

A UTILIZAÇÃO DE HUMOR VÍTREO PARA ESTUDOS DO PONTO DE VISTA FORENSE: DESAFIOS E POSSIBILIDADES À PARTIR DA BIOMEDICINA FORENSE

USING VITREOUS HUMOR IN FORENSIC STUDIES: CHALLENGES AND POSSIBILITIES FROM THE PERSPECTIVE OF FORENSIC BIOMEDICINE

EL USO DEL HUMOR VÍTREO PARA ESTUDIOS FORENSES: RETOS Y POSIBILIDADES DESDE LA PERSPECTIVA DE LA BIOMEDICINA FORENSE

Marcos Tadeu Ellery Frota¹
Sebastião Lacerda de Lima Filho²
Manoel Odorico de Moraes Filho³

RESUMO: A pesquisa se configura como um trabalho experimental e busca construir informações sobre extração e coleta de material para análise genética de *humor vítreo* em corpos humanos, em estado de carbonização, especialmente no campo da coleta e estudos de DNA. O trabalho busca refinar a metodologia e a técnica de coleta desse tipo de substância oftalmológica de consistência gelatinosa e viscosa, formada em sua grande maioria por uma substância amorfa semilíquida, fibras e células, que por sua vez se encontra no segmento posterior, entre o cristalino e a retina, que, sob pressão, de modo a manter a forma esférica do olho. A partir de um estudo de caso apresentado nesta pesquisa, se busca proporcionar e discutir as possibilidades de pesquisa com esse tipo de elemento, já que sua aplicação pode ser amplamente feita na construção de perfis a partir de análises genéticas de vítimas, contribuindo assim, para o melhoramento de investigações e coletas desse natureza no campo da Biomedicina Forense e das Ciências Forenses de maneira mais ampla. O estudo de caso apresentado neste trabalho introdutório, permite que sejam traçados metas e recomendações complementares para pesquisas *in loco*, especialmente a partir de corpos frescos, carbonizados ou putrefeitos e em escala micro e macro de coleta e análise, que por sua vez, chegam à Perícia Forense do Estado do Ceará (PEFOCE), contribuindo para expansão das pesquisas no campo da Medicina Legal.

376

Palavras-chave: Humor vítreo. Coleta de amostras. Procedimentos Técnico- Operacionais (POP). Biomedicina e Toxicologia Forense. Genética Forense (DNA). Medicina Legal.

¹Médico Legista e Supervisor do Setor de Antropologia Forense (AF) da Perícia Forense do Estado do Ceará - PEFOCE e Doutorando em Medicina Translacional pelo PPGMDT-NPDM, Universidade Federal do Ceará (UFC). Professor da Faculdade de Medicina - UNIFOR.

²Doutor em Arqueologia, Pós-doutor em Antropologia. Doutorando em Medicina Translacional pelo PPGMDT-NPDM/UFC. Bacharelando em Biomedicina. Especialista em Antropologia Forense. Especialista em Investigação Forense e Perícia Criminal e Pós-graduando em Entomologia Forense. Pesquisador Assistente no Setor de Antropologia Forense da PEFOCE.

³Médico. Doutor em Oncologia pela University of Oxford-UK. Coordenador do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Medicamentos (NPDM) e do Programa de Pós-graduação em Medicina Translacional PPGMDT-NPDM da Universidade Federal do Ceará (UFC). Bolsista de Produtividade 1A do CNPq. Orientador dos dois primeiros autores junto ao PPGMDT-NPDM/UFC.

ABSTRACT: This research is an experimental study that aims to expand the existing knowledge base on the extraction and collection of material for genetic analysis of vitreous humor in human bodies, particularly in the context of DNA collection and studies. The objective of this study is to refine the methodology and technique for collecting this specific ophthalmic substance, which has a gelatinous and viscous consistency and is primarily composed of an amorphous semi-liquid substance, fibers, and cells. This substance is found in the posterior segment, between the lens and the retina, and under pressure, maintains the spherical shape of the eye. The objective of this case study is to present and discuss the potential applications of research with this particular element. Its use could be beneficial in the construction of profiles based on genetic analysis of victims, thereby contributing to the advancement of research and collections in the field of forensic biomedicine and forensic sciences. The case study presented in this introductory paper allows us to propose additional goals and recommendations for on-site research, particularly with regard to fresh bodies and at the micro and macro levels of collection and analysis. This includes charred or putrefied bodies that are received by the Forensic Expertise of the State of Ceará (PEFOCE), thereby contributing to the expansion of research in the field of forensic medicine.

Keywords: *vitreous humor*. sample collection; technical and operational procedures (POP). biomedicine and forensic toxicology. Forensic Genetics (DNA). forensic medicine.

RESUMEN: Esta investigación es un estudio experimental y busca construir informaciones sobre la extracción y colecta de material para análisis genético del humor vítreo de cuerpos humanos, en estado de carbonización, especialmente en el campo de la colecta y estudios de ADN. El trabajo busca perfeccionar la metodología y técnica de recolección de este tipo de sustancia oftalmológica, de consistencia gelatinosa y viscosa, constituida en su mayoría por una sustancia amorfa semilíquida, fibras y células, que a su vez se encuentra en el segmento posterior, entre el cristalino y la retina, que, bajo presión, mantiene la forma esférica del ojo. A partir de un estudio de caso presentado en esta investigación, se pretende presentar y discutir las posibilidades de investigación con este tipo de elemento, ya que su aplicación puede ser ampliamente utilizada en la construcción de perfiles basados en análisis genéticos de víctimas, contribuyendo así a la mejora de las investigaciones y colecciones de esta naturaleza en el campo de la Biomedicina Forense y de las Ciencias Forenses más ampliamente. El estudio de caso presentado en este trabajo introductorio nos permite trazar metas y recomendaciones complementarias para la investigación in situ, especialmente en cadáveres frescos y en una escala micro y macro de recolección y análisis, es decir, cadáveres carbonizados o putrefactos que llegan al Peritaje Forense del Estado de Ceará (PEFOCE), contribuyendo a la expansión de la investigación en el campo de la Medicina Legal.

