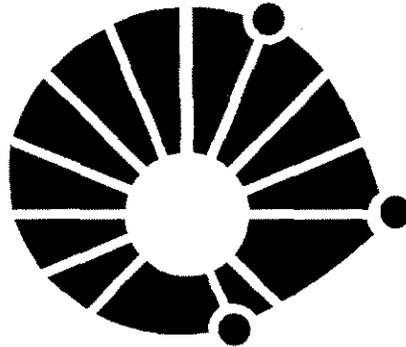


**FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**



**UNICAMP**

PAULO CESAR GAIOTTO  
Médico

CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA ESTIMATIVA  
DO TEMPO DECORRIDO DE MORTE  
POR MEIO DA DOSAGEM DE ÍONS  
“Mg<sup>++</sup>”, “K<sup>+</sup>”, “Na<sup>+</sup>”, “Ca”, “P” E ELETRÓLITO “U”  
NO HUMOR VÍTREO DE COELHOS.

Tese apresentada à Faculdade de  
Odontologia de Piracicaba da  
Universidade Estadual de Campinas  
para obtenção do título de Doutor em  
Radiologia Odontológica, área de  
Odontologia Legal e Deontologia.

PIRACICABA  
- 2003 -

**FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA  
- UNICAMP-**

**PAULO CESAR GAIOTTO**  
Médico

**CONTRIBUIÇÃO AO ESTUDO DA ESTIMATIVA  
DO TEMPO DECORRIDO DE MORTE  
POR MEIO DA DOSAGEM DE ÍONS  
“Mg<sup>++</sup>”, “K<sup>+</sup>”, “Na<sup>+</sup>”, “Ca”, “P” E ELETRÓLITO “U”  
NO HUMOR VÍTREO DE COELHOS.**

Este exemplar foi devidamente corrigido,  
de acordo com a Resolução CCPG-036/83  
CPG. 27/02/2003  
Assinatura do Orientador

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas para obtenção do título de Doutor em Radiologia Odontológica, área de Odontologia Legal e Deontologia.

Orientador: Prof. Dr. Miguel Morano Júnior  
Co-Orientador: Prof. Dr. Eduardo Daruge Jr.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Miguel Morano Júnior  
Prof. Dr. Eduardo Daruge  
Profa. Dra. Gláucia Maria Bovi Ambrosano  
Profa. Dra. Beatriz Helena Sotille França  
Prof. Dr. Luiz Franceschini Júnior

PIRACICABA  
- 2003 -

Nº CHAMADA		UNICAMP	
G 128c			
V	EX		
TOMBO BC/		55182	
PROC.		16.12410.3	
C	<input type="checkbox"/>	D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO		R\$ 11,00	
DATA		08/08/03	
Nº CPD			

CM00189594-B

515 id 300872

### Ficha Catalográfica

Gaiotto, Paulo Cesar.	
Contribuição ao estudo da estimativa do decorrido de	
G128c	morte por meio da dosagem de íons "Mg++", "K+", "Na+", "Ca", "P" e eletrólito "U" no humor vítreo de coelhos
Paulo Cesar	
Gaiotto. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 2003.	
xx, 56f. : 2il.	
Orientador : Prof. Dr. Miguel Morano Júnior.	
Tese (Doutorado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.	

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB/8-6159, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA  
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de DOUTORADO, em sessão pública realizada em 13 de Fevereiro de 2003, considerou o candidato PAULO CESAR GAIOTTO aprovado.

1. Prof. Dr. MIGUEL MORANO JUNIOR

2. Prof. Dr. LUIZ FRANCESQUINI JUNIOR

3. Profa. Dra. BEATRIZ HELENA SOTTILE FRANÇA

4. Profa. Dra. GLAUCIA MARIA BOVI AMBROSANO

5. Prof. Dr. ROBERTO JOSÉ GONÇALVES

10030/03.0

## DEDICO ESTE TRABALHO

- \* A minha esposa, **Cláudia**, e aos meus filhos, **Matheus** e **Gabriel**, pelo carinho e afeto sempre presentes
  
- \* A minha mãe, **Henriette**, pela compreensão e apoio que tem a mim devotado
  
- \* Ao meu pai, **Osmar** (*in memorian*), pelos ensinamentos e mensagens a mim transmitidos.
  
- \* Ao meu irmão, **Osmar**, minha gratidão e afeto.
  
- \* As minhas queridas e adoráveis irmãs, **Marise**, pelo carinho dispensado durante todos estes anos; e **Mara**, pelo esforço e trabalho dispensados a mim, fundamentais para a realização deste estudo.
  
- \* Aos meus amigos: **Hermínio** (*in memorian*), **Lígia**, **Renato**, **Maitê**, **Wilder** e **Kátia** pelo estímulo constante.

Agradeço

a ***DEUS***

por iluminar o caminho de todos nós.

Ao Professor

**Dr. Miguel Morano Júnior**

Pela orientação e paciência com que sempre me recebeu.

Ao Professor Dr. **Eduardo Daruge**

Eterno Coordenador

Agradeço pelos inúmeros ensinamentos compartilhados durante todos estes anos.  
Sua capacidade e perseverança é motivo de orgulho a todos nós.

## AGRADECIMENTOS

- \* À Faculdade de Odontologia de Piracicaba, na pessoa de seu Diretor, Prof. Dr. Thales Rocha de Mattos Filho e Diretor associado, Prof. Dr. Osley Paes de Almeida.
- \* Ao Prof. Dr. Lourenço Cörrer Sobrinho, Coordenador Geral dos Programas de Pós-Graduação da FOP/UNICAMP.
- \* Ao respeitável Prof. Dr. Eduardo Daruge Júnior, Coordenador do Programa de Pós-Graduação em Odontologia Legal e Deontologia a nível de Mestrado.
- \* À Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Radiologia, Profa. Dra. Gláucia Maria Bovi Ambrosano, sua paciência e virtudes não se abalam diante de tantas adversidades.
- \* Ao Prof. Dr. Roberto José Gonçalves, Professor Titular deste Curso de Pós-Graduação pelas atenção dispensada.
- \* Aos demais Professores do Curso de Doutorado em Radiologia, área de concentração em Odontologia Legal e Deontologia pela confiança e apoio a mim depositados.
- \* Às Bibliotecárias Marilene, Heloísa, Dorinha, Lourdes, Cidinha, pela presteza e atenção na revisão da literatura deste trabalho.
- \* À Srta. Érica e Sra. Sônia assessoras da Pós-Graduação da FOP-UNICAMP, pelos muitos préstimos a mim ofertados
- \* Aos amigos do Curso de Pós-Graduação em Odontologia Legal e Deontologia pelas horas de conforto e pela amizade a mim demonstrada, em especial as queridas amigas **Dinoly Albuquerque Lima** e **Célia Regina Manesco**.

\* Aos amigos desta Faculdade, que muito me ajudaram para a conclusão deste trabalho, e em especial:

\* Ao Dr. Luiz Francesquini Júnior, meus sinceros agradecimentos, por toda a sua colaboração junto ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia Legal, em especial junto ao Doutorado, graças ao seu esforço e empenho na elaboração do projeto para reconhecimento do mesmo, hoje este encontra-se reconhecido.

\* A minha prima, Eliana, pelo estímulo constante

\* Meus sinceros agradecimentos a todos que direta e indiretamente colaboraram na realização deste trabalho.

## SUMÁRIO

CAPÍTULOS	Páginas.
LISTAS	1
Figuras	1
Tabelas	2
Gráficos	3
RESUMO	5
1. INTRODUÇÃO	7
2. REVISTA DA LITERATURA	11
3. PROPOSIÇÃO	19
4. MATERIAL E MÉTODOS	21
5. RESULTADOS	27
6. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	37
7. CONCLUSÕES	43
SUMMARY	45
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	47
ANEXOS	53

## LISTA DE FIGURAS

NÚMERO DAS FIGURAS	ASSUNTOS	PÁGINAS
1	Aspecto geral da cabeça de um coelho após a decapitação..	22
2	Aspecto geral do local de punção da agulha, para coleta de humor vítreo	24

## LISTA DE ABREVIATURAS

SIGLA	SIGNIFICADO DA SIGLA
hpm	Hora <i>post-mortem</i>
3.mt	3 methoxy – tyramine
rpm	Rotações por minuto
MEq/l	Miliequivalente por litro
IPM	Intervalo <i>post-mortem</i>
Mg%	Miligramas por cento
Ca	Cálcio
Na+	Sódio
K+	Potássio
Mg++	Magnésio
U	Uréia
P	Fósforo
ml	Mililitros
meq	Miliequivalente
mg	Miligramas

