

EFEITOS DA TESTOSTERONA, ESTRADIOL OU PROGESTERONA NA DECOMPOSIÇÃO CORPORAL DE RATOS CASTRADOS

EFFECTS OF TESTOSTERONE, ESTRADIOL OR PROGESTERONE ON
THE BODY DECOMPOSITION OF CASTRATED RATS

Andjara T.C. Soares¹, Ana C. Ferrari², Marco A. Guimarães³

¹ Pós-graduanda. ² Aluna de Iniciação Científica. ³ Docente. Centro de Medicina Legal (CEMEL), Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - USP.

CORRESPONDÊNCIA: Prof. Dr. Marco Aurelio Guimarães. Centro de Medicina Legal (CEMEL), Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto – USP. Rua Tenente Catão Roxo nº 2418, Ribeirão Preto, SP, CEP: 14051-140, Brasil.
Tel.: +55-16-36023358; fax: +55-16-36334476 / E-mail: mag@fmrp.usp.br

Soares ATC, Ferrari AC, Guimarães MA. Efeitos da testosterona, estradiol ou progesterona na decomposição corporal de ratos castrados. Medicina (Ribeirão Preto) 2008; 41 (1): 43-9.

RESUMO: Resultados prévios do nosso laboratório mostraram que ratos machos e fêmeas, quando sepultados em um mesmo local e sob as mesmas condições ambientais apresentam decomposição corporal diferenciada, com os corpos dos machos atingindo esqueletização completa antes das fêmeas. Então, decidiu-se investigar se ratos machos castrados submetidos a diferentes tratamentos com esteróides sexuais desenvolveriam padrões diferentes de decomposição corporal. Cinquenta ratos *Wistar* machos foram anestesiados aos 21 dias de idade e 40 deles foram castrados enquanto 10 foram submetidos à cirurgia *sham*. Os animais foram divididos nos seguintes grupos: Co- Controle (cirurgia *sham*); Ca- Castrado; T- Testosterona (castração + propionato de testosterona); E- Estradiol (castração + cipionato de estradiol); P- Progesterona (castração + progesterona). Os animais foram mortos aos 81 dias de idade em câmara de CO₂ e foram sepultados no mesmo local. A exumação foi feita 120 dias após o sepultamento. A decomposição corporal estava mais avançada no grupo T, seguindo decrescentemente pelos grupos P, Co e Ca. O grupo E não foi considerado nesta análise devido à diferença significativa no peso corporal no momento da morte em relação aos outros grupos. Os resultados indicaram que os hormônios esteróides sexuais podem interferir no processo de decomposição corporal. Esse modelo biológico experimental apresenta uma importante implicação forense, uma vez que perfis hormonais podem induzir diferentes aspectos na decomposição corporal no mesmo intervalo de tempo, abrindo um precedente para justificar a investigação em material humano para evitar dúvidas na determinação do tempo desde a morte em investigações criminais.

Descritores: Medicina Legal. Ratos. Castração. Decomposição corporal. Testosterona. Estradiol. Progesterona.

1- INTRODUÇÃO

O estabelecimento do intervalo *post-mortem* é uma das mais importantes tarefas na investigação forense. As complexas ações depois da morte são um

desafio para os cientistas forenses que estão interessados em determinar o intervalo desde o momento da morte até o encontro do corpo¹. Quanto maior o intervalo *post-mortem*, maior é a dificuldade de determinar o tempo da morte².

A literatura científica tem documentado quão variável a taxa de decomposição pode ser, uma vez que muitos fatores inter-relacionados estão envolvidos na decomposição do corpo, como temperatura, umidade, condições aeróbicas e anaeróbicas, presença de fauna cadavérica, microrganismos e condições do solo^{1, 3/6}. Esses fatores ambientais são largamente considerados como afetando a totalidade dos processos que envolvem a destruição ou preservação do cadáver (tafonomia). Entretanto, faltam estudos sobre decomposição corporal preocupados com os efeitos das características biológicas do corpo relacionadas com a decomposição corporal, como idade, sexo, composição de gordura corporal ou perfis endócrinos.