Palabras clave: *Humor vítreo*. Recogida de muestras. Procedimientos Técnicos y Operativos (POP). Biomedicina y Toxicología Forense. Genética forense (ADN). Medicina Legal.

INTRODUÇÃO

O campo de pesquisa e contribuições das Ciências Forenses tem se tornado expressivo nos últimos 20 anos no Brasil, reflexo do desenvolvimento científico e tecnológico alcançado

pelo país, e por parte do interesse de diferentes segmentos e campos de atuação, que, por sua vez, contribuem para o fortalecimento das variadas áreas de interesse judicial e que podem auxiliar nas investigações criminais, periciais e de litígios (VELHO, GEISER & ESPINDULA, 2021). O refinamento e a diversidade de contribuições de muitos dos campos científicos demonstram as possibilidades investigativas em curso, mas também sugere espaços para novas linhas colaborativas de pesquisa. Logo, dentre esses setores, tais como Medicina Legal (Tanatologia Forense, Patologia Forense e/ou Traumatologia Forense), Biologia Forense, Química e Toxicologia Forense, Genética Forense, Antropologia Forense e também Entomologia Forense, também temos a atuação e contribuição da Biomedicina Forense, que busca – em seu bojo de atuação – congrega conhecimentos das Ciências Biológicas e do campo da Medicina, com o intuito de colaborar tanto na perícia quanto na resolução de litígios em diferentes espaços, setores e estâncias da sociedade. Segundo o GP MULTIVIX (2023), podemos caracterizar a Biomedicina Forense como

A biomedicina forense se concentra na aplicação de princípios científicos para a resolução de questões legais, contribuindo de maneira significativa para investigações criminais e processos judiciais. Nesse sentido, os profissionais utilizam seus conhecimentos em biologia molecular, genética, toxicologia, patologia, hematologia e outras disciplinas biomédicas para analisar evidências biológicas. Essas evidências podem incluir amostras de sangue, saliva, cabelo, tecidos e outros fluidos corporais, desempenhando um papel fundamental na solução de crimes” (GP MULTIVIX, 2023).

Para o Conselho Federal de Biomedicina – CFBM (2021), podemos definir a Biomedicina Forense como

[...] o ramo da biomedicina que se dedica à coleta, análise e interpretação de evidências biológicas e biomédicas no contexto forense. Os profissionais dessa linha de pesquisa combinam conhecimentos de biologia, química, genética e outras ciências para apoiar a investigação de crimes, identificar vítimas, e estabelecer vínculos entre suspeitos e cenas de crime, respaldando laudos e ampliando o fortalecimento da atuação judicial” (CFBM, 2021).

Logo, podemos considerar que o biomédico forense atua como uma ponte entre a ciência e a justiça, aplicando métodos científicos avançados para validar e interpretar as informações obtidas a partir das amostras biológicas. Essa contribuição é vital para a construção de argumentos robustos em processos judiciais, garantindo a integridade do sistema legal e a busca pela verdade, contribuindo dessa maneira para fortalecimento da justiça e da coesão social.

Dentre os vários de tipos de procedimentos e amostras que o biomédico pode coletar e/ou verificar, temos o *humor vítreo*, que por sua vez, fornece dados potenciais para identificação de elementos toxicológicos e também fornece dados sobre perfil genético de vítimas analisadas.

Assim, a coleta desse tipo de material, sua análise e interpretação, especialmente em um contexto legal, aliado a outros elementos como sangue, saliva, cabelo, tecidos e outros fluidos corporais são de extrema relevância para confirmação de uma identidade ou auxiliar em questões relacionadas a causa da morte e/ou tempo de morte, muito especialmente levando em consideração sua aplicação em contextos de DNA forense e verificação de tipagem.

Portanto, o que se constata no que se refere a coleta, manejo e utilização do *humor vítreo* na área forense, é que sua aplicação está majoritariamente direcionada para análises toxicológicas em vez de análises bioquímicas e imunológicas, que terminam sendo, atualmente um campo promissor e necessário de pesquisa. Mesmo porque, estudos têm investigado as propriedades bioquímicas do *humor vítreo* pós-morte, relacionando-as a doenças preexistentes e determinando o intervalo post-mortem (IPM), comparando amostras e conjuntos de amostras em escalas micro e macro de pesquisa. A explicação para isso é porque o *humor vítreo* se configura como um fluido relativamente isolado e protegido, sofrendo menos degradação em comparação com outros fluidos corporais (ČANOVIĆ et. al., 2024).

Dessa maneira, e embora a escassez de células no *humor vítreo* possa limitar a tipagem de DNA, alguns estudos forenses têm explorado essa área para identificar perfis genéticos e o resultados tem se mostrado promissores. Porém, essa prática ainda é escassa devido à dificuldade na obtenção de material genético suficiente, tornando-o menos frequente em comparação com outras amostras biológicas mais ricas em células, como sangue ou tecidos. O foco no *humor vítreo* em toxicologia, como campo maior de utilização, se deve à sua estabilidade e à resistência à contaminação, o que o torna uma fonte confiável para detectar substâncias químicas e metabólitos após a morte.

Dessa forma, esse trabalho busca apresentar algumas possibilidades de aplicação e utilização dessa substância, na esperança de colaborar com os avanços no campo da Biomedicina e sua relação direta com as Ciências Forenses e com a Medicina Legal. Pesquisas dessa natureza fortalecem os campos de conhecimentos acima mencionados e amplia o quadro de dados para projetos comparativos e em diferentes contextos de investigação na realidade brasileira.

