

O USO DO HUMOR VÍTREO NAS ANÁLISES TOXICOLÓGICAS FORENSES

Irene Videira de LIMA¹, Antonio Flávio MÍDIO²

Lima, I.V., Mídio, A.F. O uso do humor vítreo nas análises toxicológicas forenses. *Saúde, Ética & Justiça*, 2(2):102-8, 1997

Resumo: O artigo descreve a constituição química *posmortem* do humor vítreo humano, a cronologia do uso desse fluido biológico na análise de diversos toxicantes e as características e vantagens de seu uso nas análises toxicológicas com finalidade forense.

Unitermos: Corpo Vítreo. Toxicologia/legislação & jurisprudência. Toxicologia/métodos.

1 Introdução

Segundo Felby & Olsen²¹, 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*^{1,5,6,18,21,29,30,41}.

Embora intervalos de concentração de inúmeros componentes fisiológicos, em diversos fluidos humanos principalmente no sangue e seus derivados, estejam bem definidos através de estudos clínicos, alterações irregulares impedem determinar e definir intervalos normais de concentração desses constituintes no sangue *post mortem*, bem como de outros fluidos biológicos. Essas alterações são devidas à autólise de

membrana do eritrócito e do endotélio vascular, permitindo liberação de material intracelular para o sistema vascular, com conseqüente alteração dos valores normais³⁰.

Em virtude de sua posição anatomicamente isolada e de pouco contato com material passível de autólise, o humor vítreo ocular é o fluido biológico menos sujeito às alterações químicas dentre os comumente obtidos para análise *post mortem*^{15,23,30}. Tem sido objeto de estudo por inúmeros pesquisadores, na tentativa de se verificar alterações bioquímicas existentes *ante mortem* e correlacioná-las com diversas patologias na determinação da *causa mortis*, bem como determinar o tempo de morte da vítima, entre outras situações^{1,5,13,14,15,16,17,32,40,41}. Some-se a isso, também, o seu uso crescente nas análises toxicológicas^{2,3,8,9,11,12,18-26,28,31,33,36,38,39,43-5}.

¹ Prof. Adjunto de Toxicologia das Faculdades Oswaldo Cruz. Perito Criminal Toxicologista do Instituto Médico Legal do Estado de São Paulo.

² Prof. Titular de Toxicologia da Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Universidade de São Paulo.

Endereço para correspondência: Rua Ouvidor Portugal, 564. Apto. 3. 01551-000 - São Paulo - SP.

2 Constituição química do humor vítreo

Ao contrário de outros fluidos biológicos, não há valores normais disponíveis na literatura dos componentes fisiológicos para humor vítreo através de estudos clínicos. Os valores normais presumíveis devem ser obtidos da extrapolação dos valores *post mortem* ou de estudos em animais de experimentação e de poucos estudos de valores questionáveis de olhos enucleados. Apesar de que experimentos em animais podem ser cuidadosamente controlados, eles demonstram considerável variação na concentração desses componentes químicos decorrentes de diferenças entre espécies^{4,15,34,35}. Os dados a seguir apresentados são referentes a estudos em material humano *post mortem*.

Carboidratos

Glicose - Leahy & Faber³⁰ determinaram a concentração de glicose no humor vítreo e obtiveram intervalo de valores entre 28 e 89 mg%, enquanto Sturner & Ganter⁴⁰ verificaram uma faixa de 30-80 mg%. Coe¹⁵, num estudo envolvendo um mesmo cadáver onde o humor vítreo foi coletado em intervalos variados, demonstrou um valor inicial de aproximadamente 85% do nível sérico, ocorrendo em seguida uma diminuição desses valores, como resultado de glicólise anaeróbica.

Ácido láctico - a concentração inicial de ácido láctico logo após o óbito se situa numa faixa de 80-160 mg%, elevando-se para 210-260 mg% após um intervalo de 20 horas²⁹.

Ácido pirúvico - a concentração inicial de 2-3 mg% diminuiu rapidamente para níveis de 0,1-0,2 mg% num intervalo de 10 horas²⁹.

Ácido ascórbico - a concentração inicial de 19-39 mg% na primeira hora diminuiu dentro das 20 horas subsequentes. O humor vítreo contém a mais elevada concentração de ácido ascórbico do organismo²⁹.

