

CATALASE: UM NOVO ALIADO NA INVESTIGAÇÃO FORENSE?

**KELEN CRISTIANE MACHADO GOULARTE¹; ANITA AVILA DE SOUZA²;
RAPHAELA CASSOL PICCOLI³; SOLANGE VEGA CUSTÓDIO⁴; WILLIAM
SANABRIA SIMÕES⁵; ROSELIA MARIA SPANEVELLO⁶**

¹Universidade Federal de Pelotas - kelenqf@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas - anita_a_avila@hotmail.com

³Universidade Federal de Pelotas - raphaelacassol@gmail.com

⁴Universidade Federal de Pelotas - solangevegacustodio@gmail.com

⁵Universidade Federal de Pelotas - williamsimoes@gmail.com

⁶Universidade Federal de Pelotas - rspanevello@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

A determinação precisa do intervalo *post-mortem* (IPM) é crucial para investigações forenses, auxiliando na reconstrução de crimes e na elucidação das causas da morte. Assim, compreender os processos bioquímicos que ocorrem após o óbito é fundamental para essa estimativa (ALI, 2023; KIMURA *et al.*, 2023).

Após a morte, o corpo passa por diversas alterações bioquímicas e fisiológicas que podem fornecer informações valiosas sobre o IPM (DUBOIS; PERRAULT, 2020). Métodos bioquímicos *post-mortem* têm se mostrado promissores nessa área, com a identificação de diversos marcadores potenciais para estimar o IPM.

A concentração de potássio no humor vítreo, por exemplo, é um marcador amplamente utilizado, apresentando uma relação direta com o tempo de morte (AVE *et al.*, 2021; MUSILE *et al.*, 2019). Além disso, a atividade de determinadas enzimas, como a catalase, também tem sido explorada como potencial marcador (DA FONSECA *et al.*, 2019; PALTIAN *et al.*, 2019; TUNA; DERE; MOHAMMED, 2023).

O estresse oxidativo, caracterizado pelo desequilíbrio entre a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e os sistemas antioxidantes, desempenha um papel crucial na decomposição *post-mortem* (DEMIRCI-ÇEKİÇ *et al.*, 2022). A produção excessiva de ROS, como o peróxido de hidrogênio (H_2O_2), desencadeia reações que danificam biomoléculas essenciais, acelerando os processos de decomposição (OLUFUNMILAYO; GERKE-DUNCAN; HOLSINGER, 2023).

A privação de glicose após a morte ativa a autofagia, uma resposta celular ao estresse. No entanto, a autólise, um processo de autodestruição celular, é prejudicada devido à falha na acidificação lisossomal. A ausência de glicose e oxigênio aumenta a produção de ROS, agravando o estresse oxidativo e comprometendo a integridade celular. Essas alterações contribuem para a autólise acelerada e degradação dos tecidos (HWANG; SONG, 2023).

Nesse contexto, a enzima catalase emerge como um potencial biomarcador para a estimativa do IPM. A catalase, uma enzima antioxidante, atua na neutralização do H_2O_2 , minimizando os danos causados pelo estresse oxidativo (OLUFUNMILAYO; GERKE-DUNCAN; HOLSINGER, 2023). No entanto, a complexidade dos processos bioquímicos envolvidos na decomposição e a variabilidade individual exigem a identificação de marcadores mais específicos e confiáveis (DUBOIS; PERRAULT, 2020).

Desta forma, este estudo tem como objetivo avaliar a atividade da catalase em córtex cerebral de ratos, considerando as variáveis idade e sexo, e em

diferentes momentos após a morte, visando investigar seu potencial como marcador bioquímico para a estimativa do IPM.

2. METODOLOGIA

Neste estudo, foram utilizados 180 ratos Wistar (90 fêmeas e 90 machos) distribuídos em três grupos etários (1, 3 e 10 meses). Os animais foram eutanasiados e divididos em cinco grupos temporais ($n=6$) de acordo com o IPM: 0h (controle), 6h, 12h, 24h e 48h. Após a coleta, o córtex cerebral, foi armazenado a -80°C. Para a análise da atividade da CAT, o córtex cerebral foi homogeneizado em tampão fosfato de sódio 20 mM (pH 7,4) contendo KCl 140 mM. O sobrenadante obtido após centrifugação foi utilizado para a determinação da atividade enzimática pelo método de Aebi (1984), monitorando o consumo de peróxido de hidrogênio a 240 nm. Uma unidade de enzima foi definida como 1 μ mol de peróxido de hidrogênio consumido por minuto. Os dados foram expressos como média \pm erro padrão e analisados por ANOVA de uma via, seguida pelo teste de Tukey ($p<0,05$). Todos os procedimentos envolvendo os animais foram aprovados pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Federal de Pelotas (CEUA 038617/2021-99).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A atividade da catalase, como demonstrado nos resultados, sofre influências significativas do IPM, sexo e idade dos animais. Essa variabilidade na atividade enzimática reflete a complexidade dos processos de degradação tecidual e a heterogeneidade das respostas antioxidantes em diferentes estágios da vida.