CONTEXTO TEÓRICO E MÉTODO

BREVE CARACTERIZAÇÃO DO HUMOR VÍTREO E SUA APLICAÇÃO EM ESTUDOS FORENSES

As análises bioquímicas realizadas a partir da coleta, análise e caracterização da substância *humor vítreo* (HV), tem se mostrado produtivas, se alcançadas do ponto de vista da Toxicologia Forense e da Biomedicina Forense, sendo carente, ainda, no campo da genética forense – extração e verificação do DNA a partir da coleta e manejo dessa substância. Elas têm sido verificadas para identificação e procedimentos relacionados majoritariamente às questões *post-mortem* ajudando a determinar a causa de morte e a estimar o intervalo *post-mortem* (IPM), assim como a elucidar casos de interesse judicial e criminal (forense). Mesmo porque, o *humor vítreo* (HV) enquanto substância gelatinosa que preenche a cavidade posterior do globo ocular, tendo como função manter a estrutura e estabilidade do olho, tal como apoiar a retina, mantendo-se assim transparente de forma à luz poder difundir-se livremente atravessando-a. Sua contribuição precisa ser colocada em dosagem com suas limitações, mas que por si mesma são de importância positiva para diferentes estudos de casos em contexto brasileiro, por exemplo (CARAPITO, RODRIGUES & COELHO, 2021; DUTRA & FERREIRA, 2018; LIMA & MÍDIO, 1997; FELBY & OLSEN, 1959)

380

Entendemos o *humor vítreo*, nesta pesquisa, como o gel transparente que preenche a cavidade interna do olho, e que pode ser considerada uma amostra biológica de grande relevância em estudos e análises forenses, especialmente no campo da Biomedicina Forense e da Medicina Legal.

Sobre sua relevância em pesquisas forenses, os toxicologistas Profa. Dra. Irene V. de Lima e Prof. Dr. Antonio F. Mídio nos diz que

Segundo Felby & Olsen, desde 1959 o humor vítreo é objeto de investigação em Medicina Legal. Análises de eletrólitos, glicose e compostos nitrogenados têm sido utilizadas como parâmetros, desde então, no sentido de estabelecer intervalo *post mortem* ou correlacionar alterações detectadas nos níveis desses constituintes com algumas patologias ante mortem” (LIMA & MÍDIO, 1997).

O curioso é que embora já existam alguns estudos pontuais sobre tal utilização ainda nos anos de 1950-1960 em países como Estados Unidos e na Europa, muito pouco desse tipo de aplicação e análises foram feitas no caso brasileiro. Embora, a toxicologia forense no país apresente uma tradição de pesquisa e aprofundamento em muitos campos, investigações que

dedicassem atenção ao *humor vítreo* sempre foram muito escassas no passado. Uma realidade bem diferente pelo que pode ser verificado no presente. Isso tem a ver não apenas pela ampliação do campo forense, mas sobretudo pela inserção de outras áreas do conhecimento, especialmente a Biomedicina Forense, que mesmo sendo um campo de trabalho/pesquisa novo, ainda sim pode fornecer muita contribuição para trabalhos dessa natureza (DUTRA & FERREIRA, 2018).

LIMA & MÍDIO (1997) no artigo de leitura obrigatória sobre o tema, intitulado “**O uso do humor vítreo nas análises toxicológicas forenses**”, nos diz ainda que o uso do *humor vítreo* em investigações toxicológicas, por exemplo, se fortalece por oferecer uma série de vantagens, dentre elas, destacamos: facilidade de obtenção; condição do globo ocular estar em local anatomicamente isolado e protegido tem como consequência a preservação desse espécie a despeito de traumas cranianos, estando muito menos sujeito à contaminação ou putrefação comparativamente ao sangue e fluido cerebrospinal; apresenta boa estabilidade química; facilidade no manuseio, ou seja, adere-se pouco ao vidro ou a material plástico; é matriz bem menos complexa que o sangue total. Sua aplicação é de forma ampla e diversificada.

Para além das vantagens sugeridas pelos autores acima, também é possível constatar, segundo informações disponíveis nos trabalhos de CARAPITO, RODRIGUES & COELHO (2021), VELHO, GEISER & ESPINDULA (2021), DUTRA & FERREIRA (2018), LIMA & MÍDIO (1997); FELBY & OLSEN (1959), GP MULTIVIX (2023) & CFBM (2021), que investigações que dedicam atenção à coleta, análises e interpretações a partir do *humor vítreo* são essenciais numa série de procedimentos, uma vez que atuam na organização e sistematização de Procedimentos Operacionais Padrões (POP's), usados tanto no campo da Medicina Legal, na Biomedicina e na Toxicologia Forense, por exemplo. Logo, o *humor vítreo* pode ser considerado como uma espécie de amostra privilegiada em relação à muitas outras que podem ser coletadas em corpos frescos, carbonizados ou putrefeitos, justamente, por sua inquestionável utilidade em investigações *post mortem*.

Portanto, os autores CARAPITO, RODRIGUES & COELHO (2021), VELHO, GEISER & ESPINDULA (2021), DUTRA & FERREIRA (2018), DIAS FILHO & FRANCEZ (2018), MONTEFUSCO-PEREIRA & PINTO (2016), LIMA & MÍDIO (1997); FELBY & OLSEN (1959), GP MULTIVIX (2023) & CFBM (2021), sugerem campos de atuação e focos de direcionamentos da pesquisa com esse tipo de material biológico. A tabela abaixo (Tab. 01),

apresenta os principais espaços de pesquisa constatados a partir das leituras e reflexões a partir dos autores acima. É oportuno considerar que, mesmo em tais campos, há uma aplicação do ponto de vista dos desafios e possibilidades reflexivas. Quer dizer, mesmo que os espaços ou grupos de trabalhos investigativos, verificados em cada contexto, não se pode desconsiderar as limitações dos métodos e técnicas utilizados, sejam no campo de definição do objeto de pesquisa, seja na coleta, análise, interpretação e reflexão dos dados. Mesmo no campo da Biomedicina e/ou da Toxicologia Forense, e ainda no campo da medicina legal, é importante construir procedimentos técnicos operacionais que permitam confiabilidade dos dados levantados e sua posterior aplicação no campo das ciências forenses.