Compostos nitrogenados

Uréia - Valores entre 5-29 mg% foram determinados por Leahy & Faber³⁰. Para esse estudo, os autores analisaram humor vítreo de cadáveres que tinham níveis de uréia normais antes do óbito. Parece ser o mais estável dos constituintes *post mortem* estudados.

Creatinina - valores de creatinina no humor vítreo são um pouco menores quando comparados aos valores séricos. Uma faixa de concentração entre 0,31 e 1,05 mg% foi determinada. Esses dados foram obtidos em indivíduos cujos níveis *ante mortem* foram inferiores a 1,5 mg% e onde o humor vítreo foi obtido logo após o óbito³⁰.

Ácido úrico - valores de ácido úrico variaram entre 0,7-3,0 mg% em determinações realizadas por Sturner et al⁴² num intervalo *post mortem* de até 16,5 horas.

Proteínas e aminoácidos - a concentração de proteínas solúveis variou de 40-80 mg% computadas albumina e globulina. Ficou demonstrada, também, a presença de aminoácidos livres no humor vítreo³⁰.

Bilirrubinas - valores médios de 0,04 mg% foram determinados em indivíduos ictericos e que apresentavam valores séricos médios de 8,6 mg%³⁰.

Eletrólitos

Sódio - valores entre 128-158 mEq/L foram observados por Leahy & Faber³⁰ com grande estabilidade num intervalo de até 30h.

Cloreto - valores de 108-142 mEq/L foram obtidos por Leahy & Faber³⁰ em indivíduos com valores séricos *ante mortem* normais. Como ocorre com o sódio, as concentrações de cloreto permaneceram estáveis por um período médio de 18 h *post mortem*.

Potássio - Jaffe²⁹ foi o primeiro a observar um aumento na concentração de potássio no humor vítreo associado com intervalo *post mortem*. Leahy

& Faber³⁰, analisando um total de 52 cadáveres, encontraram uma faixa de 4,4-16,6 mEq/L, enquanto Silva³⁷ encontrou uma faixa entre 4,42 e 4,64 em suas determinações.

Osmolaridade

Sturner et al.⁴² determinaram a osmolaridade do humor vítreo, observando seu aumento

proporcionalmente à concentração de etanol nesse meio. Contribuem para esse aumento o ácido láctico produzido pelo próprio indivíduo, bem como congêneres contidos nas bebidas ingeridas e que alteram a osmolaridade. Não foi evidenciada uma correlação entre os valores desse parâmetro físico-químico e intervalo *post mortem*.

Tabela 1 - Composição química do humor vítreo

Compostos	Intervalo de concentração	Referência
Carboidratos		
Glicose	30-80 mg%	40
Ácido Láctico	80-160 mg%	29
Ácido Pirúvico	2-3 mg%	29
Ácido Ascórbico	9-38 mg%	29
Compostos nitrogenados		
Uréia	5-29 mg%	30
Creatinina	0,31-1,05 mg%	30
Ácido Úrico	0,7-3,0 mg%	42
Proteínas	40-80 mg%	30
Bilirrubinas	média de 0,04 mg%	30
Eletrólitos		
sódio	128-158 mEq/L	30
cloreto	108-142 mEq/L	30
potássio	4,4-16,6 mEq/L	30
	4,42-4,64 mEq/L	37
Osmolaridade	280-350 mOsm/Kg	42

3. O uso do humor vítreo em toxicologia forense

O humor vítreo, fluido que se encontra na cavidade posterior do olho preenchendo o espaço entre o cristalino e a retina em quantidade de 2,0-2,5 mL, tem uma matriz sumamente simples e estável. Trata-se de um fluido gelatinoso,

transparente e incolor, mantido coeso por uma delicada rede de fibrilas e cuja viscosidade é devida à presença de ácido hialurônico^{15,24,25}.

Por conter alta porcentagem de água (90-98%), propicia a troca de determinadas substâncias com o sangue, circunstância esta que permite que se faça uma boa correlação entre os níveis que se

pode encontrar simultaneamente nos dois fluidos de um certo xenobiótico, em um dado tempo²⁵.

