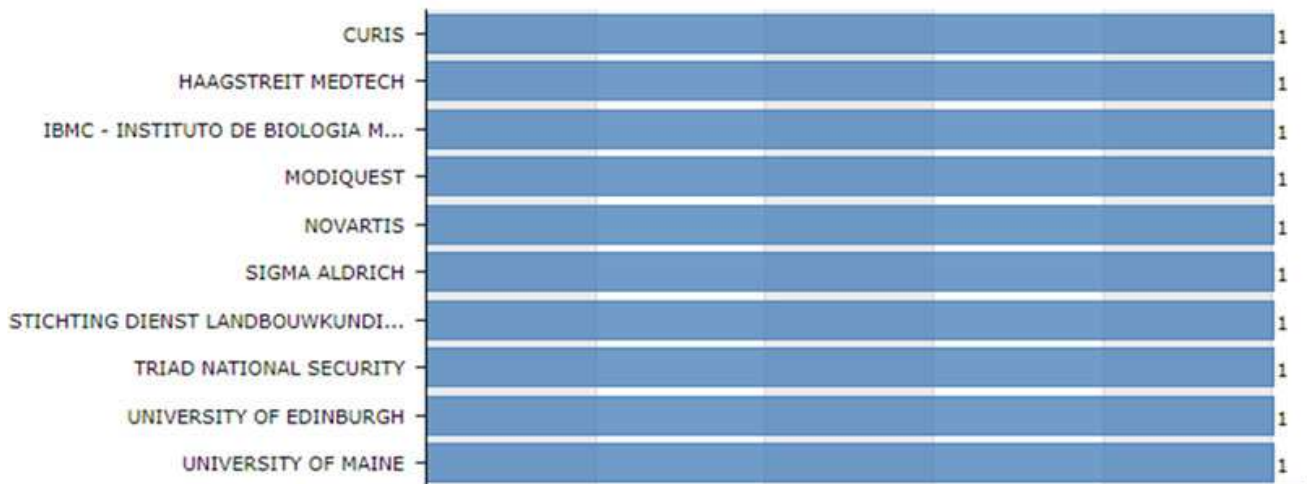
3.7 Top 10 Depositantes de Patentes que Utilizam Zebrafish no Brasil

No Orbit, ao delimitar, no campo de Número, o país de depósito como Brasil (BR), pode-se identificar as organizações que solicitaram proteção da tecnologia no país. Assim, o Gráfico 4, o qual foi gerado pela própria ferramenta, mostra os Top 10 depositantes de patentes que solicitaram proteção de tecnologias relacionadas ao zebrafish no Brasil. Observa-se que cada um dos depositantes possui apenas um depósito, sendo a maioria de empresas estrangeiras visando comercializar a tecnologia ou impedir a entrada de concorrentes no mercado brasileiro, são eles: Curis, Haagstreit Medtech, IBMC, Modiquest, Novartis, Sigma Adrich, Stichting Dienst, Triad National Security, University of Edinburgh e University of Maine.

Apesar de cada um dos depositantes possuir apenas um pedido de patente, verifica-se que esse dado compreende apenas o começo da P&D e esses podem abrir espaço para outras empresas. Contudo, não se verificou nenhum depósito de pedido de patente de empresas nacionais.

O Gráfico 4 apresenta a lista de titulares e dos seus principais cotitulares de patentes, que investem em tecnologias que utilizam o zebrafish.

Gráfico 4 – Top 10 *players*/depositantes de patentes que utilizam zebrafish no Brasil



Fonte: Elaborado pelos autores deste artigo a partir de busca no Questel Orbit (2023)

3.8 Pesquisas de Produtos que Utilizam Testes com Zebrafish

A realização de busca no Cortellis possibilitou identificar a quantidade de produtos que utilizam testes com zebrafish. Os dados indicam a existência de um produto referente a medicamento e produto biológico; 1.119 produtos de genes e alvos; 1.584 testes em farmacologia experimental; 3.311 produtos em modelos experimentais; 6.688 publicações; 570 patentes e 29 produtos referentes a biomarcadores com seus respectivos usos.