À primeira vista, a endocrinologia e a investigação da morte nas ciências forenses não são frequentemente relacionadas, exceto em casos específicos quando o uso incorreto ou abusivo de hormônios pode ser relacionada com mortes acidentais, suicídios ou eventuais homicídios.

Provavelmente o processo tafonômico mais estudado que pode expor essa situação é a formação de adipocera, que é uma variação da putrefação. Frequentemente vista em corpos imersos em água ou em solos úmidos e quentes^{7, 8} e também em indivíduos obesos, em crianças e no sexo feminino^{9, 10}, provavelmente devido à maior porcentagem de gordura corporal nesses indivíduos, a formação de adipocera pode interferir no estabelecimento do intervalo *post-mortem*.

Apesar da existência de algumas poucas descrições não-científicas sobre o assunto, não há informações mais detalhadas na literatura sobre o papel específico do gênero ou do perfil endócrino afetando a formação de adipocera, ou outras variações na decomposição.

Devido às dificuldades em isolar os fatores específicos que interferem na decomposição de corpos humanos ou de animais no ambiente, observações experimentais têm contribuído muito para entender o mecanismo biológico envolvido na tafonomia^{11/16}.

Um modelo experimental com ratos desenvolvido no Centro de Medicina Legal (CEMEL) da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FMRP/USP) mostrou que, quando machos e fêmeas são sepultados no mesmo local - sob as mesmas condições de temperatura, umidade, fauna, entre outros - os machos atingem a esqueletização completa antes das fêmeas^{17/19}. A principal implicação forense para isso é a possibilidade de que a determinação do intervalo *post-mortem* necessite

de uma investigação levando-se em conta o gênero (sexo) do corpo.

Levando-se em conta o fato de que os esteróides sexuais são responsáveis pela diferenciação e manutenção das características sexuais, torna-se necessário investigar qual esteróide sexual pode estar envolvido nas diferenças observadas no padrão de decomposição corporal de machos e fêmeas.

Então, decidiu-se investigar se ratos machos castrados submetidos a diferentes tratamentos com esteróides (testosterona, estradiol ou progesterona) mostrariam diferentes padrões de decomposição corporal relacionado a cada hormônio sexual específico.

2- MATERIAL E MÉTODOS

Todos os procedimentos realizados estão de acordo com as diretrizes éticas do Colégio Brasileiro de Experimentação Animal²⁰, e foram revisados e aprovados pelo Comitê de Ética na Experimentação Animal (CETEA) da FMRP-USP, protocolo número 026/2005.

Cinquenta ratos *Wistar* machos desmamados, com aproximadamente 21 dias de vida (60-80g), foram obtidos do Biotério Geral da USP – Ribeirão Preto e mantidos no biotério do Departamento de Patologia da FMRP-USP, com livre acesso à comida (ração comercial para roedores) e água, sob ciclo claro e escuro controlado de 12/12h (luz de 7 às 19h) e temperatura (23±2°C). A iluminação foi realizada através de luzes fluorescentes.

No dia seguinte após a chegada, os animais foram anestesiados (Tribromoetanol - Acros Organics, New Jersey, USA -2.5% 1ml/100g p.c., i.p.) e 40 deles foram submetidos à cirurgia de castração (remoção dos testículos) enquanto 10 foram submetidos à cirurgia *sham*, para servir de grupo controle. Após, os animais foram divididos da seguinte maneira:

- Grupo Controle (Co): cirurgia *sham* e administração de 100µl de óleo de milho (Mazola®) s.c., a cada 15 dias, total de três doses.
- Grupo Castrado: castração e administração de 100µl de óleo de milho (Mazola®) s.c., a cada 15 dias, total de três doses.
- Grupo Testosterona: castração e administração de 80µg de propionato de testosterona (Androgenol®, Hertape, Brasil) diluído em 100µl de óleo de milho (Mazola®), s.c., a cada 15 dias, total de três doses²¹.
- Grupo Estradiol: castração e administração de 10µg de cipionato de estradiol (17-β cipionato de estradiol,

Sigma®, St. Louis, MO, USA) diluído em 100:1 de óleo de milho (Mazola®) para cada 100g de p.c. em injeções s.c. diárias por 40 dias antes da morte²².