Os primeiros pesquisadores a se utilizarem do humor vítreo em análises toxicológicas com finalidade forense foram Sturner & Coumbis³⁹, cujo trabalho teve a finalidade de comparar níveis de etanol em sangue e humor vítreo em 40 cadáveres humanos. Esses autores demonstraram a

existência de uma correlação entre concentração de etanol entre os dois fluidos. A partir desta data, o humor vítreo surge como uma amostra alternativa na determinação de etanol *post mortem* em inúmeras situações e verifica-se seu uso crescente, não só dosagem alcoólica mas na de outros xenobióticos de interesse toxicológico. A Tabela 2 apresenta a cronologia dessa utilização.

Tabela 2 - Cronologia do uso do humor vítreo nas análises toxicológicas

Ano	Xenobiótico detectado	Autor (es)
1966	Etanol	Sturner & Coumbis ³⁹
1968	Etanol	Leahy et al. ³¹
1969	Etanol	Felby & Olsen ²¹
	Barbitúricos	Felby & Olsen ²²
1970	Etanol	Coe & Sherman ¹⁸
1974	Etanol	Scott et al. ³⁶
1975	Digoxina	DiMaio et al. ¹⁹
1980	Etanol	Backer et al. ²
1982	Etanol	Budd ⁸
	Etanol	Clarck & Jones ¹²
	Etanol	Zumwalt et al. ⁴⁵
	Ferro	Mittleman et al. ³³
1983	Etanol	Cassin et al. ¹¹
1984	Etanol	Stone & Rooney ³⁸
	Barbitúricos/Morfina/ Metadona	Ziminski et al. ⁴⁴
1985	Metanol	Wu Chen et al. ⁴³
1989	Antidepressivos	Evenson & Engstrand ²⁰
1990	Etanol	Caplan & Levin ⁹
1991	Etanol	Garriot ²⁶
1992	Morfina	Bermejo ³
1993	Etanol	Gilliland & Bost ²⁸
1994	Etanol/Cocaína	Garcia Fernandez ²⁵

O uso do humor vítreo em análises toxicológicas *post mortem* oferece uma série de vantagens:

- facilidade de obtenção^{10,18,27,31,39};
- condição de o globo ocular estar em local anatomicamente isolado e protegido tem

como consequência a preservação desse espécime a despeito de traumas cranianos^{10,14,15,18,27}, estando muito menos sujeito à contaminação ou putrefação comparativamente ao sangue e fluido cerebroespinal^{14,15,18,21};

- apresenta boa estabilidade química^{10,14,15};
- facilidade no manuseio, ou seja, adere-se pouco ao vidro ou a material plástico^{18,36};
- é matriz bem menos complexa que o sangue total.

Embora o humor vítreo contenha glicose e outros substratos em níveis que se aproximam daqueles do sangue, havendo portanto a possibilidade de formação de etanol nesse meio, a infiltração bacteriana para a cavidade que o contém não ocorre de maneira apreciável até bem mais tarde no processo putrefativo⁷, o que faz deste fluido amostra privilegiada em relação a outras, sendo, de inquestionável utilidade nas investigações *post mortem*, mormente nos casos onde os processos putrefativos já são significantes.

Lima, I.V., Mídio, A.F. The use of vitreous human in forensic toxicological analysis. *Saúde, Ética & Justiça*, 2(2):102-8, 1997

Abstract: The article describe the *postmortem* human vitreous composition, their use in analysis of diferents toxicantes according to the order of time and the characteristics and advantages of using vitreous humor concerning forensic toxicological analysis.

Keywords: Vitreous body. Toxicology/legislation & jurisprudence. Toxicology/methods.