A tabela 01, reflete uma parcela pequena de utilização e potencialidades de estudo do *humor vítreo*. Trabalhos complementares e em outros campos da ciência de maneira mais ampla, poderão fornecer outros dados para compreensão dos limites e avanços na utilização do *humor vítreo*. Logo, o que se verifica na etapa atual de pesquisa e de uma forma nacional é:

Tabela 01: Possibilidades de utilização do *humor vítreo* em pesquisas forenses.

<p>Estimativa do Tempo de Morte – IPM</p>	<p>No campo do IPM, se verifica sua utilização:</p> <p>a. Equilíbrio Eletrolítico: Após a morte, ocorrem alterações nos níveis de eletrólitos, como potássio, sódio e cloreto, no <i>humor vítreo</i>. O potássio, por exemplo, tende a aumentar com o tempo, e sua medição pode ser utilizada para estimar o intervalo post-mortem (IPM), ou seja, o tempo decorrido desde a morte até a análise. A taxa de aumento do potássio no <i>humor vítreo</i> é relativamente constante, o que torna essa análise uma ferramenta valiosa na Biomedicina, Toxicologia e na Medicina Legal.</p> <p>b. Temperatura Corporal: Em conjunto com a temperatura corporal, a análise do <i>humor vítreo</i> pode fornecer uma estimativa mais precisa do tempo de morte, especialmente em casos em que outros métodos são limitados.</p>
	<p>No campo da detecção de prováveis toxinas e drogas no organismo da vítima, se verifica:</p>

⁴ Os autores foram consultados para esse artigo prévio em particular e podem ser verificados no *corpus* do trabalho e posteriormente nas referências. Existem muitos outros autores que discutem a utilização do *humor vítreo* em outros estudos de casos, mas, consideramos tais autores aqui citados pela contribuição realizada tanto na ciência nacional e/ou por sua colaboração na formação de biomédicos forenses, toxicologistas forenses, geneticistas e médicos legistas em território nacional. O estudo de caso aqui apresentado não pretende ser exaustivo, mas apenas ilustrativo. Informações como nomes das vítimas e situações relacionadas serão alteradas para proteger a integridade dos mesmos e dos procedimentos decorrentes do ponto de vista investigativo/criminal.

<p>Deteção de toxinas e drogas <i>in loco</i></p>	<p>a. Substâncias Químicas: O <i>humor vítreo</i> pode ser utilizado para detectar a presença de substâncias tóxicas, drogas ou medicamentos. Por ser uma amostra menos sujeita a contaminação pós-morte em comparação com o sangue, a análise do <i>humor vítreo</i> pode fornecer resultados mais confiáveis em toxicologia forense e biomedicina forense, por exemplo.</p> <p>b. Interpretação desses resultados: A concentração de substâncias no <i>humor vítreo</i> pode ajudar na interpretação dos efeitos dessas substâncias no momento da morte, contribuindo para a determinação da <i>causa mortis</i> e suas implicações do ponto de vista criminal.</p>
<p>Estudos metabólicos Post-Mortem</p>	<p>Após a morte, ocorrem mudanças metabólicas no corpo que podem ser monitoradas através do <i>humor vítreo</i>. Estudos sobre essas alterações podem auxiliar na compreensão dos processos que ocorrem no período <i>post-mortem</i> e melhorar as estimativas do tempo de morte e a <i>causa mortis</i>. Implicações legais positivas do ponto de vista investigativo e funcional.</p>
<p>Outros parâmetros bioquímicos (<i>Glicose, Ureia e Creatinina</i>)</p>	<p>A análise de outros parâmetros bioquímicos, como níveis de glicose, ureia e creatinina, pode fornecer informações sobre condições patológicas do indivíduo antes da morte, como diabetes ou insuficiência renal, que podem ser relevantes para a determinação da <i>causa mortis</i>.</p>

(Fonte: Elaboração dos autores baseado na literatura científica disponível sobre o tema).

Portanto, existe uma espécie de confiabilidade e preservação dessas amostras, sejam no campo da Biomedicina Forense, da Toxicologia Forense e também no campo geral da Medicina Legal. Mesmo porque, o *humor vítreo* atua como uma espécie de amostra relativamente isolada e bem preservada, o que o torna um material ideal para análises forenses, especialmente em casos em que outras amostras biológicas estão degradadas. Assim, todas as áreas científicas citadas acima, terminam por utilizar essas análises para complementar a necropsia e fornecer dados que são cruciais para investigações criminais. E, conseqüentemente, os resultados dessas análises são frequentemente utilizados em investigações legais e em tribunais para apoiar ou refutar hipóteses relacionadas à causa e ao tempo de morte de um indivíduo e/ou indivíduos.

Em se tratando da coleta, existem alguns procedimentos que devem ser levados em consideração para garantir o rigor durante a extração do *humor vítreo*, seu acondicionamento e posterior análise, a depender do objetivo por parte do pesquisador ou profissional. Nas imagens abaixo, apresentaremos parte desses procedimentos aplicados a coleta de *humor vítreo* partir de

corpos carbonizados, mas esclarecemos que sua aplicação se estende para outros contextos, a citar corpos frescos e/ou corpos em estado de putrefação.

Assim, definimos um corpo carbonizado como aquele que foi exposto a temperaturas extremamente altas, resultando em uma queima significativa dos tecidos, pele, músculos e até ossos, de tal forma que a aparência original do corpo é severamente alterada ou destruída. Essa condição ocorre geralmente em situações como incêndios, explosões, ou em tentativas deliberadas de ocultar evidências após um crime. No campo da Medicina Legal e da Biomedicina Forense, a análise de corpos carbonizados envolve a busca por qualquer traço remanescente que possa ajudar na identificação da vítima, na determinação da causa da morte, e na compreensão das circunstâncias que levaram à carbonização do corpo, seja ele de forma individual ou coletiva. Exames toxicológicos, antropológicos, análise do ambiente ao redor do corpo (estudos entomológicos) e outras investigações científicas são essenciais para fornecer respostas em tais procedimentos e casos (CARRERA PALAO, 2016).