## LISTA DE TABELAS

NÚMEROS DAS

TABELAS	ASSUNTOS	PÁGINAS
1	Sódio mg em função do tempo pós-morte	27
2	Potássio mg em função do tempo pós-morte	28
3	Sódio meq em função do tempo pós-morte	29
4	Potássio meq em função do tempo pós-morte	30
5	Magnésio meq em função do tempo pós-morte	31
6	Uréia mg em função do tempo pós-morte	32
7	Cálcio mg em função do tempo pós-morte	33
8	Fósforo mg em função do tempo pós-morte	34

## LISTA DE GRÁFICOS

NÚMEROS DOS

GRÁFICOS	ASSUNTOS	PÁGINAS
1	Concentração de Sódio mg	28
2	Concentração de Potássio mg	29
3	Concentração de Sódio meq	30
4	Concentração de Potássio meq	31
5	Concentração de Magnésio meq	32
6	Concentração de Uréia mg	33
7	Concentração de Cálcio mg	34
8	Concentração de Fósforo mg	35

## RESUMO

A determinação da cronologia da morte (cronotanatognose) é ainda hoje matéria controversa e intrigante, tendo-se em vista a inexistência de um único método que determine com precisão. Após a morte celular, dá-se início ao processo denominado de autólise, neste todas as células apresentam dissolução de sua integridade química física e morfológica, procedendo-se à difusão de íons de acordo com os seus gradientes de concentração nos diferentes tecidos corpóreos, fatores anatômicos locais, fatores bioquímicos, entre outros. Em vista deste fatos, buscou-se estimar o tempo decorrido de morte, por meio da análise de correlação de íons no humor vítreo e intervalo “*post-mortem*”. Procedeu-se à coleta sistematizada de humor vítreo de 40 coelhos, submetidos a um mesmo mecanismo de morte (traumatismo crânio - encefálico seguido de decapitação), e retirada do humor vítreo em intervalos de 2/2 horas até 10 horas após a decapitação. Realizou-se a dosagem de íons por meio da técnica de fotometria de chama, submetendo os resultados à análise estatística. Concluiu-se que existe variação de íons em relação ao tempo decorrido de morte, porém, este aumento dos níveis de íons no humor vítreo respondem por apenas uma pequena porcentagem da variação de tempo, não propiciando uma técnica de estimativa objetiva.

## INTRODUÇÃO

A morte, seja ela natural ou violenta, ocorre como um verdadeiro processo, e não um momento, tornando portanto complicado sua definição e o próprio diagnóstico da morte, motivado pela falta de conceitos e definições satisfatórias, e sendo esta um processo dinâmico, com participação de fenômenos físico-químicos responsáveis por sua progressão, havendo portanto a necessidade de se realizar uma análise completa de todos os sinais que a compõem.

A determinação de sua cronologia (denominada cronotanatognose) é matéria controversa e intrigante, pela inexistência de método único que a determine com precisão, SCHELEYER (1965).

Após a cessação do metabolismo energético celular, inicia-se o processo denominado autólise, responsável este pela dissolução da integridade química, física e morfológica do corpo, de forma gradativa. A falência energética é responsável pela cessação do transporte ativo da membrana celular e perda da permeabilidade seletiva desta, iniciando-se a difusão de íons de acordo com os seus gradientes de concentração nos diferentes tecidos corpóreos, iniciando-se desta forma os fenômenos cadavéricos.

O tempo de processo autolítico é determinado por vários fatores, entre eles: fatores anatômicos locais (globo ocular, esôfago, estômago), peculiaridades específicas de

células e tecidos, fatores bioquímicos (sobretudo glicólise), fatores “*ante*” e “*post-mortem*”, influenciando o “meio interior”, especialmente temperatura e pH, COE (1980).

A atividade supravital, reações supravitais, conforme preconiza SCHLEYER (1963) é denominada como fenômenos vitais ou biologicamente explicáveis, que são constatados durante o processo de morte. A duração da atividade supravital varia consideravelmente em diferentes tecidos idênticos, em localizações topográficas distintas, devido aos depósitos energéticos e velocidade de glicólise diversos. Como resultado, o ponto de partida do processo autolítico, bem como, a velocidade deste, variam consideravelmente entre diferentes tecidos, tecidos idênticos em diferentes topografias e inter-individualmente. (MADEA *et al.* 1996). Portanto, estas conclusões devem ser consideradas em processos autolíticos dependentes do tempo decorrido de morte. Sem estrita diferenciação das estruturas investigadas, o local de coleta do espécime tecidual, e fatores “*ante*” e “*post-mortem*” (sobretudo temperatura e pH), a margem de erro do parâmetro autolítico investigado aumentará consideravelmente, quanto maior for o intervalo “*post-mortem*”, SCHLEYER (1963) e COE (1980).

O humor vítreo se revela como um meio importante para o estudo de concentração de íons “*post-mortem*”, por diversos motivos, entre eles: topografia isolada e anatomicamente bem protegida, no interior do globo ocular, resistência prolongada à contaminação microbiológica por degradação bacteriana, HARPER (1989); estrutura bioquímica peculiar, sendo um fluido intra-ocular colóide, com poucas células, e ausência de vascularização, (WUSTER *et al.*, 1985, BALAZS *et al.*, 1984, BERMAN *et al.*, 1970);

facilidade de obtenção de amostras e contra-provas, com processamento laboratorial economicamente acessível e de metodologia simples.

O mais importante parâmetro estudado é o potássio, havendo difusão “*post-mortem*” da retina e, de maneira menos expressiva, do cristalino, para o corpo vítreo, BITO (1970). Experimentos em animais têm demonstrado que o metabolismo supravital pode ser mantido por até 15 minutos, a 37°C. Durante a vida, existem graus de concentração entre os diversos compartimentos intra-oculares, com um influxo de íons através do corpo ciliar e cristalino por transporte ativo celular, e flui do vítreo para a retina por difusão. No período “*post-mortem*”, o gradiente de determinados íons na interface vítreo-retineana se inverte, pela parada do transporte ativo do cristalino, havendo posteriormente equilíbrio por difusão, (BITO, 1977).

A correlação entre o aumento da concentração de íons potássio no humor vítreo tem sido estudada por diversos autores (COE, 1989, GAIOTTO, 1997, GAIOTTO, 2000).

Neste estudo pretendeu-se realizar a análise quantitativa de íons em humor vítreo de coelhos, objetivando determinar a real importância destes íons na estimativa do tempo decorrido de morte.

Concentrou-se o estudo ao período imediatamente posterior à decaptação dos coelhos e até 10 horas após esta, devido ao maior interesse Médico-Legal deste intervalo, e controvérsias de outros estudos à respeito deste período.

## REVISTA DA LITERATURA

Entre os principais autores que se preocuparam com os estudos de íons nos compartimentos intra-oculares de coelhos e sua correlação com o intervalo “*post-mortem*”, encontramos REDDY e KINSEY (1960), através da fotometria de chama, obtiveram valores de potássio no corpo vítreo de coelhos albinos entre 37,0 e 74,5mg%, sendo bem superiores às do humor aquoso e sangue, valores estes bem superiores aos encontrados em humanos, e não conseguiram estabelecer concentração do potássio no humor vítreo, e que a concentração de sódio no humor vítreo e bem menor do que no humor aquoso.

JAFFE (1962) através da análise de humor vítreo (36 amostras) de 31 cadáveres ( excluindo-se casos de uremia e distúrbios eletrolíticos), em intervalos “*post-mortem*” de até 125 horas, com idades entre 17 e 81 anos, determinou que a concentração de íons potássio apresenta relação aritmética, de aumento com o decorrer do intervalo “*post-mortem*”, e atribui este fato à difusão do potássio das células retinianas para o interior do corpo vítreo. Verificou não haver diferenças estatisticamente significativas entre cadáveres mantidos refrigerados ou em temperatura ambiente.

ADELSON *et al.* (1963) determinaram a existência de uma relação estreita entre o potássio vítreo e o intervalo “*post-mortem*”, dentro das primeiras 24 horas após a morte, analisando 349 amostras de humor vítreo de 209 cadáveres.

STURNER (1963) através da análise de 54 cadáveres em IPM superior à 108 horas, excluindo casos em que o fluido intra-ocular apresentou-se manchado, turvo ou contendo partículas, e encontrou relação aritmética, chegando à fórmula  $IPM = 7,14 \cdot \{K+\} - 39,1$ , com coeficiente de correlação  $(r) = 0,987$ , e intervalo de 95% de limite de confiança de  $\pm 9,5$  horas.

CASTREN & LAAMANEN (1963) obtiveram valores médios de potássio de 27,8mg%.

BONTING *et al.* (1963), estudando o transporte catiônico no cristalino de coelho, vitela e gato, encontraram quantidades significativas, no epitélio cristalino, e em menor quantidade na cápsula e processos ciliares, de sódio e potássio, ativados pela ATPase.

FOWLKS (1963) estabeleceu que substâncias de peso molecular baixo (ex. íons potássio, magnésio, entre outros) movimentam-se no sentido do corpo ciliar para o disco óptico.