- Grupo Progesterona: castração e administração de 250µg de progesterona (Sigma®, St. Louis, MO, USA) diluído em 100µl de óleo de milho (Mazola®) para cada 100g de p.c. em injeções s.c. em dias alternados por 40 dias antes da morte²².

O peso corporal foi acompanhado duas vezes por semana. Quando os animais alcançaram 81 dias de idade, eles foram mortos em câmara saturada de CO₂²³.

Depois da morte os animais foram envolvidos em uma camada de gaze e uma camada de algodão, para facilitar a recuperação dos ossos na futura exumação, e então foram colocados em caixas de madeira (47 x 23 x 9 cm), divididas em cinco compartimentos (20,2 x 8 x 7,8 cm) para conter um animal em cada compartimento e fechado com uma tampa de madeira. O fundo de cada compartimento foi previamente coberto com uma camada de papel alumínio e uma camada de papel filtro sobre esta para evitar contato direto dos corpos com a madeira^{17/19}.

As 10 caixas foram colocadas numa caixa de cimento (65 x 49 x 44 cm) enterrada no chão para servir de sepultura. Uma caixa de cada grupo foi colocada sobre a outra do mesmo grupo, reduzindo a influência da posição na sepultura. As caixas de madeira de baixo foram apoiadas por dois tijolos para evitar contato com o chão da sepultura (18cm), o que poderia expor as caixas a umidade diferencial^{17/19}.

A sepultura foi fechada por uma tampa de cimento para evitar o acesso de animais carnívoros (mamíferos, pássaros e répteis). Dessa maneira, todos os corpos animais foram mantidos nas mesmas condições ambientais (média da temperatura máxima 29,1 ± 3,0°C; média da temperatura mínima 12,9 ± 2,6°C, umidade e fauna cadavérica). Depois de 120 dias de sepultamento, baseado em descrições prévias,^{17/19} a exumação foi feita.

3- RESULTADOS

3.1- Peso corporal

A média do peso corporal de cada um dos cinco grupos de ratos foi calculada e submetida à análise estatística para as idades de 21 (castração e cirurgia *sham*), 28, 35, 42 (início do tratamento com esteróides), 56, 70 e 81 (morte e sepultamento) dias.

O principal objetivo deste procedimento foi verificar se os grupos não possuíam diferenças estatísticas no peso corporal antes do tratamento com esteróides começar, o que poderia interferir na análise do efeito dos hormônios.

O Teste ANOVA para variável única foi utilizado para comparar a média do peso corporal dos cinco grupos. De 21 a 42 dias de idade nenhuma diferença estatística ($\alpha=0,05$) foi observada entre os grupos. Isso mostra que do dia que os procedimentos cirúrgicos foram realizados (castração e cirurgia *sham*) até o dia que os tratamentos com esteróides iniciaram, todos os grupos tiveram peso corporal similar (Figura 1).

Somente a partir dos 56 dias de idade foram detectadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos através do Teste ANOVA para variável única. Então, o Teste de Tukey foi realizado para verificar estas diferenças. Os grupos Castrado, Testosterona e Progesterona não mostraram diferenças estatisticamente significativas entre si ($q \leq 0,05$). O grupo Controle foi detectado como tendo média de peso corporal estatisticamente maior que todos outros grupos ($q \leq 0,05$) e o grupo Estradiol foi detectado como tendo peso corporal significativamente menor que todos os outros grupos ($q \leq 0,05$) (Figura 1). As diferenças observadas entre os pesos corporais dos grupos são necessárias para interpretações futuras sobre a decomposição corporal.

3.2- Exumação e descrição dos restos

Após 120 dias de sepultamento os animais foram exumados. Todas as caixas tinham aspecto similar à inspeção visual. Elas foram condicionadas em um local adequado e, então, abertas e analisadas. Os corpos foram removidos das caixas para permitir a análise dos mesmos e das caixas. Cada grupo foi descrito de acordo com o estado de decomposição dos corpos.