Em se tratando dos procedimentos, realizamos os seguintes (Figuras 01, 02, 03 e 04), escolha do corpo para coleta do *humor vítreo*, neste caso foi definido como objeto de estudo um corpo feminino, carbonizado vítima de um acidente em um imóvel, ocorrido no presente ano de 2024, em Fortaleza – CE. Na ocasião, se utilizou uma seringa esterilizada para inserção no glóbulo ocular e extração da substância viscosa.

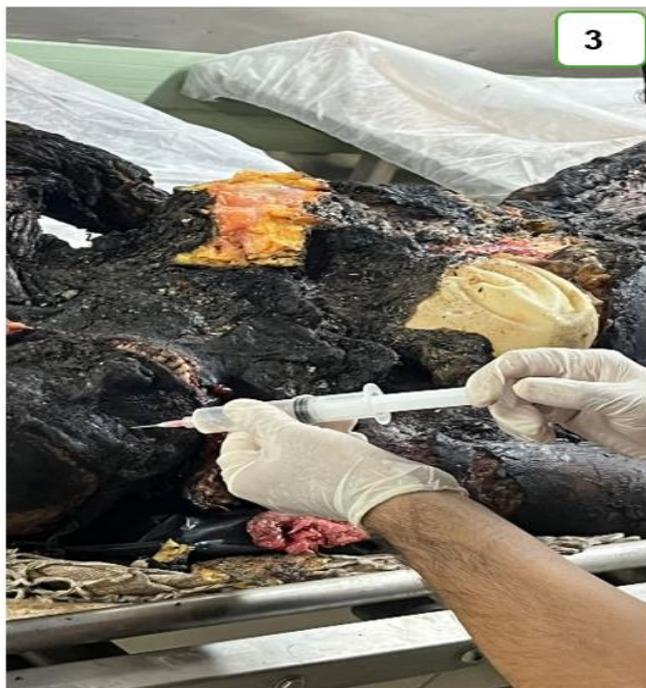
384

A amostra de *humor vítreo* foi inicialmente coletada, neste estudo preliminar, a partir de um único corpo que chegou para procedimentos médico-legais com tempo de 48h. O espécime de *humor vítreo* foi coletado por punção no globo ocular direito e por um ângulo externo a aproximadamente 10 mm do nimbo da córnea com agulha de seringa estéril de 1 mm de diâmetro em uma seringa de 10 ml. Foi retirado aproximadamente 4 ml de substância. É oportuno esclarecer que esse material foi devidamente acondicionado em tubo de ensaio Vacutainer adequado e encaminhado para o Setor de Genética Forense da PEFOCE.

Nas imagens abaixo, se observa parte desses procedimentos, que servirão posteriormente às análises.

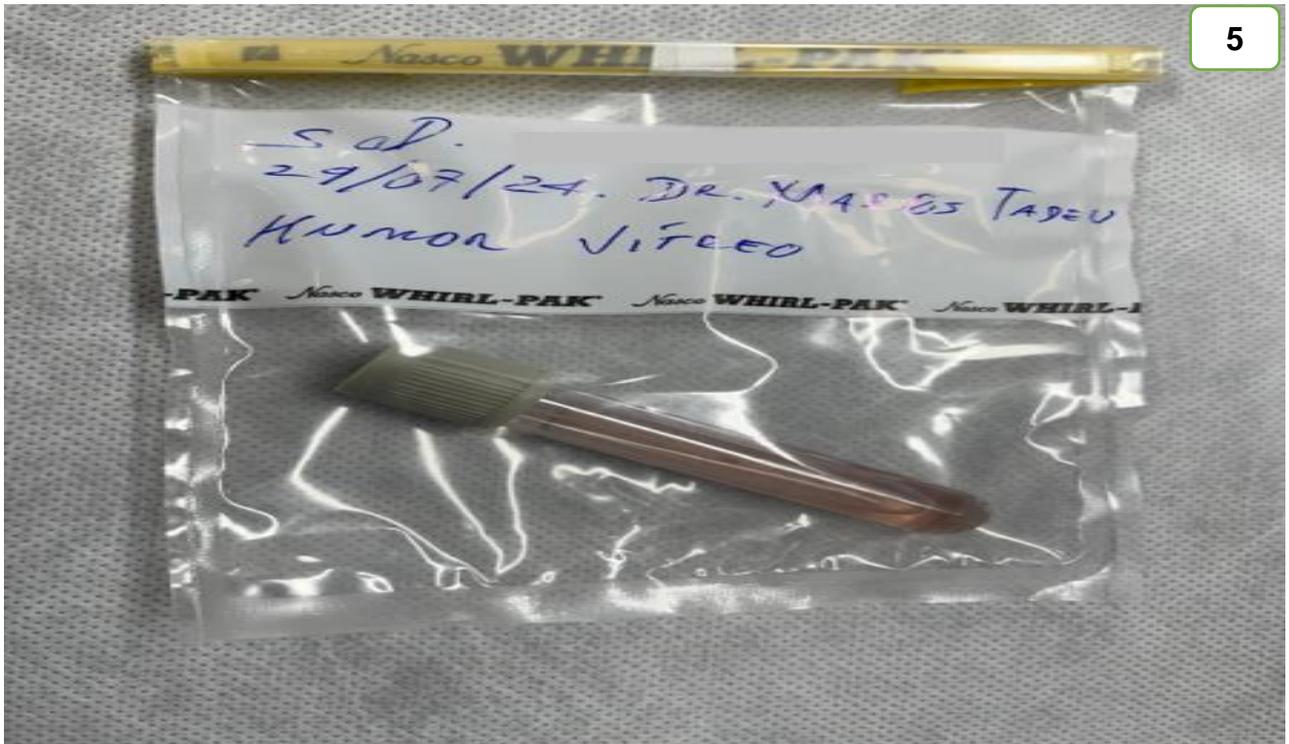


(Fonte: Banco de Dados da Pesquisa, 2024)



(Fonte: Banco de Dados da Pesquisa, 2024)

Na figura 05, podemos verificar o material já coletado, acondicionado em vasilhame adequado do tipo tubo de ensaio Vacutainer e disponível para as análises específicas do ponto de vista da Biomedicina Forense, Toxicologia Forense, Genética Forense e da Medicina Legal.



