

**UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS ANIMAL**

JOSÉ ANCHIETA DE BRITO

**ANÁLISE BIOQUÍMICA DE HUMOR VÍTREO DE OVINOS COMO
FERRAMENTA PARA ESTIMAR TEMPO DE MORTE**

RECIFE

2015

JOSÉ ANCHIETA DE BRITO

**ANÁLISE BIOQUÍMICA DE HUMOR VÍTREO DE OVINOS COMO
FERRAMENTA PARA ESTIMAR TEMPO DE MORTE**

RECIFE

2015

JOSÉ ANCHIETA DE BRITO

**ANÁLISE BIOQUÍMICA DE HUMOR VÍTREO DE OVINOS COMO
FERRAMENTA PARA ESTIMAR TEMPO DE MORTE**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências Animal da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Biociências Animal.

Área de concentração: Morfofisiologia Animal

Orientador: Prof. Dr. Fabrício Bezerra de Sá

RECIFE

2015

Ficha catalográfica

B862a Brito, José Anchieta de
Análise bioquímica de humor vítreo de ovinos como
ferramenta para estimar de morte / José Anchieta de Brito. –
Recife, 2015.
95 f.: il.

Orientador: Fabrício Bezerra de Sá.
Tese (Doutorado em Biociência Animal) – Universidade
Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Morfologia e
Fisiologia Animal, Recife, 2015.
Inclui referências, anexo(s) e apêndice(s).

1. Intervalo pós-morte 2. Humor vítreo 3. Soro 4. Ovino
I. Sá, Fabrício Bezerra de, orientador II. Título

CDD 636.089

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS ANIMAL

ANÁLISE BIOQUÍMICA DE HUMOR VÍTREO DE OVINOS COMO
FERRAMENTA PARA ESTIMAR TEMPO DE MORTE

Tese de Doutorado

JOSÉ ANCHIETA DE BRITO

Data de aprovação: 25 / 02 / 2015

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Fabrício Bezerra de Sá (Presidente)
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal-UFRPE

Prof. Dr. Joaquim Evêncio Neto
Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal-UFRPE

Prof^ª. Dra. LirianeBaratellaEvêncio
Departamento de Histologia e Embriologia -UFPE

Dra. Lígia Reis de Moura Estevão
PNPD/CAPES/UFRPE

Dra. Mariana Gomes do Rego
PNPD/CAPES/UFRPE

Dedico a todos as pessoas que de forma direta ou indiretamente tem me apoiado ao longo da vida.

AGRADECIMENTOS

À minha mãe Tereza Brito, *in memoriam*, pela vida de dedicação aos seus filhos, o meu eterno obrigado.

Ao Prof. Dr. Fabrício Bezerra de Sá, orientador e amigo, a minha gratidão pela amizade e ajuda.

Aos amigos Ricardo Leite, Lili Brito, Domício Menezes , Ancomércio Tenório e Taciana Spinelli pela amizade e carinho.

A Jéssica Silva, Elton Hugo e Hélio Vasco, pelas suas valiosas contribuições as quais foram essenciais para coletas e análises das amostras.

Ao Prof^o Pierre Castro e a Bruno Duarte pelas suas valiosas contribuições nas análises estatísticas.

RESUMO

Pouco se conhece sobre a estrutura do vítreo e da sua capacidade em precisar e estimar tempo de morte em ovinos, bem como não se sabe se as concentrações destes constituintes, encontradas no vítreo após a morte, refletem precisamente os valores séricos obtidos *in vivo*. Para este estudo foi realizado uma revisão da literatura a respeito da morfofisiologia do humor vítreo, seus constituintes e sobre acurácia da análise bioquímica deste fluido ocular como ferramenta útil para estimar intervalo pós-morte. O objetivo foi correlacionar os achados obtidos das concentrações bioquímicas de glicose, sódio, potássio, magnésio, cloro, cálcio e fósforo em humor vítreo pós-morte com os achados séricos destes constituintes em momentos que antecederam a morte dos animais. Foram incluídas no estudo 72 cabeças de ovinos sadios, sem alterações oftálmicas, divididas em oito grupos, separadas de acordo com o tempo de morte. As amostras do vítreo foram colhidas e congeladas a -20°C , para análise bioquímica das concentrações de vítreo dos íons K^+ , Na^+ , Cl^- , Ca^{++} , Mg^{++} , P e glicose. Para correlacionar os achados de vítreos pós-morte com os valores séricos obtidos *in vivo*, foram colhidas 10 amostras séricas de ovinos sadios e correlacionados com amostras de vítreos obtidos a partir de banco de vítreos de animais desta mesma espécie. Observou-se que as concentrações de glicose diminuía de forma significativa nas duas horas do IPM ($p=0.024$) e ao longo do tempo. As concentrações de P e K^+ aumentam de maneira linear ao longo dos intervalos pós-morte. A razão entre os íons Na^+ e K^+ diminuiu de forma linear com o IPM. Pode-se concluir que a glicose, o potássio e a razão sódio/potássio, apresentaram uma alta correlação com os intervalos pós-morte, podendo ser considerados úteis para estimar o tempo de morte nestes animais. As concentrações de cálcio, sódio e magnésio mantiveram-se constantes e podem ser úteis como parâmetro em análises de alterações vítreas e sistêmicas. As concentrações vítreas pós-morte de glicose e potássio não podem ser utilizadas como parâmetros para correlacionar com os valores séricos ante morte.