A tendência geral de diminuição da atividade da catalase ao longo do IPM é consistente com a literatura e pode ser explicada pela degradação progressiva da enzima e pela depleção de seus substratos (SAKR *et al.*, 2023; PALTIAN *et al.*, 2019; HEGAZY; NASR; AZIEM, 2020). Essa redução gradual reflete o avanço dos processos de decomposição celular e a perda da integridade tecidual.

As diferenças observadas entre machos e fêmeas sugerem que o sexo pode modular a resposta antioxidante ao estresse oxidativo. As fêmeas, em alguns casos, apresentaram maior atividade da catalase, o que pode estar relacionado às diferenças hormonais e metabólicas entre os sexos. No entanto, essa diferença não foi consistente em todos os grupos etários, indicando que a influência do sexo sobre a atividade da catalase pode ser complexa e depender de outros fatores (PAJOVIĆ; SAICIĆ, 2008).

A idade dos animais também foi um fator importante na modulação da atividade da catalase. A diminuição da atividade enzimática com o avançar da idade é consistente com a teoria do envelhecimento oxidativo, que postula que o acúmulo de danos oxidativos ao longo da vida contribui para o declínio funcional e a maior suscetibilidade a doenças (KOZAKIEWICZ *et al.*, 2019). A menor atividade da catalase em animais mais velhos pode refletir uma diminuição na capacidade de defesa antioxidante e uma maior vulnerabilidade ao estresse oxidativo.

Os resultados sugerem que as influências do sexo, idade e tempo *post-mortem* sobre a atividade da catalase podem não ser independentes, mas sim interagir de forma complexa. Por exemplo, a diferença entre machos e fêmeas pode

ser mais pronunciada em determinados grupos etários ou em momentos específicos após a morte.

A atividade da catalase pode ser um marcador útil para estimar o IPM, mas é importante considerar as limitações deste estudo, como por exemplo, o número de animais e o fato de ter sido avaliado somente em córtex cerebral.