(Fonte: Banco de Dados da Pesquisa, 2024)

Já no campo da coleta para utilização do ponto de vista do DNA forense (genética forense), autores como Ireneusz Sotyszewski e colaboradores em artigo intitulado **“Vitreous humour as a potential DNA source for postmortem human identification”** (2007), nos diz que a aplicação é mais que necessária pelo potencial do material disponível e também pela ausência de trabalhos que amadureçam a coleta, análise e discussão dos dados oriundos desse tipo de material, mas que é muito importante verificar os procedimentos metodológicos e técnicos/operacionais realizados durante a coleta e tratamento das amostras, assim como sugerem e refletem sobre o tipo de corpos e estados cadavéricos dos mesmos, frente a produção de dados. Em tempo, chamam atenção para o cuidado em se verificar e impedir a contaminação de amostras, seja tanto durante o procedimento de retirada aplicação da agulha na globo ocular e extração da substância gelatinosa, seja no transporte, manejo e interpretação das informações em etapas subsequentes. Para eles

Postmortem changes are correlated with extrinsic and intrinsic conditions including age and weight, antemortem diseases and injuries. DNA typing as well as ethanol level determination in severely decomposed bodies is often difficult due to water loss from the

circulatory system, putrefaction and autolytic processes. The authors attempted to assess vitreous humour as an alternative DNA source in genetic identification of human corpses and remains and in verification of toxicologic samples origin” (Sotyszewski et. al., 2007)

Também, pela literatura consultada, poucos estudos têm sido desenvolvidos a respeito da detecção de ácido desoxirribonucleico (DNA) no humor vítreo como forma de identificação de cadáver. Refletivo sobre isso, Sotyszewski e colaboradores (2007) consideram que os resultados obtidos apenas do humor vítreo não são suficientes como fonte segura de DNA. Também, reconhecem que a fiabilidade desses resultados podem variar muito se for levado em conta a técnica de detecção utilizada, já que o DNA encontrado pode resultar, por exemplo, de uma possível contaminação microbiana. Felizmente, a genética forense tem avançado nesse tipo de verificação e segurança de análise de amostras, e pelo que se estuda nos dias atuais, já existe um consenso maior acerca da efetiva aplicação e os resultados seguros de análise do humor vítreo para fins forenses de verificação do DNA de corpos, sejam eles putrefatos, macerados e/ou carbonizados.

Em um trabalho muito importante recentemente publicado na *Forensic Science, Medicine and Pathology* (janeiro de 2024), intitulado **“The use of vitreous humour as a potential source of DNA for postmortem identification in forensic Science”**, a Profa. Dra. Vanja Čanović e colaboradores nos diz que

Vitreous humour (VH) is routinely collected for toxicological analyses. However, only a few studies have examined its possible use in genotyping. Because of its isolation from the rest of the body, later onset of postmortem changes, and availability, VH could be a potential source of DNA for postmortem identification and other molecular analyses in forensic genetics. During forensic autopsies, samples of different VH volumes (5 ml, 4 ml, 3 ml, 2 ml, 1 ml, and 0.5 ml) were taken from 66 cadavers 24–48 h after death. DNA was also isolated from the samples immediately after collection and after a specific time of storage (1, 2, and 6 months). DNA was isolated using phenol–chloroform–isoamyl alcohol (PCI), and the yield and purity of the obtained DNA were determined spectrophotometrically using a FastGene NanoView Photometer. The integrity of the isolated DNA molecule was determined by PCR amplification of the hTERT (113 bp) gene. The results showed that VH could be a reliable source of genetic material for forensic analysis, and the method used for DNA extraction was effective. The yield of the isolated DNA ranged from 6.20 to 609.5 ng/μl, and the purity of the samples was 1.24–2.34. The isolated DNA concentration and integrity depend on the sample volume, but the DNA purity does not. It is also shown that DNA can be extracted from VH samples that have been stored for up to 6 months at –20 °C. Therefore, using VH can be a valuable material for DNA identification” (ČANOVIĆ et. al., 2024)

De forma sintetizada, os autores consideram que o uso de humor vítreo como fonte de DNA pode oferecer várias vantagens em relação a outros tecidos, além da estabilidade da integridade do DNA, concentração e pureza do DNA após o arquivamento a $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$ por até até 6 meses oferece uma vantagem considerável para os profissionais forenses, especialmente em casos com alterações de putrefação, uma realidade amplamente verificada, também no necrotério da PEFOCE, se levarmos em conta a quantidade e diversidade de corpos que chegam em diferentes estados de decomposição. Sendo, um espaço muito produtivo para coleta de amostras e organização de um banco de dados onde se caracterize diferentes estados de decomposição e logo se organize fichas classificatórias para interpretação e refinamento das análises. É importante observar que esses resultados contribuem para a compreensão da extração de DNA no campo da amostragem de *humor vítreo* e enfatizam a importância de considerar o volume da amostra e a duração do armazenamento no que tange a obtenção de resultados ideais em aplicações forenses como na Biomedicina Forense, na Toxicologia Forense e nos campos das Ciências Forenses e da Medicina Legal de maneira mais ampla.