Palavras- chave: Intervalo pós-morte, Humor vítreo, ovino, soro.

ABSTRACT

Little is known about the structure of the vitreous and capacity need to estimate time of death in sheep, and it is unknown if the concentrations of these constituents found in the vitreous after death accurately reflect blood levels obtained in vivo. For this study was to review the literature regarding the morphophysiology the vitreous humor, their constituents and on accuracy of biochemical analysis of ocular fluid as a useful tool to estimate postmortem interval (PMI). We tried to correlate the findings of the biochemical concentrations of glucose, sodium, potassium, magnesium, chloride, calcium and phosphorus in postmortem vitreous humor with serum findings of these constituents in times preceding the death of the animals. The study included 72 heads of outbound sheep without ophthalmologic abnormalities, divided into eight groups. Vitreous samples were sampled according to with adaptations and frozen at -20°C for subsequent biochemical analysis of the vitreous concentrations of K^{+} ions, Na^{+} , Cl^{-} , Ca^{++} , Mg^{++} , P and glucose. To correlate the findings of postmortem vitreous with serum values obtained in vivo, were harvested 10 serum samples from healthy sheep and correlated with vitreous samples obtained from bank vitreous of animals of the same species. It was observed that the concentrations of glucose diminished significantly within two hours PMI ($p = 0.024$) and over time. The concentrations of P and K^{+} increase linearly over the PMI. The ratio of Na^{+} and K^{+} decreased linearly with the PMI. It can be concluded that glucose, potassium and the ratio sodium/potassium showed a high correlation with the PMI may be considered useful to estimate the time of death in these animals. The concentrations of calcium, sodium and magnesium were kept constant and may be useful as parameter for systemic changes and vitreous analysis. The postmortem vitreous concentrations of glucose and potassium can not be used as parameters to correlate with serum values ante-mortem.

key words: Vitreous humor, serum, postmortem interval

LISTA DE ILUSTRAÇÃO

Figura 1 . Representação gráfica da análise de regressão entre a glicose (mg/dL) e o IPM (horas).....	78
Figura 2 . Representação gráfica da análise de regressão entre o Potássio (mEq/L) e o IPM (horas).....	79
Figura 3 .Representação gráfica da análise de regressão entre o Fósforo (mEq/L) e o IPM (horas).....	79
Figura 4 . Representação gráfica da análise de regressão entre a razão do Sódio e Potássio (mEq/L) e o IPM (horas).....	80

LISTA DE TABELAS

ARTIGO I

Tabela 1. Médias, desvio-padrões da Glicose, dos íons Ca^{++} , P, Mg^{++} , Na^+ , K^+ , Cl^- e da razão Na^+/K^+ do humor vítreo de ovinos mestiços obtidas de análises referentes ao valor controle (VC) e intervalo pós morte (IPM).....	77
--	----

ARTIGO II

Tabela 1. Comparação das concentrações da glicose, Ca^{++} , P, Mg^{++} , Na^+ , K^+ , Cl^- soro sanguíneo e do humor vítreo de ovinos machos mestiços . A razão s:v é expressa em porcentagem.....	92
---	----