Cabe salientar que, para fins de melhor entendimento, “decomposição” refere-se às alterações ocorridas após a morte como consequência da somatória dos fenômenos de autólise (destruição celular e tecidual dependentes do conteúdo bioquímico celular) e de putrefação (destruição celular e tecidual dependente de agentes microbiológicos). Não há um escalonamento rigidamente definido desse processo, mas pode ser descrito através de alterações de coloração, produção de gases (com odor), perda do aspecto anatômico e histológico (liquefação), e maior ou menor

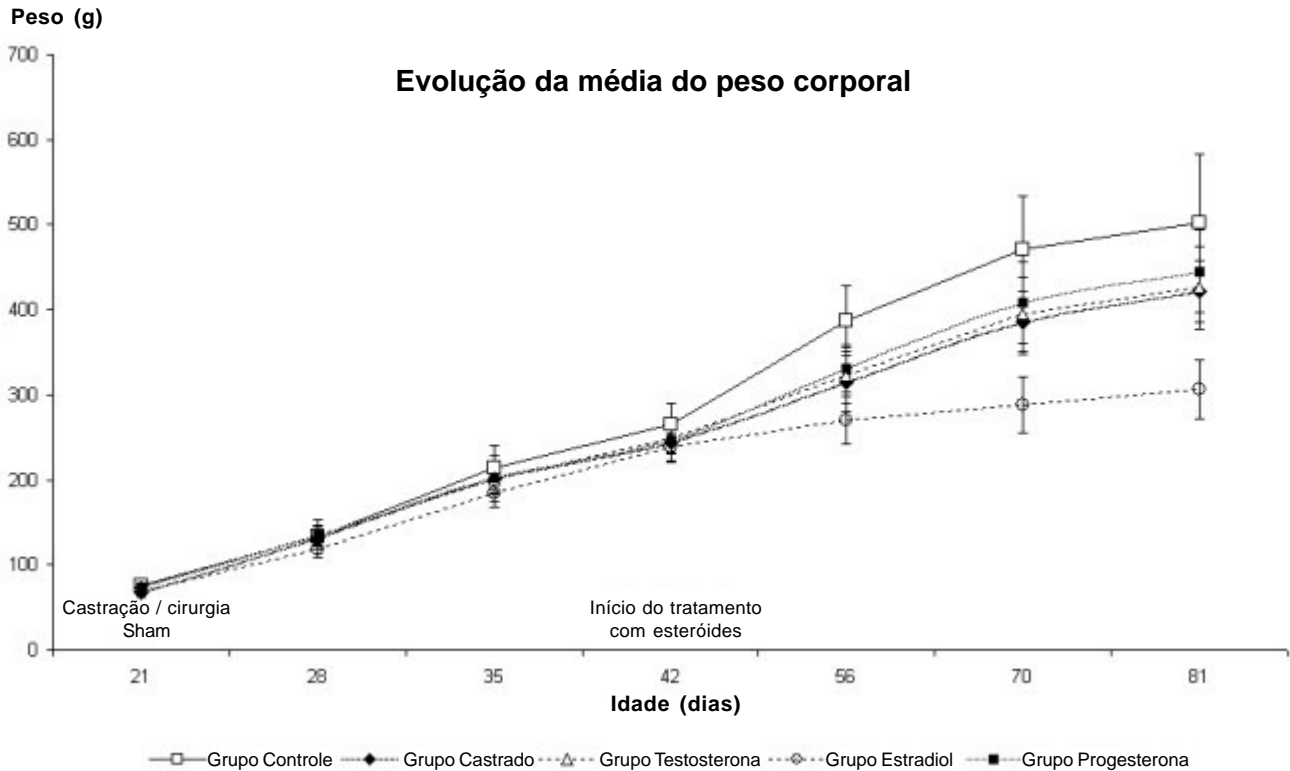


Figura 1: Evolução da média do peso corporal dos diferentes grupos experimentais de 21 a 81 dias de vida. Grupo Controle: cirurgia sham, Grupo Castrado: castração; Grupo Testosterona: castração + testosterona; Grupo Estradiol: castração + estradiol; Grupo Progesterona: castração + progesterona. (*) Grupo Controle com peso corporal significativamente maior ($q \leq 0,05$) em comparação aos demais grupos, de 56 a 81 dias de vida. (**) Grupo Estradiol com peso corporal significativamente reduzido ($q \leq 0,05$) em comparação aos demais grupos, de 56 a 81 dias de vida. Não foi detectada diferença estatística entre o peso corporal dos grupos Castrado, Testosterona e Progesterona durante o mesmo intervalo de tempo.

exposição de tecido ósseo devido à adesão ou perda da massa de tecidos moles (esqueletização).