DISCUSSÃO E CONSIDERAÇÕES FINAIS

388

Trabalhos que agreguem diferentes campos de atuação científica são extremamente válidos para a Justiça e para a investigação criminal (forense). Em se tratando de procedimentos operacionais para coletas de amostras, por exemplo focado em substância como o *humor vítreo*, podem ser de grande relevância para variados estudos do ponto de vista forense. Mesmo porque, esse tipo de material desempenha um papel significativamente importante na manutenção e conservação de várias toxinas e momentos particulares do corpo. Sendo, portanto, fonte de dados proveitosos para biomédicos forenses, toxicologistas forenses, geneticistas e ainda para médicos legistas de maneira geral, agregando dados promissores e seguros às análises variadas realizadas durante um exame de necropsia e de medicina legal.

Na biomedicina forense, por exemplo, análises dessas substâncias podem servir para rastreio, constatação e verificação de biomarcadores que, por sua vez, indicam a presença de doenças sistêmicas ou neurodegenerativas, ocasionadas de forma hereditárias e/ou através do abuso excessivo de drogas (sejam elas lícitas ou ilícitas). Isso inclui, portanto, a pesquisa de

substâncias químicas ou proteínas específicas que podem estar associadas a condições como diabetes, Alzheimer, Parkinson, entre outras.

No campo, da Toxicologia Forense, investigações do *humor vítreo* podem servir de suporte valioso para a detecção de drogas, álcool, venenos e outras substâncias tóxicas na estrutura craniana, por exemplo. Uma das razões para isso é que o *humor vítreo* é menos suscetível à contaminação e decomposição *post-mortem* em comparação com outros fluidos corporais, como o sangue. Assim, além de detectar substâncias parentais (como uma droga), o humor vítreo também pode ser analisado para detectar os metabólitos dessas substâncias, o que pode fornecer informações sobre o tempo e o tipo de exposição.

No campo de aplicação da Genética Forense, se verifica que análises sobre o uso do *humor vítreo* tem se mostrado como suporte e amostras potenciais para identificação de vítimas e auxiliar no campo investigativo de corpos e exames médico-legais, sendo, portanto, uma das vantagens do *humor vítreo* em comparação a outros fluidos corporais devido ao seu isolamento pela barreira hemato-retiniana, o que o protege de degradação pós-morte, contaminação bacteriana e influências ambientais, contradizendo e sugerindo outros caminhos para além do que havia colocado por Sotyszewski e colaboradores em 2007, demonstrando que os avanços tecnológicos e metodológicos/operacionais refinaram muitos dos procedimentos seja de coleta, análise, armazenamento e interpretação dos dados a partir do *humor vítreo* na genética forense. Portanto, essas características e avanços tornam esse tipo de substância gelatinosa menos suscetível a alterações que normalmente ocorrem em outros fluidos, tornando-o uma opção viável para a coleta de amostras em autópsias e conseqüentemente seus estudos comparativos genéticos.

No entanto, não deixa de ser relevante, verificar também as limitações do uso do *humor vítreo* para análise genética. A principal dificuldade, pela literatura consultada, é o volume limitado da amostra, que geralmente é de 2 a 3 ml por olho em adultos, dificultando a obtenção de células suficientes para a extração de DNA. Além disso, substâncias presentes no *humor vítreo*, como sais e proteínas, podem interferir no processo de amplificação da reação em cadeia da polimerase (PCR), resultando em baixo rendimento ou degradação do DNA, o que pode comprometer a análise. De forma sucinta, entre os prós e os contras, o que se constata é que existe uma boa viabilidade de utilização do humor vítreo como fonte de identificação de DNA

para análise forense, investigando o volume mínimo necessário para extração e o impacto do armazenamento em baixas temperaturas (-20°C), o que já se mostrou positivo no campo da conservação das amostras por até 6 meses e a qualidade e integridade do DNA ao longo do tempo.

Logo, esse campo de aplicação do ponto de vista da genética forense é relevante, já que poucos estudos anteriores exploraram o uso do *humor vítreo* para fins forenses, particularmente em análises genéticas, e pode fornecer informações valiosas para a área forense a curto, médio e longo prazo. Mesmo porque, estamos de acordo com o que esclarece a Profa. Dra. Vanja Čanović e colaboradores (2024), quando consideram que

A capacidade dos laboratórios forenses de realizar a genotipagem de cadáveres putrefatos não identificados ainda é um desafio, e eles geralmente usam ossos e dentes para isso. Hoje, além de ossos e dentes, outros tipos de amostras biológicas estão sendo buscados, que são mais fáceis de coletar, transportar e armazenar. O humor vítreo é adequado para análise forense porque é facilmente acessível e topograficamente isolado do resto do corpo e dos vasos sanguíneos da retina, tornando-o menos suscetível a alterações autolíticas e putrefativas. Além disso, devido ao seu isolamento, é menos suscetível à contaminação bacteriana e à influência de fatores externos, como temperatura e umidade. Usando DNA isolado do humor vítreo, seria possível determinar o perfil de DNA de cadáveres não identificados, bem como vítimas de desastres em massa nos estágios iniciais de decomposição e quando nenhum outro material biológico está disponível” (ČANOVIĆ et. al., 2024).

Logo, fica claro que os estudos atuais sobre a possibilidades de aplicação do humor vítreo para verificação do DNA é um caminho produtivo, já que se constata que o DNA pode ser isolado de apenas 0,5 ml de humor vítreo até amostras maiores, como por exemplo e recomendado se usar 5 ml ou 4 ml da substância para isolar DNA de boa qualidade. Também, o material apresenta uma conservação extremamente positiva, uma vez que pode ser armazenado por até 6 meses a -20°C sem alterações significativas na qualidade das amostras e por sua vez se configura como suporte valioso para genotipagem de DNA.