BITO e DAVSON (1964) encontraram valores médios para coelhos albinos de 22mg% de potássio na câmara posterior, 17mg% de potássio, na câmara anterior, 20,5mg% de potássio, no vítreo anterior e 19mg% de potássio, no vítreo posterior, determinando estas

diferenças pela ação do cristalino, como mantenedor de gradiente de concentração entre o humor aquoso e o humor vítreo.

HUGHES (1965) através da análise de 135 cadáveres em IPM de  $\pm 20$  horas, estabeleceu que o aumento de potássio não pode ser correlacionado com consistência suficiente com o IPM.

PRESTE e TRAVERSO (1966) verificaram por meio do estudo de coelhos albinos e encontraram valores de potássio de  $5,14 \pm 0,16$  mEq no humor vítreo imediatamente após a morte, e que a concentração de potássio aumentou em um período de 24 horas após a morte, e que a relação entre sódio, potássio e cálcio permaneceu constante ao longo do tempo decorrido "*post mortem*" e explicaram este fato pela participação de fenômenos autolíticos.

PREST & TRAVERSO (1966) relataram média de 20mg% de potássio, através da fotometria de chama.

HANSSON *et al.* (1966) analisando 203 cadáveres com IPM de 3-310 horas, estabeleceu um intervalo de confiança de 95% de  $\pm 40$  horas; e em 180 casos com IPM superior a 120 hpm, houve aumento linear do potássio vítreo; e que após 48 horas da morte, houve grande dispersão nos valores de potássio; e que idade, sexo e raça não exerceram

influência nos resultados, ao contrário da duração do período agônico, que poderia influenciar os resultados.

MARCHENKO (1966) através da análise de 300 amostras vítreas “*post-mortem*”, com IPM entre 6 e 48 horas, encontrou valores diferentes, dependendo da causa e tipo de morte, e não apresentou variação quanto ao sexo, idade e condições de conservação dos corpos.

LIE (1967) em 88 amostras com IPM entre 2 e 95 horas, não observou diferenças significativas entre os dois olhos, refrigeração do cadáver, e relata as principais causas de erro na determinação da concentração de potássio vítreo: aspiração de humor vítreo menor que 0,5 ml (devido à distribuição irregular do potássio no corpo vítreo), aspiração forçada (que levaria à sucção de células retinianas, aumentando os níveis de potássio da amostra) e a possível mistura de sangue ou humor aquoso ao humor vítreo, devido à sucção por agulha em local não apropriado.

LEAHY & FARBER (1967) pela análise de 52 cadáveres em IPM de até 30 horas, de pacientes hospitalizados que faleceram no momento de entrada no hospital, determinaram que a concentração de potássio vítreo aumenta de maneira dispersa, não apresentando significância estatística.

COE (1969) analisou 160 amostras de pacientes hospitalizados, com mortes súbitas ou violentas e sem antecedentes de distúrbios eletrolíticos, com IPM até 100 horas *post-mortem* (hpm), e observou grande variação individual, de padrão aritmético.

KRAUSE *et al.* (1971) através da análise de 262 amostras em IPM de até 230 horas, estabeleceram um aumento exponencial de potássio, determinando as equações  $\{K^+\} = 2,96 + 1,65 \cdot VH$  ou  $h = (\{K^+\} - 2,96)^2$ , com coeficiente de correlação  $(r) = 0,7$ , e sugeriram que o emprego de vários métodos levaria à uma estimativa mais precisa do IPM.

ADJUTANTIS & COUTSELINIS (1972) em análise de 120 olhos, com IPM de até 120 horas, dividido em intervalos de 3 horas, através de avaliação dos dois olhos, não revelaram diferenças estatisticamente significativas, bem como, em fatores como causa de morte, idade e sexo, detectando em aumento linear da concentração de íons potássio neste IPM de 120 horas.

KOMURA e OSHIRO (1977) analisaram 30 amostras de humor aquoso, e vítreo de coelhos, através de exames periódicos mantendo-os em temperaturas de 2° C, 6°C, 23°C e 27°C e demonstraram que não houve variações significativas entre diferentes temperaturas, para os valores de potássio no humor aquoso e vítreo.

KOMURA & OSHIRO (1977) em análise de 90 amostras com IPM de 30 horas, estabeleceram correlação linear entre potássio vítreo e IPM, com a variação, sendo maior em temperaturas de 26-29° C do que em 13-17° C.

GREGORI *et al.* (1978) em amostra de 47 cadáveres, utilizando o método de espectrofotometria de absorção atômica, determinaram que este pode ser um método mais preciso para estimativa do tempo de morte do que a espectrofotometria de chama, estabelecendo também uma correlação linear de aumento da concentração do potássio vítreo e o IPM.

FOERCH *et al.* (1979) em análise de 50 amostras de humor vítreo, estabeleceram correlação linear entre potássio vítreo e IPM.

BLUMENFELD *et al.* (1979) na análise de 127 amostras de crianças entre 1 ano e 13 anos, com IPM de 11-17 horas, estabeleceram correlação linear entre potássio vítreo e IPM.

FORMAN & BUTTS (1980) na análise de 82 amostras de humor vítreo, estabeleceram correlação linear entre potássio vítreo e IPM.

HONDA *et al.* (1983) analisaram e determinaram por meio de coelhos albinos as concentrações de sódio, potássio, magnésio e cálcio, antes e depois da extração de humor

vítreo através da técnica de vitrectomia posterior, e sugerem que a variação dos valores iônicos é decorrente de gradientes de concentração entre o corpo vítreo e tecidos adjacentes, sendo a parede posterior do globo ocular a via principal. Demonstraram que o transporte ativo de íons, pelo corpo ciliar, contribui para o equilíbrio iônico.

FARMER *et al.* (1985) analisando concentrações de cálcio, sódio, potássio e magnésio em IPM 24-120 horas, referiram correlação ( $r = 0,98$ ) entre os íons  $K^+$  e IPM, e destacam que influências externas e variações biológicas individuais trazem limitações ao método.

MADEA *et al.* (1989) em 405 amostras com IPM de 130 horas, divididas em 03 grupos, sendo o grupo I o total de amostras, o grupo II com níveis de uréia no humor vítreo  $>100mg\%$  e episódio terminal menor que 6 horas e grupo III, com uréia  $>100mg\%$  no humor vítreo, e concluíram que existe variações estatisticamente significativas entre os dois olhos, bem como, os índices de uréia  $<100mg\%$  como sendo o mais preciso padrão para análise de distúrbio eletrolítico, prévio à morte que possa interferir nos níveis de potássio vítreo “post-mortem”, melhorando o limite de confiança de 95% na análise do potássio vítreo e sua correlação com IPM.

SPARKS *et al.* (1989) em análise de 91 amostras com IPM de 60 horas, juntamente com os níveis de 3-methoxy-tyramine (3-*mt*) do putamen cerebral, determinaram que as análises conjuntas destes 2 fatores melhora a estimativa de tempo decorrido de morte.

MONTALO *et al.* (1989) em análise de 289 amostras com IPM de 80 horas, estabeleceram intervalos de  $\pm 8$  a  $\pm 23$  horas com 95% de confiança, de acordo com os vários sub-grupos estudados (idade, sexo, tipo de morte, condições climáticas).

COE (1989) afirmou que a correlação entre o aumento da concentração de íons potássio no humor vítreo de humanos e o tempo estimado de morte tem sido estudado por diversos autores.

GAMERO *et al.* (1990) em 60 amostras com IPM de 24 horas, determinaram a melhor correlação entre o potássio e IPM em casos de morte menor que 17 horas.

ROGNUM *et al.* (1991) em 87 amostras com IPM de 120 horas, realizando retiradas repetidas (duas vezes por olho) em temperaturas diversas ( 5°C, 10°C, 15°C, e 23°C), determinaram que quanto maior a temperatura ambiente, maior será a velocidade de aumento dos níveis de potássio vítreo.

GAIOTTO (1997) estudando a concentração de íons potássio através da técnica de fotometria de chama no humor vítreo de coelhos com IPM de ate 12 horas, com mesmo mecanismo de morte e com padronização de variáveis tais como sexo, temperatura ambiente, encontrou correlação entre o aumento destes íons e o tempo decorrido de morte,

porém este aumento respondeu por apenas 13% da variação de tempo, sendo o restante da variação do tempo não determinado pelo experimento.

GAIOTTO (2000) por meio de estudo padronizado como o descrito por GAIOTTO (1997) porém utilizando analisador de íon seletivo como técnica para dosagem de íons potássio no humor vítreo de coelhos, obteve que o aumento da concentração de íons potássio respondeu por cerca de 38,19% da variação do tempo decorrido de morte.