Referências Bibliográficas

1. Adelson, L.; Sunshine, I.; Rushforth, N.B.; Mankoff, M. Vitreous potassium concentration as an indicator of the *postmortem* interval. *J. Forensic Sci.*, Philadelphia, 8(4):503-14, 1963.
2. Backer, R.C.; Pisano, R.V.; Sopher, I.M. The comparison of alcohol concentration in *postmortem* fluids and tissues. *J. Forensic Sci.*, Philadelphia, 25(2):327-31, 1980.
3. Bermejo, A.M.; Ramos, I.; Fernández, P.; López-Rivadula, M.; Cruz, A. Morphine determination by gas chromatography/mass spectroscopy in human vitreous humor and comparison with radioimmunoassay. *J. Anal. Toxicol.*, Niles, 16:372-4, 1992.
4. Bray, M. The effect of chilling, freezing and rewarming on the *post mortem* chemistry of vitreous humor. *J. Forensic Sci.*, Philadelphia, 29(2):404-11, 1984.
5. Bray, M. The eye as a chemical indicator of environmental temperature at time of death. *J. Forensic Sci.*, Philadelphia, 29(2):396-403, 1984.
6. Bray, M.; Luke, J.L.; Blackbourne, B.D. Vitreous humor chemistry in deaths associated with rapid chilling and prolonged freshwater immersion. *J. Forensic Sci.*, Philadelphia, 28(3):588-93, 1983.
7. Briglia, E.J.; Bidanset, J.H.; Dal Cortivo, L.A. The distribution of ethanol in *postmortem* blood specimens. *J. Forensic Sci.*, Philadelphia, 37(4):991-8, 1992.
8. Budd, R.D. Ethanol levels in *postmortem* body fluids. *J. Chromatogr.*, Amsterdam, 252:318-25, 1982.
9. Candield, D.V.; Kupiec, T.; Huffine, E. *Postmortem* alcohol production in fatal aircraft accidents. *J. Forensic Sci.*, Philadelphia, 38(4):914-7, 1993.
10. Caplan, Y.H., Levine, B. Vitreous humor in the evaluation of *post mortem* blood ethanol

- concentration. **J. Anal. Toxicol.**, Niles, 14:305-7, 1990.
11. Cassin, B.J.; Spitz, W.U. Concentration of alcohol in delayed subdural hematoma. **J. Forensic Sci.**, Philadelphia., 28(4):1013-5, 1983.
 12. Clarck, M.A.; Jones, J.W. Studies on putrefactive ethanol production. I. Lack of spontaneous ethanol production in intact human bodies. **J. Forensic Sci.**, Philadelphia, 19(2):366-71, 1982.
 13. Coe, J.I. *Postmortem* chemistries on human vitreous humor. **Am. J. Clin. Pathol.**, Philadelphia, 51(6):741-50, 1969.
 14. Coe, J.I. Use of chemical determination on vitreous humor in forensic pathology. **J. Forensic Sci.**, Philadelphia, 17(4):541-6, 1972.
 15. Coe, J.I. *Postmortem* chemistry: practical considerations and a review of the literature. **J. Forensic Sci.**, Philadelphia, 19(1):13-32, 1974.
 16. Coe, J.I. Comparative *postmortem* chemistries of vitreous humor before and after embalming. **J. Forensic Sci.**, Philadelphia, 21(3):583-6, 1976.
 17. Coe, J.I. Hypothermia: autopsy findings and vitreous glucose. **J. Forensic Sci.**, Philadelphia, 29(2):389-95, 1984.
 18. Coe, J.I.; Sherman, R.E. Comparative study of *postmortem* vitreous humor and blood alcohol. **J. Forensic Sci.** Philadelphia, 15(2):185-90, 1970.
 19. DiMaio, V.J.M.; Garriot, J.V.; Putnam, R. Digoxin concentration in *postmortem* specimens after overdose and therapeutics use. **J. Forensic Sci.**, Philadelphia, 29(2):340-7, 1975.
 20. Evenson, M.A.; Engstrand, D.A. A sep-pak HPLC method for tricyclic antidepressant drugs in vitreous humor. **J. Anal. Toxicol.**, Niles, 13:322-5, 1989.
 21. Felby, S.; Olsen, J. Comparative studies of *postmortem* ethyl alcohol in vitreous humor, blood and muscle. **J. Forensic Sci.**, Philadelphia, 14(1):93-101, 1969.
 22. Felby S.; Olsen, J. Comparative studies of *postmortem* barbiturate and meprobamate in vitreous humor, blood and liver. **J. Forensic Sci.**, Philadelphia, 14(4):414-507, 1969.
 23. França, G.V. **Medicina legal**. 4.ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 1995. p.54, 98.
 24. Ganong, W.F. **Fisiologia médica**. São Paulo, Atheneu, 1989. p.119-39.
 25. Garcia Fernández, J.C.; Patino, C.M.; Fanego, H.V.; García, M.R.; Marzano, B.M.; Guinle, A.E. Consideraciones acerca del empleo del humor vítreo para la determinación *post mortem* de alcohol etílico y drogas de uso ilícito. **Med. Forense Argent.**, Buenos Aires, 14(33):2-7, 1994.
 26. Garriot, J.C. Skeletal muscle as an alternative specimen for alcohol analysis. **J. Forensic Sci.**, Philadelphia, 36(1):60-9, 1991.
 27. Garriot, J.C. Analysis for alcohol in *postmortem* specimens. In: Garriot, J.C. ed. **Medicolegal aspects of alcohol determination in billigical specimens**. Littleton, PSB, 1988. p.87-100.
 28. Gilliland, M.G.F.; Bost, R.O. Alcohol in decomposed bodies: *postmortem* synthesis and distribution. **J. Forensic Sci.**, Philadelphia, 38(6):1266-74, 1993.
 29. Jaffe, F.A. Chemical *postmortem* changes in the intra-ocular fluid. **J. Forensic Sci.**, Philadelphia, 7:231-7, 1962.
 30. Leahy, M.S.; Farber, E.R. *Postmortem* chemistry of human vitreous humor. **J. Forensic Sci.**, Philadelphia, 12(2):214-22, 1967.
 31. Leahy, M.S.; Farber, E.R.; Meadows, T.R. Quantitation of ethyl alcohol in the *postmortem* vitreous humor. **J. Forensic Sci.**, Philadelphia, 13(4):498-502, 1968.
 32. McDonald, L.; Sullivan, A.; Sturner, W.Q. Zinc concentrations in vitreous humor: a *postmortem* study comparing alcoholic and other patients. **J. Forensic Sci.**, Philadelphia, 26(3):476-9, 1981.
 33. Mittleman, R.E.; Steele, B.; Moskowitz, L. *Postmortem* vitreous humor in fatal acute iron poisoning. **J. Forensic Sci.**, Philadelphia, 27(4):955-7, 1982.
 34. Pex, J.O.; Meneely, K.D.; Andrews, F.C. Time of death estimation in blacktail deer by temperature and aqueous humor glucose. **J. Forensic Sci.**, Philadelphia, 28(3):594-600, 1983.
 35. Schning, P.; Strafuss, A.C. *Postmortem* biochemical changes in canine vitreous humor. **J. Forensic Sci.**, Philadelphia, 25(1):53-9, 1980.
 36. Scott, W.; Root, I.; Sanbord, B. The use of vitreous