Do ponto de vista da Medicina Legal, merecem destaque sua aplicação para sugerir e verificar a estimativa do tempo de morte (TDM). Uma vez que, após tal evento, os níveis de potássio no *humor vítreo* aumentam de forma constante, e esse parâmetro pode ser usado para estimar o intervalo *post-mortem*. Outros íons e substâncias também podem ser analisados para apoiar essa estimativa. Além do TDM, a análise do *humor vítreo* pode ajudar a determinar a causa de morte, especialmente em casos de envenenamento, overdose, ou doenças metabólicas,

mesclando, assim, dados da Biomedicina Forense e da Toxicologia Forense. A concentração de eletrólitos, glicose, e outras substâncias pode fornecer pistas cruciais para o legista em seu exame completo, rastreando com isso os fatores e elementos que podem ter colaborado para o óbito da vítima.

Por fim, se constata que a coleta, análise e discussão dos dados obtidos, através do uso do *humor vítreo*, nas análises forenses é, portanto, uma ferramenta crucial para a Biomedicina e para a Toxicologia Forense, para a Genética Forense (devido aos seus avanços e estudos atuais), quanto para as investigações gerais por parte da Medicina Legal. Fornecendo, assim, informações essenciais que podem influenciar significativamente os resultados das investigações. Logo, se configura como uma ferramenta e um meio produtivo valioso, dinâmico e também versátil seja no campo da qualidade e quantidade, bem como conservação e permanência, com aplicações cruciais em muitos campos das Ciências Forenses de forma mais ampla, contribuindo para a compreensão de condições médicas e a resolução de casos legais de repercussão ou não do ponto de vista social.

AGRADECIMENTOS E FINANCIAMENTO

Os autores agradecem a equipe de trabalho do Setor de Antropologia Forense, da Coordenadoria de Medicina Legal (COMEL), da Perícia Forense do Estado do Ceará (PEFOCE). Agradecimentos especiais ao assistente de Necropsia e advogado Sr. José Nunes A. de Carvalho e a Secretária do setor, Sra. Alice L. da Silva. Muitos desses trabalhos só acontecem graças à dedicação dessa equipe tão competente e coerente nos procedimentos operacionais padrões diários. Também, é oportuno agradecer à Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico – FUNCAP, pela bolsa de doutorado concedida ao segundo autor desse trabalho e cuja pesquisa vem sendo realizada no PPGMDT-NPDM/Universidade Federal do Ceará – UFC.

REFERÊNCIAS

1. CARRERA PALAO, Rosale. **Tratado General de Medicina Legal Ilustrado**. Barcelona, editora Aldo Editores Importadores, 1ª Ed., 2016.

2. ČANOVIĆ, Vanja; SLOVIĆ, Živana; TODOROVIĆ, Danijela; TODOROVIĆ, Miloš; ANDRIĆ, Ivana; RADOJEVIĆ, Dušan; ILIĆ, Milena; VITOŠEVIĆ, Katarina. **The use of vitreous humour as a potential source of DNA for postmortem identification in forensic Science.** Forensic Science, Medicine and Pathology, Springer, 2024.
3. CALACAL GC, Apaga DLT, Salvador JM, Jimenez JAD, Lagat LJ, Villacorta RPF, et al. **Comparing different post-mortem human samples as DNA sources for downstream genotyping and identification.** Forensic Sci Int Genet. 2015;19:212–20.
4. CARAPITO, Angela; RODRIGUES, Francisco & COLEHO, Patrícia. **A Importância do Humor Vítreo em Análises Post-Mortem.** Revista Científica da Escola Superior de Saude Dr. Lopes Dias: ANO III, VOL VI, Nº2. NOVEMBRO 2021.
5. CONSELHO REGIONAL DE BIOMEDICINA (CFBM). **Qual é o papel do Biomédico na perícia e quais as possibilidades de atuação?** Brasília, 2021.
6. DIAS FILHO, Claudemir Rodrigues & FRANCEZ, Pablo Abdon da Costa (Organizadores). **Introdução à Biologia Forense.** Brasília, 2ª edição, 2018.
7. DIAS FILHO, Claudemir Rodrigues; RODRIGUES, Eduardo Leal; MALAGHINI, Marcelo; FRANCEZ, Pablo Abdon da Costa & GARRIDO, Rodrigo Grazinoli (Organizadores). **Introdução à Genética Forense.** Brasília, Editora Millenium, 1ª Edição, 2020.
8. FELBY, S. & OLSEN, J. **Comparative studies of postmortem barbiturate and meprobamate in vitreous humor, blood and livier.** Journal Forensic Science. Philadelphia-USA, 14:414-507, 1969.
9. JÚNIOR, J. C. S. **Novas técnicas analíticas aplicadas a drogas de abuso presentes em humor vítreo.** UNICAMP. Campinas, 2014.
10. LIMA, Irene V. de.; MÍDIO, Antonio F. **O uso do humor vítreo nas análises toxicológicas forenses.** Revista Saúde, Ética e Justiça, Vol, 02, 1997.
11. MONTEFUSCO-PEREIRA, Carlos Victor & PINTO, Luciana de Matos Alves. **El humor vítreo como fluido biológico de importancia clínica en ciencias forenses.** ACTA Bioquímica Clínica Latinoamericana, Vol. 50 n*.1 La Plata, março de 2016.
12. MULTIVIX: **Biomedicina forense: o que é e como ingressar na carreira. 2023.**
13. RODRIGUES, Gabriela Souza Dutra; SILVA, Rafael Ferreira. **Análise do humor vítreo na Toxicologia Forense.** In. <http://ensaios.usf.edu.br>. 2018.
14. SOTYSZEWSKI, Ireneusz; NIEMCUNOWICZ-JANICA, Anna; PEPIŃSKI, Witold, SPÓLNICKA, Magdalena; ZBIEC, Renata; JANICA, Jerzy. **Vitreous humour as a potential DNA source for postmortem human identification.** FOLIA HISTOCHEMICA ET CYTOBIOLOGICA Vol. 45, No. 2, 2007 pp. 135-136.
15. VELHO, Jesus Antonio; GEISER, Gustavo Caminoto & ESPINDULA, Alberi. **Ciências Forenses - Uma Introdução as Principais Áreas Da Criminalística.** Brasília, Editora Millenium, 4ª Edição. 2021.