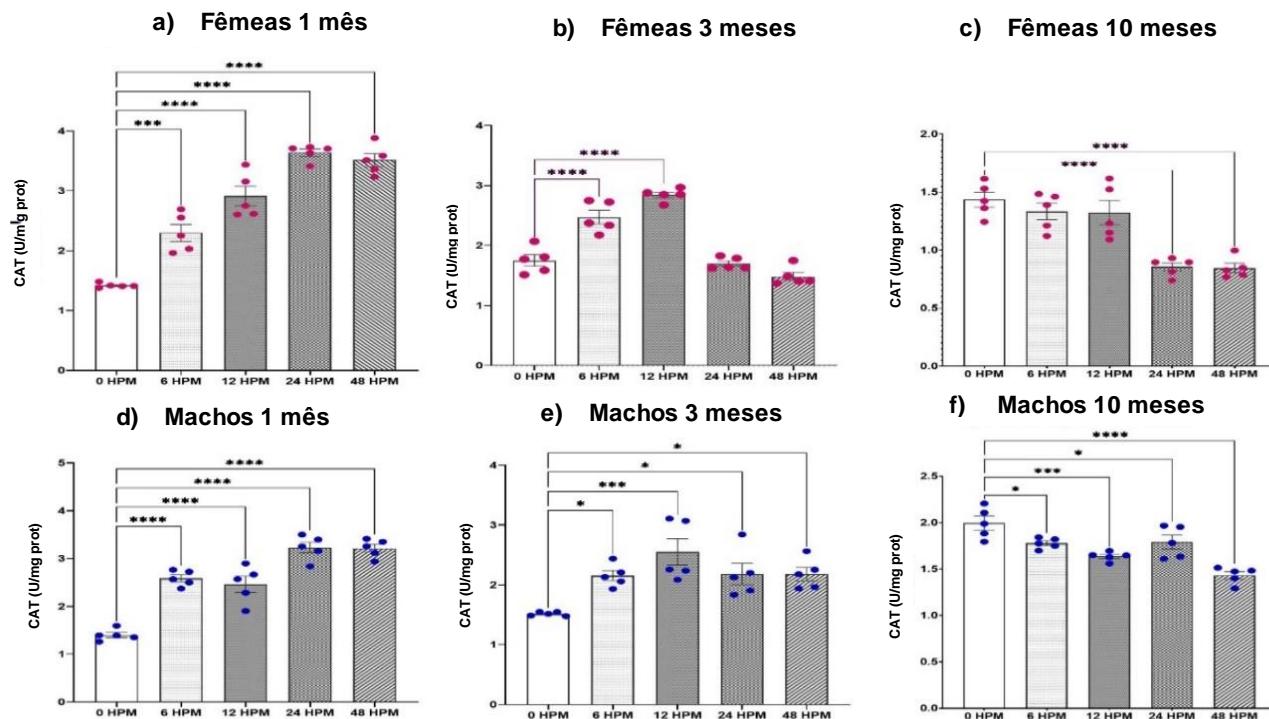


Figura 1: Atividade da catalase (CAT) no córtex cerebral de ratos fêmeas e machos de diferentes idades (01, 03 e 10 meses) submetidos a um protocolo experimental de intervalo *post-mortem* (PMI) de 0h (controle), 6h, 12h, 24h e 48h. * $P<0,05$, ** $P<0,001$ e *** $P<0,0001$ denotam mudança significativa em comparação com o grupo controle ($n = 05$ por grupo).

4. CONCLUSÕES

Os resultados deste estudo demonstraram que a atividade da catalase em tecido cerebral de ratos varia significativamente em função do tempo *post-mortem*, sexo e idade. As diferenças observadas entre machos e fêmeas e entre os diferentes grupos etários indicam que o sexo e a idade influenciam a resposta antioxidante e a susceptibilidade ao estresse oxidativo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AEBI, H. [13] Catalase in vitro. In: METHODS IN ENZYMOLOGY. [S. l.]: Elsevier, 1984. v. 105, p. 121–126.
- ALI, N. G. A Comparison between Conventional Methods and Proton Magnetic Resonance Spectroscopy (H_1 -MRS) for Estimation of Postmortem Interval in Six Different Species: A Systematic Literature Review. **International Journal of Forensic Sciences**, [s. l.], v. 8, n. 4, p. 1–11, 2023.
- AVE, M. T. et al. Estimation of the post-mortem interval: Effect of storage conditions on the determination of vitreous humour [K⁺]. **Science and Justice**, [s. l.], v. 61, n. 5, p. 597–602, 2021.
- DEMIRCI-ÇEKİÇ, S. et al. Biomarkers of Oxidative Stress and Antioxidant Defense. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, [s. l.], v. 209, p. 114477, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jpba.2021.114477>.

- DUBOIS, L. M.; PERRAULT, K. A. **Biochemical methods of estimating time since death.** [S. I.]: Elsevier Inc., 2020. *E-book*. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-815731-2.00003-0>.
- HEGAZY, A. M.; NASR, S. M.; AZIEM, S. H. A. Investigação da ultraestrutura do córtex cerebral durante as primeiras alterações pós-morte em um modelo de rato. [s. I.], v. 13, 2020.
- HWANG, E. S.; SONG, S. B. Impaired Autophagic Flux in Glucose-Deprived Cells: An Outcome of Lysosomal Acidification Failure Exacerbated by Mitophagy Dysfunction. **Molecules and Cells**, [s. I.], v. 46, n. 11, p. 655–663, 2023.
- KIMURA, A. *et al.* Application and limitation of a biological clock-based method for estimating time of death in forensic practices. **Scientific Reports**, England, v. 13, n. 1, p. 6093, 2023.
- KOZAKIEWICZ, M. *et al.* Changes in the blood antioxidant defense of advanced age people. **Clinical Interventions in Aging**, [s. I.], v. 14, p. 763–771, 2019.
- MUSILE, G. *et al.* Thanatochemistry at the crime scene: a microfluidic paper-based device for ammonium analysis in the vitreous humor. **Analytica Chimica Acta**, [s. I.], v. 1083, p. 150–156, 2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.07.033>.
- OLUFUNMILAYO, E. O.; GERKE-DUNCAN, M. B.; HOLSINGER, R. M. D. Oxidative Stress and Antioxidants in Neurodegenerative Disorders. **Antioxidants**, [s. I.], v. 12, n. 2, p. 1–30, 2023.
- PAJOVIĆ, S. B.; SAICIĆ, Z. S. Modulation of antioxidant enzyme activities by sexual steroid hormones. **Physiological research / Academia Scientiarum Bohemoslovaca**, [s. I.], v. 57, n. 6, p. 801–811, 2008.
- PALTIAN, J. J. *et al.* Post-mortem interval estimative through determination of catalase and Δ -aminolevulinate dehydratase activities in hepatic, renal, skeletal muscle and cerebral tissues of Swiss mice. **Biomarkers**, [s. I.], v. 24, n. 5, p. 478–483, 2019.
- SAKR, M. F. *et al.* Estimation of postmortem interval using histological and oxidative biomarkers in human bone marrow. **Forensic Science, Medicine and Pathology**, [s. I.], 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12024-023-00753-9>.