- humor for determination of ethyl alcohol in previously embalmed bodies. *J. Forensic Sci.*, Philadelphia, 19(4):913-6, 1974.
37. Silva, F.M.R.M. **A concentração pós-mortal de potássio no humor vítreo humano e o tempo de morte.** Curitiba, 1987. 147p. Tese (Professor Titular) - Setor de Ciências da Saúde - Universidade Federal do Paraná.
38. Stone, B.E.; Rooney, P.A. A study using body fluids to determine blood alcohol. *J. Anal. Toxicol.*, Niles, 8:95-6, 1984.
39. Sturner, W.Q.; Coumbis, R.J. The quantitation of ethyl alcohol in vitreous humor and blood by gas chromatography. *Am. J. Clin. Pathol.*, Philadelphia, 46(3):349-51, 1966.
40. Sturner, W.Q.; Gantner, G.E. *Postmortem* vitreous glucose determinations. *J. Forensic Sci.*, Philadelphia, 9(4):485-91, 1964.
41. Sturner, W.Q.; Ganther, G.E. The *postmortem* interval. *Am. J. Clin. Pathol.*, Philadelphia, 42(2):137-44, 1964.
42. Sturner, W.Q.; Dowdey, A.B.C.; Putnam, R.S.; Dempsey, J.L. Osmolality and other chemical determinations in *postmortem* human vitreous humor. *J. Forensic Sci.*, Philadelphia, 17(3):387-93, 1972.
43. Wu Chen, N.B.; Donoghue, E.R.; Schaffer, M.I. Methanol intoxication: distribution in *postmortem* tissues and fluids including vitreous humor. *J. Forensic Sci.*, Philadelphia, 30(2):213-6, 1985.
44. Ziminski, K.R.; Wemyss, C.T.; Bidanset, J.H.; Maning, T.J.; Lukash, L. Comparative study of *postmortem* barbiturates, methadone and morphine in vitreous humor, blood and tissues. *J. Forensic Sci.*, Philadelphia, 29(3):903-9, 1984.
45. Zumwalt, R.E.; Bost, R.O.; Sunshine, I. Evaluation of ethanol concentrations in decomposed bodies *J. Forensic Sci.*, Philadelphia, 27(3):549-54, 1982.