O Gráfico 5 mostra a quantidade de pesquisas de produtos a partir dos testes de zebrafish e as respectivas doenças. Os principais produtos desenvolvidos visam o tratamento das seguintes doenças: síndromes e doenças neurológicas (170 produtos desenvolvidos para cada doença); infecções (125); doenças cardíacas (105) e câncer (93).

A quantidade de pesquisas para as demais doenças não são tão relevantes, mas mostram que o zebrafish pode ter diversas aplicações, são elas: doenças congênitas (72); distúrbios dermatológicos (49); transtorno de ansiedade (36); epilepsia (35); transtorno do aspecto do autismo (23); diabete (21); distúrbio de hematopoiese (20); cardiotoxicidade (19); insuficiência

da medula óssea (19); embriotoxicidade (18); esclerose lateral amiotrófica (17); demência, tipo Alzheimer (16); distúrbios oculares (15) e anomalias craniofaciais (11).

Estas variantes são significativas na comprovação de que os testes com método alternativo zebrafish vêm sendo empregado para desenvolvimento dos produtos na área da saúde.

Gráfico 5 – Pesquisas de produtos que mais utilizaram zebrafish em experimentos



Fonte: Elaborado pelos autores deste artigo a partir de busca no Cortellis Drugs (2023)

4 Considerações Finais

Os dados encontrados permitem afirmar que se deve propor a utilização do zebrafish em testes pré-clínicos da área biomédica em institutos de pesquisa e universidades no Brasil, uma vez que a análise dos depósitos de pedidos de patente mostra que, ao se considerar o panorama de depósitos no mundo, no período de 20 anos, houve um aumento de cerca de quatro vezes nos últimos oito anos, quando comparado com os 12 anos anteriores. Assim, a partir do aumento dos depósitos, observa-se que as pesquisas vêm identificando várias vantagens de utilização de zebrafish em substituição ao uso de outros animais de laboratório na área biomédica.

O presente estudo possibilitou identificar que a utilização de zebrafish, em substituição ao uso de outros animais de laboratório, vem sendo empregado em várias pesquisas biomédicas, principalmente em testes pré-clínicos para o desenvolvimento de insumos farmacêuticos ativos,

medicamentos, diagnósticos, e na identificação de câncer, doenças oftalmológicas, doenças relacionadas ao sistema nevoso, e em diversos distúrbios patológicos.

A China se destaca por possuir uma quantidade significativa de inovações que utilizam o zebrafish, assim, essas tecnologias podem servir de base para as pesquisas no país de modo que possa ser utilizada mais amplamente e colocar-se em prática o princípio dos 3Rs.

Ao analisar-se cada um dos documentos de família de patentes, observou-se que essas famílias continham informações pertinentes à aplicação do zebrafish no desenvolvimento de composições farmacêuticas, métodos de preparação de medicamentos, produção de equipamentos de saúde e como modelo *in vivo* na pesquisa em substituição a outros animais de laboratório.

Entre as inovações de zebrafish encontradas, destaca-se a criação de mutações, formulações e aplicações de extratos, procedimentos relacionados a aplicações genéticas, avaliações de toxicidade, desenvolvimento de compostos antitumorais, criação de sondas, identificação de diagnósticos para diversas doenças, entre outras aplicações. Todas essas possibilidades reforçam a validade e a relevância do uso do zebrafish como um elemento-chave na promoção de pesquisas protegidas por patentes.

5 Perspectivas Futuras

No Brasil foram identificados os Top 10 depositantes de pedidos de patente, e esses são estrangeiros. Assim, o Brasil deveria estabelecer políticas públicas, talvez a partir do Concea, que incentivassem a utilização de zebrafish em pesquisas da área biomédica, possibilitando a internalização da tecnologia no país, criação de empregos e redução do uso de animais.

A manutenção e criação de zebrafish possui custo e benefício bem inferior em pesquisas que os animais de laboratório, assim, devem ser incentivados o uso do zebrafish em pesquisas na área biomédica no país.