## **PROPOSIÇÃO**

A presente pesquisa propõe-se a :

- realizar um estudo experimental no humor vítreo de coelhos, buscando comprovar se neste, reside elementos que possam ser determinantes na estimativa do tempo decorrido de morte, por meio do estudo da dosagem de íons “Mg<sup>++</sup>”, “K<sup>+</sup>”, “Na<sup>+</sup>”, “Ca”, “P” e eletrólito “U”, observando se ocorre variação estatisticamente significativa e sua correlação ( $R^2$ ) com o tempo decorrido de morte.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

A amostra utilizada em nosso experimento constituiu-se de 40 coelhos albinos da raça NORFOLK, linhagem Botucatu, com idade de 40 dias, sendo 20 fêmeas e 20 machos, peso entre 900g e 1150g, recém desmamados, fornecidos pelo Biotério do Campus de Botucatu da Universidade Estadual Paulista.

Os animais foram submetidos ao mesmo procedimento de morte, tal seja, traumatismo crânio-encefálico, por meio de instrumento contundente (pedaço de madeira). Com o auxílio deste atingia-se a região occipital do crânio do coelho, seguido de decapitação com um instrumento corto-contundente (um facão), anotando-se o exato momento da decaptação. (figura 1)

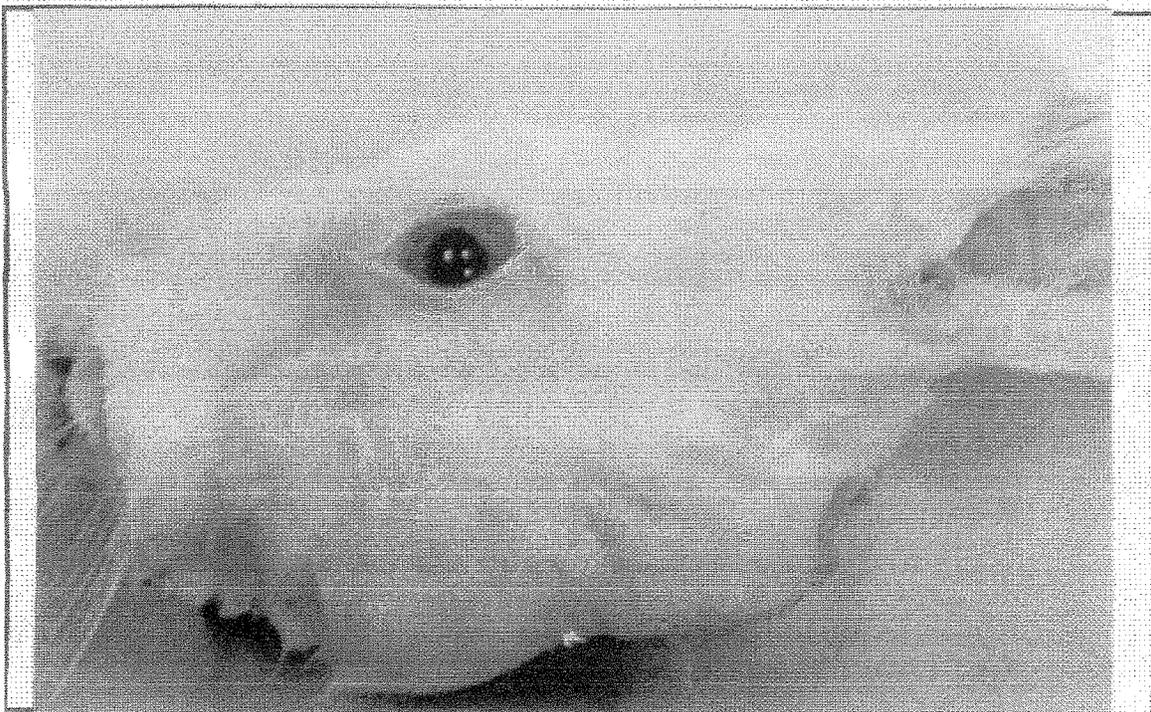


Figura 1 – Aspecto Geral da cabeça do coelho, após decaptação e antes da coleta do humor vítreo.

Constituíram-se, então, cinco grupos, cada um com oito animais, sendo quatro machos e quatro fêmeas, identificados individualmente com fitas adesivas, realizando-se, no momento do óbito, a coleta de humor vítreo, do olho direito de todos os 40 animais e, a seguir, em intervalos de duas horas (grupo I), quatro horas (grupo II), seis horas (grupo III), oito horas (grupo IV) e 10 horas (grupo V), “*post-mortem*”, realizaram-se as coletas de humor vítreo do olho esquerdo; mantendo-se os mesmos à temperatura ambiente (26-29 °C), até a hora da coleta das amostras de cada grupo.

A técnica de coleta de humor vítreo utilizada, descrita por COE, foi realizada através de punção a 3mm do limbo esclero-corneano, com uma agulha de calibre 13x4,5 (26 ½ Gauge) acoplada a uma seringa de 03 ml, devidamente esterilizados, com aspiração lenta e gradual, de cerca de 0,3 a 0,5 ml de humor vítreo, para se evitar contaminação do espécime com fragmentos de retina ou outras partículas, sendo a agulha introduzida integralmente no globo ocular, atingindo, o bisel, o centro do mesmo, obtendo-se desta maneira apenas amostras incolores de humor vítreo (Figura 2). A coleta deste material foi sempre analisada, para se evitar a presença de outras substâncias orgânicas ou até mesmo sangue.

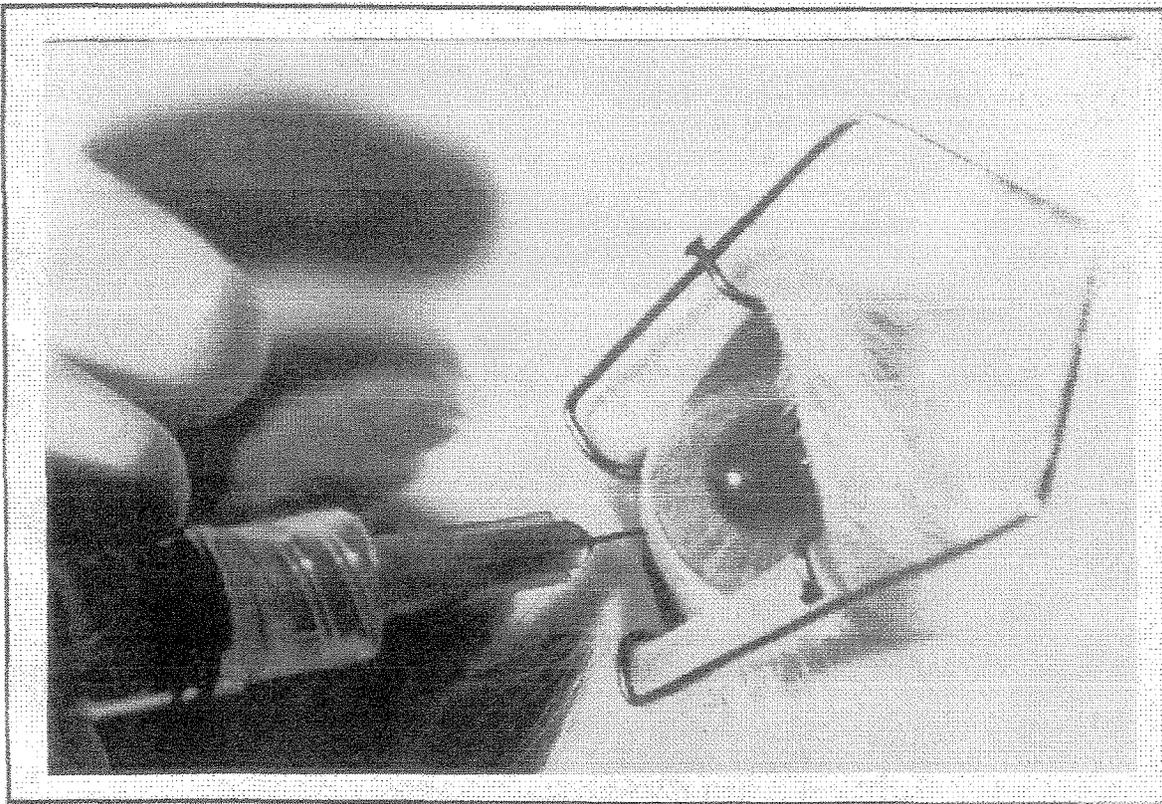


Figura 2 - Aspecto geral do local de punção da agulha, para coleta do humor vítreo.

As amostras foram mantidas em tubos de ensaio, centrifugadas e congeladas em -70 °C até o momento de serem analisadas.

A análise foi feita através da metodologia padronizada por BURINI e CAMPANA<sup>10</sup> (1970), a qual consiste em diluir 1,00 ml de humor vítreo em balão volumétrico de 10 ml, completando-o, até a marca, com água deionizada, sendo as amostras previamente centrifugadas a 1.500 r.p.m., por 05 minutos em Centrífuga Ciclo C II da marca REVAN®.