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ATM	Articulação Temporo Mandibular
ATP	Adenosina Trifosfato
BAB	Barreira Hemato-Aquosa
BRB	Barreira Hemato-Retiniana
CSC	Coriorretinopatia Serosa Central
DC	Células Dendríticas
DMRE	Degeneração Macular da Retina
DNA	Ácido Desoxirribonucleico
FAS ligante	Ligante proteína FAS
GAGs	Glicosaminoglicanas
HA	Humor aquoso
HV	Humor Vítreo
IPC	Células Produtoras de Interferon
IPM	Intervalo Pós-morte
LCR	Líquido Cefaloraquidiano
NK	Natural Killer
OD	Olho Direito
OE	Olho Esquerdo
PTGs	Proteinoglicanas
RNA	Ácido Ribonucleico
RNA β actina	Ácido Ribonucleico β actina
RPE	Epitélio Pigmentar da Retina
TM	Malha Trabecular
TNF α	Tumoral Necrosis Factor α
TRAIL	TNF-Ligante Indutor de Apoptose

LISTA DE SÍMBOLOS

Ca ⁺⁺	ión cálcio
Cl ⁻	ión cloro
K ⁺	ión potássio
Mg ⁺⁺	ión magnésio
mEq/l	miliequivalente por litro
mg/dl	miligrama por litro
Na ⁺⁺	íons sódio
P	íons fósforo
®	Marca registrada

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	16
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	19
2.1 Morfofisiologia do olho.....	18
2.1.1. Camada Externa ou Túnica Fibrosa.....	18
2.1.2 Córnea.....	19
2.1.3 Camada média ou Túnica vascular.....	20
2.1.4 Coróide.....	20
2.1.5 Corpo ciliar.....	21
2.1.6 Câmaras do olho e o Humor Aquoso (HA).....	22
2.1.7 Íris.....	22
2.1.8 Cristalino.....	23
2.1.9 Humor vítreo.....	24
2.1.10 Retina.....	25
2.2 Estruturas acessórias do olho.....	25
2.3 Nervo óptico.....	25
2.4. Imunologia do olho e a Barreira hemato-ocular.....	25
2.5 A morte e a CiênciasForensis.....	28
2.5.1 Morte: Marco histórico conceitual	29
2.6 Estimativa do tempo de morte.....	31
2.7 Alterações pós- morte no cadáver.....	33
2.8 Fenômenos cadavéricos.....	34
2.8.1 Fenômenos Abióticos.imediatos.....	34
2.8.2 Fenômenos abióticos consecutivos ou mediatos.....	34
2.8.3 Fenômenos cadavéricos transformativos.....	36
2.8.3.1 Autólise.....	36
2.8.3.2 Putrefação.....	36
2.8.3.3 Maceração.....	38
2.8.4 Fenômenos conservativos.....	38
2.9 Alterações oculares Pós-morte.....	38
2.10 Composição do Humor vítreo.....	39

2.11 Estimativa do intervalo pós-morte (IPM) a partir da análise bioquímica de Humor Vítreo.....	40
2.11.1 Estimativa do intervalo pós-morte a partir das concentrações do potássio vítreo.....	42
2.11.2 Estimativa do intervalo pós-morte a partir das concentrações de sódio cloretos, magnésio, fosforo e cálcio no vítreo.....	45
2.11.3 Estimativa do intervalo pós-morte a partir das concentrações Glicose e outros metabólitos em vítreo pós-morte.....	48
3 OBJETIVOS	51
3.1 Objetivo geral.....	51
3.2 Objetivos Específicos.....	51
REFERÊNCIAS.....	52
ARTIGO I	67
ARTIGO I Concentração de glicose e dos íons sódio, cloreto, magnésio, fósforo, cálcio e potássio no humor vítreo de ovinos com diferentes intervalos de tempo decorrido após a morte.....	68
RESUMO.....	68
ABSTRACT.....	69
1 INTRODUÇÃO.....	70
2 MATERIAL E MÉTODOS.....	71
2.1 Coleta e Processamento do Humor Vítreo.....	71
2.2 Análise Estatística.....	72
2.3 Aspectos Éticos.....	72
3 RESULTADOS.....	73
4 DISCUSSÃO.....	77
REFERÊNCIAS.....	80
ARTIGO II	84
ARTIGO II Análise bioquímicas comparativa entre amostras séricas e de humor vítreo de ovinos mestiços Santa Inês/Dopler.....	85
RESUMO.....	85
ABSTRACT.....	86
1 INTRODUÇÃO.....	87

2 MATERIAL E MÉTODOS.....	88
2.1 Coleta e Processamento do Humor Vítreo.....	88
2.2 Análise Estatística.....	89
2.3 Aspectos Éticos.....	92
3 RESULTADOS.....	89
4 DISCUSSÃO.....	90
REFERÊNCIAS.....	92