Apesar de existirem ações nacionais empregando-se o zebrafish nas pesquisas, como em dados da Fapesp, Instituto Butantan e Alesco, essas instituições não foram identificadas na busca patentes da área biomédica que utilizam o zebrafish nas pesquisas, portanto, deve haver incentivos e promoções ao patenteamento de invenções que estejam relacionadas à utilização do zebrafish na substituição de animais em pesquisas clínicas.

Referências

ALENCAR, M. S. M. *et al.* Prospecção tecnológica de patentes referente à *staphylococcus aureus* resistente à meticilina. **Cadernos de Prospecção**, Salvador, v. 8, n. 2, p. 319-330, abr.-jun., 2015. DOI: <https://doi.org/10.9771/s.cprosp.2015.008.036>.

AMORIM, R. R. **Efeitos do álcool e do enriquecimento ambiental na aprendizagem e no comportamento tipo ansioso em peixe paulistinha**. 2017. 81p. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Biociências, Natal, 2017.

BISAS. **Biology Institute of Shandong Academy of Sciences**. [2023a]. Disponível em: <http://www.sdbiology.com/en/>. Acesso em: 2 jul. 2023.

BISAS – BIOLOGY INSTITUTE OF SHANDONG ACADEMY OF SCIENCES. **Casa de peixe zebrafish**. [2023b]. Disponível em: <http://www.sdbiology.com/yanjiusuofengcai/20210121/2466.html>. Acesso em: 30 set. 2023.

BRASIL. **Lei n. 11.794, de 8 de outubro de 2008**. Regulamenta o inciso VII do § 1º do art. 225 da Constituição Federal, estabelecendo procedimentos para o uso científico de animais; revoga a Lei n. 6.638, de 8 de maio de 1979; e dá outras providências.

BRASIL. **Instrução Normativa n. 10, de 17 de abril de 2020**. Estabelece no âmbito do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento normas, critérios e padrões para o uso sustentável de peixes nativos de águas continentais, marinhas e estuarinas, com finalidade ornamental e de aquarioria. Brasília, DF: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento; Secretaria de Aquicultura e Pesca, 2020.

CANEDO, Aryelle *et al.* Zebrafish (*Danio rerio*) meets bioethics: the 10Rs ethical principles in research. **Ciência Animal Brasileira**, [s.l.], v. 23, p. e-70884, 2022.

CORTELLIS DRUGS. **Página oficial**. 2023. Disponível em: <https://clarivate.com/products/cortellis-family/>. Acesso em: 2 jul. 2023.

DE CASTRO, V. L. S. S. *et al.* A implantação de métodos alternativos ao uso de animais: estudos com zebrafish na Embrapa Meio Ambiente. In: XIX ENCONTRO NACIONAL SOBRE METODOLOGIAS E GESTÃO DE LABORATÓRIOS DA EMBRAPA. VI SIMPÓSIO SOBRE PROCEDIMENTOS ANALÍTICOS E A RASTREABILIDADE DOS RESULTADOS NA AGROPECUÁRIA, Fortaleza, CE, 2014. **Resumos**, Fortaleza, CE, 2014.

DAMMSKI, Ana Paula; MÜLLER, Bruno Roberto; GAYA, Carolina. **Manual de Criação em Biotério**. [S.l.: s.n.], 2011.

EMBRAPA – EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. **I Encontro de Ecotoxicologia e Ética em Experimentação Animal Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária**. [S.l.]: Embrapa, 2015.

FAPESP – FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO. **Plataforma Zebrafish é inaugurada no Instituto Butantan**. 2022. Disponível em: <https://agencia.fapesp.br/plataforma-zebrafish-e-inaugurada-no-instituto-butantan/22071>. Acesso em: 2 jul. 2023.

FUKUSHIMA, Hirla *et al.* Potenciais usos do modelo animal Zebrafish *Danio rerio* em pesquisas na Medicina Veterinária. **Revista de Educação Continuada em Medicina Veterinária e Zootecnia do CRMV-SP**, São Paulo, v. 18, n. 1, 2020.

INSTITUTO BUTANTAN. **Plataforma Zebrafish**. 2023. Disponível em: <https://www.wgproduto.com.br/zebrafish>. Acesso em: 2 jul. 2023.