As leituras foram realizadas em fotômetro de chama, tipo CORNING 400, com o filtro seletor na posição apropriada, atomizando-se a solução padrão Tritisol Merck (9976), e a solução diluente com água deionizada para ajuste das escalas do fotômetro, e, em seguida, atomizou-se a escala e multiplicou-se pela diluição para se obter o resultado em mEq/l.

Devido à solução padrão da Merck apresentar o valor da amostra em mg% utilizou-se da seguinte fórmula para se obter o valor da amostra em mg%:

$$\text{mg\%} = \text{mEq/l} \div 0,25$$

## RESULTADOS OBTIDOS

### **Análise dos dados**

Inicialmente foi feita análise exploratória dos dados e quando os mesmos não atendiam as pressuposições os mesmos foram transformados. Assim foram feitas análises de variâncias e regressões polinomiais ( $\alpha = 0,05$ ) para as seguintes variáveis:

Log10(potássio meq)

Magnésio mês

anjo

Log10(potássio mg)

1/(sódio meq)

1/(sódio mg)

log10(cálcio mg)

log10( fósforo mg)

Log10(uréia mg)

Tabela 1. Sódio mg em função do tempo pós-morte

	Inicial		Final	
	Média	S	Média	S
2	337,8	14,8	336,6	24,3
4	339,3	15,3	331,4	7,8
6	349,7	20,2	344,2	37,4
8	323,8	10,2	337,2	12,7
10	325,6	11,1	320,4	15,0
R <sup>2</sup> linear	0,12*		Ns	
R <sup>2</sup> quadrático	Ns		Ns	

NS= não significativo pela análise de variância (p>0,05)

\*significativo p<0,05

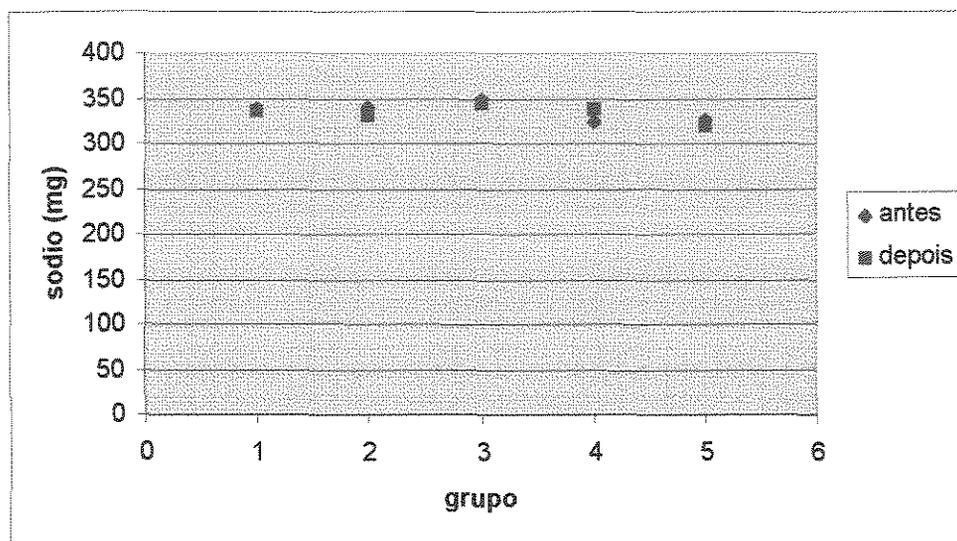


Gráfico 1. Concentração de sódio mg

Tabela 2. Potássio mg em função do tempo pós-morte.

	Inicial		Final	
	Média	S	Média	S
2	37,6	6,5	65,2	16,9
4	39,5	7,2	47,5	4,5
6	37,6	7,9	74,5	13,3
8	33,3	3,9	52,9	10,7
10	42,7	12,8	87,0	18,1
R <sup>2</sup> linear	Ns		0,11	
R <sup>2</sup> quadrático	Ns		0,22*	

NS= não significativo pela análise de variância (p>0,05)

\*significativo p<0,05

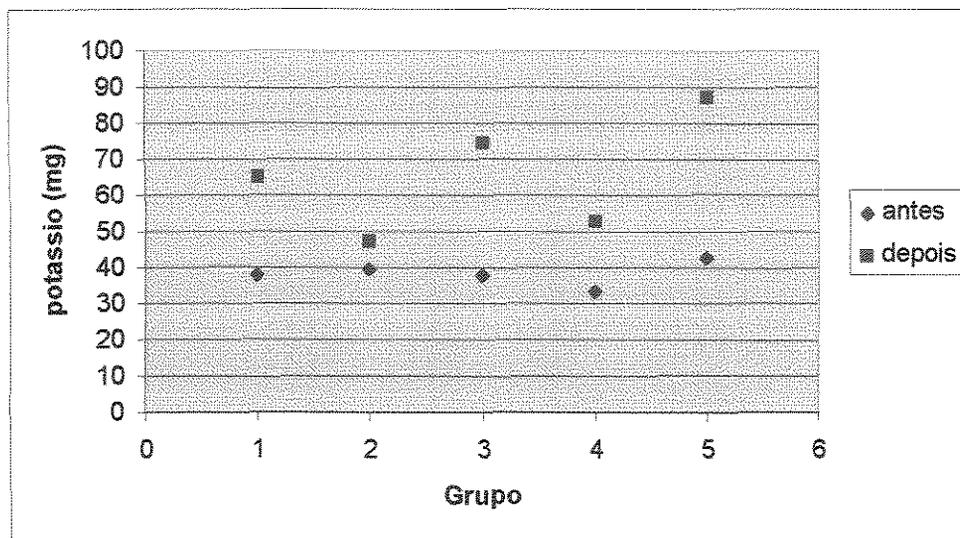


Gráfico 2. Concentração de potássio mg

Tabela 3, Sódio meq em função do tempo pós morte,

	Inicial		Final	
	Média	S	Média	S
2	145,2	6,4	144,8	10,5
4	145,9	6,6	142,5	3,3
6	150,4	8,7	148,0	16,1
8	139,2	4,4	145,0	5,4
10	140,0	4,8	137,8	6,4
R <sup>2</sup> linear	0,11		Ns	
R <sup>2</sup> quadrático	Ns		Ns	

quadrático

NS= não significativo pela análise de variância (p>0,05)

\*significativo p<0,05

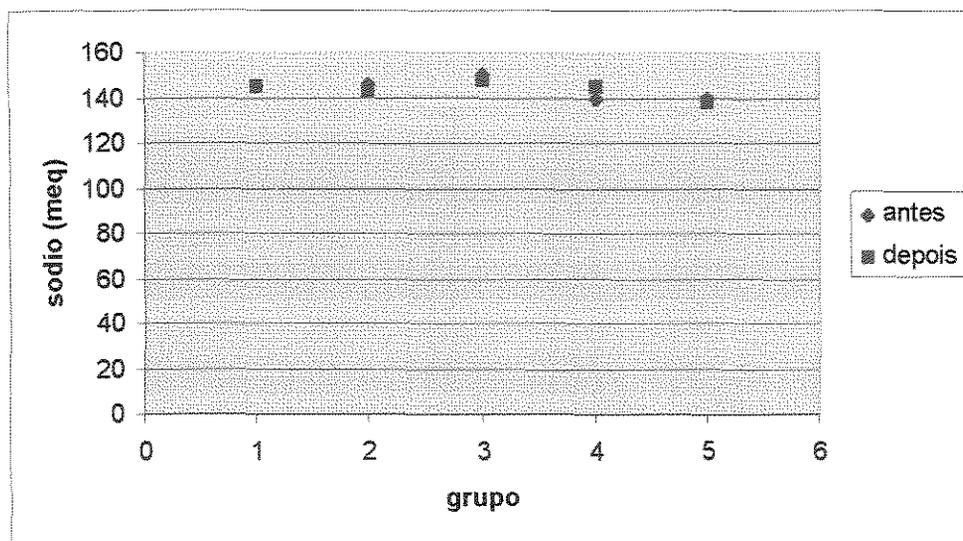


Gráfico 3. Concentração de sódio meq

Tabela 4, Potassiomeq em função do tempo pós morte

	Inicial		Final	
	Média	S	Média	S
2	9,4	1,6	16,3	4,2
4	9,9	1,8	11,9	1,1
6	9,4	2,0	18,6	3,3
8	8,3	1,0	13,2	2,7
10	10,7	3,2	21,8	4,5
R <sup>2</sup> linear	Ns		0,11*	
R <sup>2</sup> quadrático	Ns		0,22*	

quadrático

NS= não significativo pela análise de variância (p>0,05)

\*significativo p<0,05

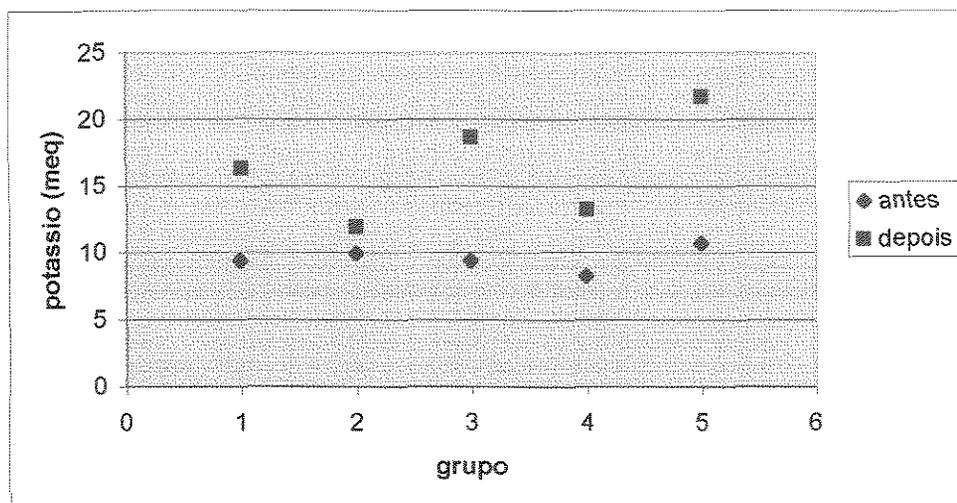


Gráfico 4. Concentração de potássio meq

Tabela 5, Magnesiomeq em função do tempo pós morte

	Inicial		Final	
	Média	S	Média	S
2	2,8	0,32	2,2	0,56
4	3,2	0,37	2,5	0,31
6	2,8	0,36	1,8	0,54
8	3,0	0,61	1,6	3,39
10	2,6	0,73	1,8	0,50
R <sup>2</sup> linear	Ns		0,20*	
R <sup>2</sup> quadrático	Ns		Ns	

NS= não significativo pela análise de variância (p>0,05)

\*significativo p<0,05

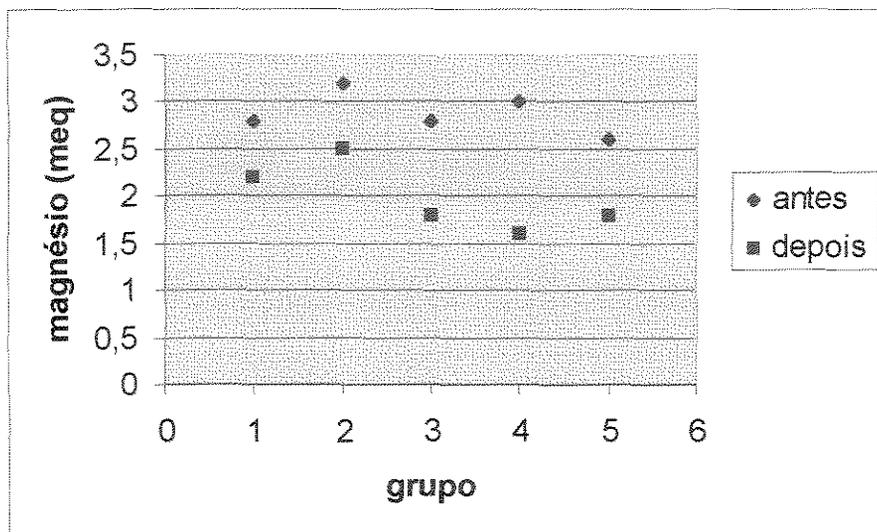


Gráfico 5. Concentração de magnésio meq

Tabela 6, Uréiamg em função do tempo pós morte

	Inicial		Final	
	Média	S	Média	S
2	38,5	5,6	43,2	6,4
4	35,0	12,3	43,0	12,3
6	34,8	7,3	41,8	9,1
8	36,2	7,5	41,6	5,9
10	31,8	3,8	41,5	10,0
R <sup>2</sup> linear	Ns		Ns	
R <sup>2</sup> quadrático	Ns		Ns	

NS= não significativo pela análise de variância (p>0,05)

\*significativo p<0,05

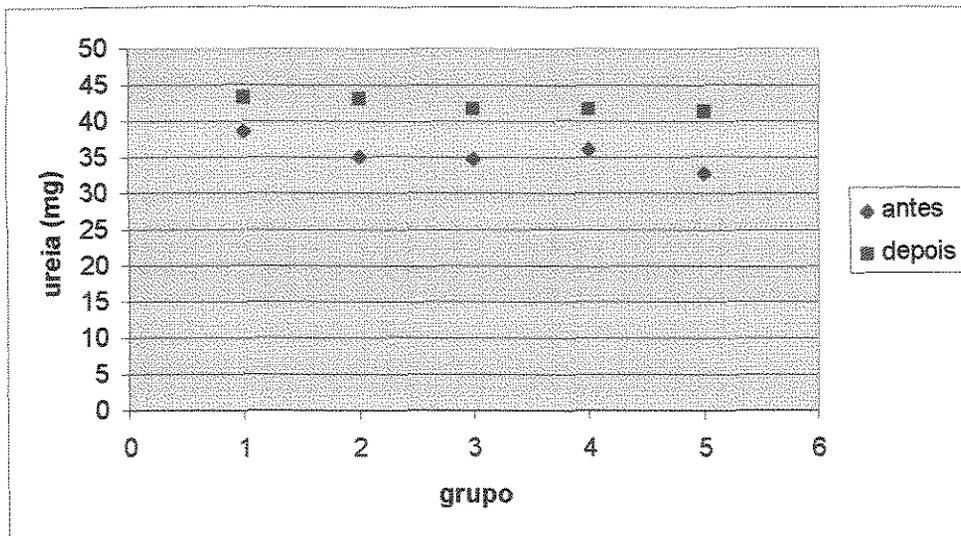


Gráfico 6. Concentração de uréia mg

Tabela 7, Cálcio mg em função do tempo pós morte

	Inicial		Final	
	Média	S	Média	S
2	4,9	0,80	6,1	1,2
4	4,6	1,1	5,8	1,8
6	4,4	0,76	6,2	0,96
8	4,7	0,80	6,0	1,2
10	4,4	1,2	6,1	1,5
R <sup>2</sup> linear	Ns		Ns	
R <sup>2</sup> quadrático	Ns		Ns	

NS= não significativo pela análise de variância (p>0,05)  
 \*significativo p<0,05

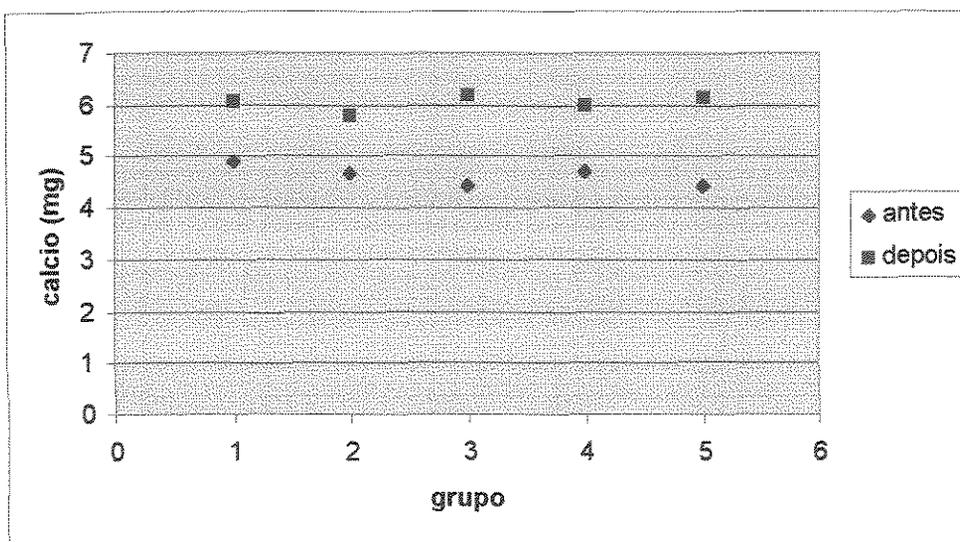


Gráfico 7. Concentração de cálcio mg

Tabela 8, Fósforo mg em função do tempo pós morte

	Inicial		Final	
	Média	S	Média	S
2	3,6	0,60	2,9	0,49
4	3,5	0,66	2,8	0,51
6	2,9	0,42	2,9	0,38
8	3,3	0,66	2,9	0,96
10	2,9	0,46	2,9	0,49
R <sup>2</sup> linear	Ns		Ns	
R <sup>2</sup> quadrático	Ns		Ns	

NS= não significativo pela análise de variância ( $p > 0,05$ )  
 \*significativo  $p < 0,05$