KÜTTER, Mateus Tavares *et al.* Boas práticas na criação e manutenção de zebrafish (*Danio rerio*) em laboratório no Brasil. **Ciência Animal Brasileira**, [s.l.], v. 24, 2023.

LABORATÓRIO DE PROTEÔMICA. 2023. Disponível em: <https://www.cetics.com.br/plataformas/proteomica/>. Acesso em: 30 set. 2023

LEE, K. Y. *et al.* Zebrafish models for functional and toxicological screening of nanoscale drug delivery systems: promoting preclinical applications. **Bioscience Reports**, [s.l.], v. 37, n. 3, p. SR20170199, 2017.

LONGA, L. C. D. **Estudos prospectivos como estratégia para subsidiar tomada de decisão em projetos de pesquisa e desenvolvimento na Fiocruz.** 2022. 214p. Tese (Doutorado em Propriedade Intelectual e Inovação) – Academia de Propriedade Intelectual Inovação e Desenvolvimento, Divisão de Programas de Pós-Graduação e Pesquisa, Instituto Nacional da Propriedade Industrial, Rio de Janeiro, 2022.

PEREIRA, A. C. *et al.* **O peixe-zebra (Danio rerio) encontra a bioética:** os princípios éticos dos 10Rs na pesquisa. [S.l.: s.n.], 2022.

PERISSINATO, Aline Gravinez. **Desenvolvimento de nanoemulsões biocompatíveis como sistema de liberação intraocular do celecoxibe.** 2019. 129p. Tese (Doutorado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Faculdade de Ciências Farmacêuticas, São Paulo, 2019.

QUESTEL ORBIT. IP Intelligence Software. **Powerful Patent Searching & Analysis.** [2023]. Disponível em: <https://www.questel.com/patent/ip-intelligence-software/orbit-intelligence/>. Acesso em: 2 jul. 2023.

REDE ZEBRAFISH. **Página oficial.** 2023. Disponível em: <https://www.redezebrafish.com.br/parceiros>. Acesso em: 30 set. 2023.

SANTOS, A.; ANTUNES, A. M. S. Uso de patentes como fonte de informação tecnológica. In: ANTUNES, A. M. S.; MAGALHÃES, J. L. **Patenteamento & Prospecção Tecnológica no setor farmacêutico.** Rio de Janeiro: Interciência, 2008.

SIMONETTI, Rajla Bressan. **Zebrafish (Danio rerio):** futuro do modelo animal em pesquisa biomédica. 2014. 100p. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Faculdade de Veterinária, Porto Alegre, 2014.

UFPB – UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA. **Pesquisadores da UFPB substituem ratos por peixes-zebra em experimentos.** 2020. Disponível em: <https://www.ufpb.br/ufpb/contents/noticias/pesquisadores-da-ufpb-substituem-ratos-por-peixes-zebra-em-experimentos>. Acesso em: 10 ago. 2023.

ZIRC – ZEBRAFISH INTERNATIONAL RESOURCE CENTER. **University of Oregon.** [2023]. Disponível em: <http://zebrafish.org/zirc/home/guide.php>. Acesso em: 2 jul. 2023.

Sobre os Autores

Christoph Schweitzer Milewski

E-mail: christoph.milewski@fiocruz.br

ORCID: <https://orcid.org/0009-0006-0761-8657>

Mestre em Justiça Administrativa pela Universidade Federal Fluminense em 2014.

Endereço profissional: Avenida Brasil, n. 4.365 Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ. CEP: 21040-900.

Leila Costa Duarte Longa

E-mail: leila.longa@fiocruz.br

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-1335-5922>

Doutora em Propriedade Intelectual e Inovação pelo Instituto Nacional da Propriedade Industrial em 2022.

Endereço profissional: Avenida Brasil, n. 4.365 Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ. CEP: 21040-900.

Wanise Borges Gouvea Barroso

E-mail: wanise.barroso@fiocruz.br

ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-7775-8640>

Doutora em Ciência da Informação e Comunicação pela Université de Toulon et du Var, França, em 2003.

Endereço profissional: Avenida Brasil, n. 4.365 Manguinhos, Rio de Janeiro, RJ. CEP: 21040-900.