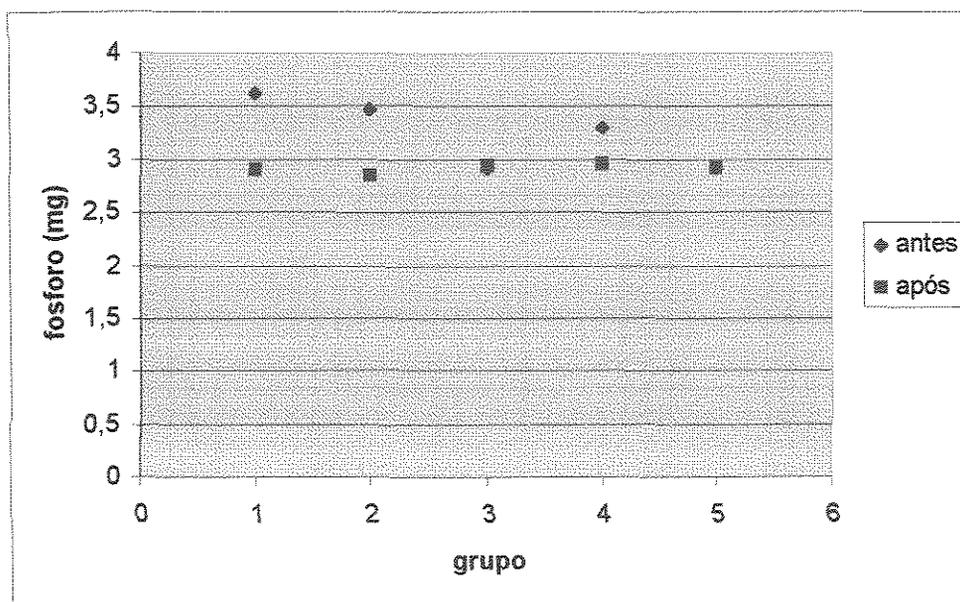


Gráfico 8. Concentração de fósforo mg

## DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

A utilização do humor vítreo, através do estudo da concentração de íons, na estimativa do tempo decorrido de morte, vem sendo analisada desde os trabalhos pioneiros de JAFFE<sup>27</sup> (1962) e SCHLEYER<sup>38</sup> (1963), relatando estes, as vantagens deste, em relação aos demais fluidos corpóreos.

A correlação entre a alteração da concentração de íons e o tempo decorrido de morte têm sido estabelecida por diversos autores, sendo, para alguns, aritmético (JAFFE, 1962; STURNER, 1963 e COE, 1969); para outros, exponencial (KRAUSE, 1971); inexistindo qualquer tipo de aumento, para outros; e, para a maioria, sendo linear (HASSON, 1966, ADJUDANTIS & COURSELINIS, 1972, UOMURA & OSHIRO, 1977, FOERCH, 1979, FORMAN & BUTTS, 1980, BLUMENFELD, 1979).

Existe consenso de que o método deve ser utilizado com reservas, devido à grande dispersão dos valores encontrados, sobretudo em intervalos “*post-mortem*” longos (FARMER, 1985).

Os resultados mais expressivos foram os alcançados por STURNER<sup>40</sup>, em um estudo controlado de 54 cadáveres em IPM superior a 100 horas, com limites de confiança

de 95%, na concentração de potássio de  $\pm 9,5$  horas; sendo o aumento linear, e descrito pela regressão:

$$[K^+] = 5.476 + 0.14 h$$

OU

$$R = 7.14 [K^+] - 39,1$$

Entretanto, investigações posteriores não confirmaram este intervalo de confiança de 95%, e sim, uma variação muito ampla, com diferenças entre mortes súbitas e agônicas, tendo a duração do episódio terminal grande influência para ADELSON *et al.*<sup>1</sup> (1963). Portanto, este é o principal obstáculo para a utilização da concentração de íons potássio no humor vítreo, como estimativa do tempo decorrido de morte.

Diversos motivos para os diferentes parâmetros de regressão têm sido identificados:

- 1) A duração do episódio terminal;

2) A composição das amostras em estudo, de acordo com o tipo de óbito (mortes súbitas, casos patológicos, etc.);

3) Velocidades diferentes de alteração da concentração de íons potássio no humor vítreo, de acordo com os níveis de uréia (indicador de distúrbios eletrolíticos prévios ao óbito);

4) Temperatura ambiente;

5) Possível influência do álcool no momento da morte;

6) Estudos com diferentes IPM;

7) Metodologia e instrumentos utilizados para medir a concentração de íons (fotometria de chama, analisador de íons seletivo) ;

8) Idade (a concentração de íons potássio no humor vítreo, "*post-mortem*", aumenta mais rapidamente em crianças do que em adultos, provavelmente pelo menor diâmetro do globo ocular infantil).

Nosso modelo de estudo experimental visou eliminar o maior número possível destes fatores que pudessem influenciar na análise de regressão, através de:

1) Análise em animais de mesma espécie, raça, idade, sem diferenças estatisticamente significativas com relação ao sexo, olho estudado e, ao tipo de óbito;

2) Padronização da técnica de coleta de humor vítreo, sendo efetuada pelo mesmo indivíduo, com utilização de materiais descartáveis e esterilizados;

3) Padronização precisa dos IPM, sendo cada amostra retirada em intervalos estritos, em relação ao olho do lado oposto.

4) Padronização da técnica de determinação da concentração de íons , com utilização dos mesmos instrumentos utilizados, e realizados pela mesma pessoa.

5) Manutenção dos corpos no mesmo local, e a mesma temperatura ambiente.

Por meio destes parâmetros, com diminuição das possíveis variáveis, objetivamos demonstrar se a concentração de íons no humor vítreo altera de maneira estatisticamente significativa, e quantificar, através do valor de  $R^2$ , o real papel do acúmulo de íons na estimativa do tempo decorrido de morte.

O estudo de regressão linear de alguns íons não permitiram concluir que estes estivessem associados a variação do tempo decorrido de morte, por não ser estatisticamente significativos ( $p > 0,05$ ), entre eles o Fósforo, Cálcio e o Eletrólito Uréia.

Porém, encontrou-se indícios de que o aumento no tempo se associa a um aumento na variação de Potássio ( $K^+$ ), estatisticamente significativo ( $p < 0,05$ ) e  $R^2$  linear de 0,11 e quadrático de 0,22; Sódio ( $Na^{++}$ ),  $R^2$  linear de 0,11 (Meq) e 0,12 (Mg) com  $p < 0,05$ , e Magnésio,  $R^2$  linear de 0,22 e  $p < 0,05$ .

Portanto, desta forma, observou-se que uma pequena porcentagem da variação do tempo se associa de forma estatisticamente significativa a variação dos teores de íons Potássio, Sódio e Magnésio, não permitindo com isto se estimar o tempo decorrido de morte através da dosagem destes íons no humor vítreo de coelhos utilizados neste estudo. Bem como os íons Fósforo, Cálcio e Eletrólito Uréia não apresentaram variação significativa neste experimento.

Finalmente, acreditamos que para se realizar uma estimativa mais precisa do tempo decorrido de morte, será possível somente com um conjunto de métodos e técnicas, aplicadas aos diversos líquidos biológicos, e a análise completa dos íons correlacionados ao processo de autólise (entre eles por exemplo o sódio, fosfato inorgânico, cloro, cálcio, magnésio, bem como outros), e de outras substâncias (por exemplo hormônios, enzimas, produtos do metabolismo proteico e carboidratos), contribuirão sobremaneira na melhoria dos índices de  $R^2$  demonstrados neste estudo.

## CONCLUSÃO

Com o desenvolvimento do presente trabalho, obteve-se a seguinte conclusão:

1) A estimativa do tempo decorrido de morte pela determinação da concentração de íons “Mg<sup>++</sup>”, “K<sup>+</sup>”, “Na<sup>+</sup>”, “Ca”, “P” e eletrólito “U” no humor vítreo de coelhos, não propiciou uma técnica de estimativa objetiva, em virtude de uma variação não estatisticamente significativa de P, Ca, e eletrólito U, e de que uma pequena porcentagem de variação de tempo se associa de forma estatisticamente significativa, porém com R<sup>2</sup> baixo, à variação dos teores de Potássio, Sódio e Magnésio.

## SUMMARY

This study were based on the estimation of the time since death by correlation of vitreous eletrolytes and "*post-mortem*" period.

We obtained vitreous humour of 40 habbits, that died by the same way, violent death, and we performed timed removal of vitreous humour at na interval of 2 hours until the first 12 hours after death.

We performed determination of eletrolytes concentration by flame photometry, and the results was studied by statistical methods.

The conclusion was that variation on vitreous potassium, sodium and magnesium levels rises over the "*post-mortem*" interval on a statistically significant level, but the low  $R^2$  levels do not make this method useful as a objective Tanatology method.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS<sup>1</sup>

1. ADELSON, L. et al. Vitreous potassium concentration as an indicator of the postmortem interval. **J. forens. Sci.**, 8: 503-14, 1963.
2. ADJUDANTIS, G. & COUTSELINIS, A. Estimation of the time of death by potassium levels in the vitreous humor. **Forens. Sci. int.**, 1: 55-60, 1972
3. BALAZS, E.A. & DENLINGER, J.L. The vitreous. In: **In the eye**. 3.ed. Herausgeber, Hugh Davson, v.1, p.533-89
4. BERMAN, E.R. & VOADEN, M. The vitreous body. In: GRAYMORE, C.N., ed. **Biochemistrh of the eye**. London, Academic, 1970.
5. BITO, L.Z. Intraocular fluid dynamics. steady-state concentration gradients of magnesium, potassium and calcium in relation to the sites and mechanism of ocular cation transport processes. **Expl Eyer Res.**, 10: 102, 1970.
6. \_\_\_\_\_. The physiology and pathophysiology of intraocular fluids. In: \_\_\_\_\_; DAVSON, H.; FENSTERMACHER, J.D., eds. **The ocular and cerebrospinal fluids**. London, Academic, 1977. p.273-89.
7. \_\_\_\_\_. & DAVSON, H. Steady-state concentrations of potassium in the ocular fluids. **Expl Eyer Res.**, 3: 283, 1964.

---

<sup>1</sup> De acordo com a NBR 6023 de ago. 1989, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT).  
Abreviatura dos títulos dos periódicos em conformidade com o Medline.

8. BLUMENFELD, T.A. et al. Postmortem vitreous humor chemistry in sudden infant death syndrome and in other causes of death in childhood. **Am. J. clin. Path.**, 71: 219-23, 1979.
9. BOTING, S.L. CARAVAGGIO, L.L.; HAWKINS, N.M. Studies on sodium-potassium activated adenosine-triphosphatase. Its role in cation transport in the lens of cat, calf and rabbit. **Archs Biochem.**, 101: 47, 1963.
10. BURINI, R.C; CAMPANA, A. D. Padronização da metodologia para análise do sódio e do potássio em soluções eletrolíticas semelhantes ao plasma, pela fotometria de chama. **Rev. Bras. Pes. Med. Biol.**, 3: 25-36, 1970.
11. CASTREN e LAAMANEN. In: MADEA *et al.* **The estimation of the time since death in the early post-mortem period.** London, Arnold, 1996.
12. COE, J.I. **Definition and time of death: modern legal medicine, psychiatry and forensic science.** Philadelphia, F.A. Davis, 1980.
13. COE, J.I. Postmortem biochemistry of blood and vitreous humour in pediatric practice. In: MASON, J.K.; ed. **Pediatric forensic medicine and pathology.** London, Chapman & Hall, 1989. p. 191-203.
14. \_\_\_\_\_. Postmortem chemistries on blood with particular reference to urea nitrogen, electrolytes and bilirubin. **J. forens. Sci.**, 19(1): 33-42, 1974.
15. \_\_\_\_\_. Postmortem chemistries on vitreous humor. **Am. J. Path.**, 51: 741-50, 1969.
16. \_\_\_\_\_. Postmortem chemistry of blood, cerebrospinal fluid and vitreous humour. **Leg. Med. A.**, 53-91, 1976.

17. FARMER, J.G. et al. Magnesium, potassium, sodium and calcium in postmortem vitreous humor from humans. **Forens. Sci. int.**, **27**: 1-13, 1985.
18. FOERCH, J.S.; FORMAN, D. T.; VYE, M.V. Measurement of potassium in vitreous humor as an indication of the postmortem interval. **Am. J. clin. Path.**, **72**: 651-2, 1979.
19. FORMAN, D.T.; BUTTS, J. Eletrolitytes of the vitreous humour as a measure of the postmortem interval. **Clin. Chem.**, **26**: 1024, 1980.
20. FOWLKS, N.L. Meridional flow from the corona ciliaris through the paretinal zone of the rabbit vitreous. **Invest. Ophthal.**, **2**: 63-71, 1963.
21. GAIOTTO, P.C. Contribuição ao estudo da estimativa do tempo decorrido de morte através da dosagem de íons potássio no humor vítreo de coelhos. Tese de Mestrado, FOP/UNICAMP, 1997.
22. GAIOTTO JÚNIOR, O.A. Contribuição à estimativa da cronatognose através da dosagem de íons potássio por analisador íon-seletivo no humor vítreo. Tese de Doutorado, FOP/UNICAMP, 2000.
23. GAMERO, J.J. et al. Incremento de la concentracion de potassio en humor vitreo en funcion del tiempo postmortem. **Riv. ital. Med. leg.**, **12**: 789-801, 1990.
24. GREGORI, Z. et al. The amouth of proportion of potassium and calcium in the vitreous body relation to the time of death. **Soudní Lék.**, **23**(1): 1-7, 1978.

25. HANSSON, L.M.A. et al. Potassium content of the vitreous body as an aid in determining the time of death. **J. forens. Sci.**, **11**: 390-94, 1966.
26. HARPER, D.R. A comparative study of the microbiological contamination of post-mortem blood and vitreous humour samples taken for ethanol determination. **Forens. Sci. int.**, **43**: 37-44, 1989.
27. HONDA, Y.; NEGI, A.; KAWANO, S. Mode of ion movements into vitreous. **Archs Ophthalm.**, **101**: 105-11, 1983.
28. HUGHES, W. Levels of potassium in the vitreous humour after death. **Medicine Sci. Law**, **150**: 150-6, 1965.
29. JAFFE, F. A. Chemical post-mortem changes in the intra-ocular fluid. **J. forens. Sci.**, **7**: 231-7, 1962.
30. KOMURA, S. & OSHIRO, S. Potassium levels in the aqueous and vitreous humour after death. **Tohoku J. exp. Med.**, **122**: 65-8, 1977
31. KRAUSE, D. et al. Die Bedeutung der Kaliumkonzentration im Glaskörper menschlicher Augen für die Todeszeitbestimmung. **Z. ärztl. Fortbild.**, **65**(6): 345-8, 1971.
32. LEAHY, M.S. & FARBER, R. Postmortem chemistry of human vitreous humour. **J. forens. Sci.**, **12**: 214-22, 1967.
33. LIE, J.T. Changes of potassium concentration in the vitreous humour after death. **Am. J. Med. Sci.**, **254**: 136-43, 1967.
34. MADEA, B. et al. References for determining the time of death by potassium in vitreous humour. **Forens. Sci. int.**, **8**: 231-43, 1989.

35. MARTCHENCO, H.P. Veränderungen des Kaliumgehaltes der Glaskörperflüssigkeit in Abhängigkeit von der Todeszeit. **Gerichtl. Med.**, **61**: 295, 1966.
36. MONTALO, B. et al. La determinazione della concentrazione del potassio nell'umor vitreo: verifica di un methodo strumentale tanatocronologico. **Riv. ital. Med. leg.**, **11**: 180-99, 1989.
37. PRESTE, E. & TRAVERSO, G. Le variazioni di concentrazione del potassio e del rapporto  $K^+ + Na^+ / Ca^{++}$  nel vitreo del coniglio prima e dopo la morte. **Annali Ottal. Clin. ocul.**, **8**: 589-94, 1966.
38. REDDY, D.V.N. & KINSEY, V. E. Composition of the vitreous humour in relation to that plasma and aqueous humors. **Archs Ophthalm.**, **63**: 167, 715-20, 1960.
39. ROGNUM, T.O. et al. A new biochemical method for estimation of postmortem time. **Forens. Sci. int.**, **51**: 139-46, 1991.
40. SCHLEYER, F. Determination of the time since death in the early postmortem interval. **Meth. forens. Sci.**, **2**: 253-93, 1963.
41. SPARKS D.L. *et al.* Comparasion of chemical methods for determining the postmortem interval. **J. For Sci** **34**: 197-206, 1989.
42. STURNER, M.Q. The vitreous humour: postmortem potassium changes. **Lancet**, 807-8, 1963.
43. WURSTER, U.; HOFFMANN, K. Glaskörper. In: HOCKWIN, O., ed. **Biochemie des Auges**. Stuttgart, Enke, 1985. p.100-34.



## ANEXOS

### DECLARAÇÃO

Declaro para os devidos fins que o Projeto de Doutorado "Contribuição ao estudo da Estimativa do Tempo Decorrido de Morte por meio da dosagem de Íons "Mg<sup>++</sup>", "K<sup>+</sup>", "Na<sup>+</sup>", "Ca", "P" e eletrólito "U" no Humor Vítreo de Coelhos," de Paulo César Gaiotto, tendo como orientador o Prof. Dr. Miguel Morano Júnior e como Co-Orientador o Prof. Dr. Eduardo Daruge Júnior, teve seu início em 01/06/1995 e término em 30/08/1996, antes da instalação do Comitê de Ética em Pesquisa, 19/09/1996, Portaria do Diretor 09/97, razão pela qual não foi submetido ao referido Comitê.

Piracicaba, 13 de Outubro de 1999.

Prof. Dr. Antonio Wilson Sallum  
DIRETOR