A documentação fotográfica dos grupos é muito difícil devido ao contraste pobre dos tecidos putrefeitos, impossibilitando a geração de uma imagem que possa ser utilizada como exemplo, e também porque detalhes podem ser perdidos através da manipulação dos restos para mostrar todos os itens descritos. Em virtude disso, os resultados são descritivos.

- Grupo Controle: os corpos estavam parcialmente decompostos, apresentando grande quantidade de uma substância cremosa vermelha-amarelada sobre todos os corpos, com aspecto levemente misturado. Não foi possível distinguir a anatomia de órgãos ou separar facilmente os ossos dos restos.
- Grupo Castrado: a maioria dos corpos não estava tão decomposta quanto os corpos do grupo controle, mesmo apresentando uma grande quantidade de uma substância gelatinosa vermelha-amarelada sobre todos os corpos, dando um aspecto de intensa mistura entre eles. Também não foi possível distin-

guir claramente a anatomia dos órgãos ou separar facilmente os ossos dos restos. Contudo, pelo volume de material em putrefação e seu aspecto mais preservado pôde-se constatar que este grupo estava menos decomposto que o grupo Controle.

- Grupo Testosterona: os cadáveres nesse grupo estavam mais decompostos, principalmente no terço superior dos corpos, apresentando poucos restos de uma substância vermelha-amarelada ligada aos ossos nos dois terços inferiores, mas permitindo a visualização da estrutura óssea sob esta substância. Houve uma nítida redução do volume de tecidos moles em putrefação. Esse grupo foi considerado como em um estágio de decomposição mais avançado que o grupo Controle.
- Grupo Estradiol: os corpos aparentavam estar em um avançado processo de esqueletização, com a maioria dos ossos facilmente visíveis. Quantidades mínimas da substância vermelha-amarelada correspondente aos tecidos moles em putrefação estavam presentes em alguns corpos, enquanto alguns

outros apresentavam alguns resíduos de uma substância muito escura e dura ligada aos ossos, aparentemente resultante da dessecação dos restos putrefeitos. Este grupo foi considerado como o mais decomposto dentre todos os grupos analisados.

- Grupo Progesterona: os corpos desse grupo estavam parcialmente decompostos, principalmente no terço superior dos corpos, apresentando uma quantidade moderada de substância vermelha-amarelada ligada aos ossos no dois terços inferiores, permitindo a visualização da estrutura óssea sob ela. Esse grupo encontrava-se em um estágio de decomposição mais avançado que o grupo Controle, mas menos decomposto que o grupo Testosterona.

Resumindo a análise descritiva da decomposição corporal, pode-se afirmar que, em uma escala de decomposição como a relatada acima, o grupo Estradiol apresentou decomposição corporal mais intensa, seguido em ordem decrescente pelos grupos Testosterona, Progesterona, Controle e Castrado, sendo este último o grupo que apresentou a decomposição corporal menos intensa.

4- DISCUSSÃO

Esse estudo é principalmente baseado na descrição de aspectos macroscópicos relacionados à influência dos hormônios esteróides de decomposição corporal. Esse procedimento é estritamente necessário como primeiro passo na investigação científica da decomposição corporal para aplicação em propósitos forenses. Apenas após obter uma clara descrição macroscópica que aponte a direção correta e nos dê sólidas pistas sobre o processo, outros estudos podem ser realizados. Descrições macroscópicas similares ou relacionadas não foram encontradas na literatura científica para ser considerada suficiente para justificar investimentos diretos nas análises bioquímicas e microscópicas.

Existem dois fatores que precisam ser considerados simultaneamente para analisar os resultados: o peso corporal e a decomposição.

Inicialmente, a comparação entre os grupos Controle e Castrado foi realizada partindo-se do princípio que ambos podem ser considerados como parâmetros de controle para as análises referentes ao efeito dos esteróides. Apesar de uma redução estatisticamente significativa no peso corporal ($q \leq 0,05$) em vida, o grupo Castrado foi observado como estando menos decomposto que o grupo Controle. Esse resultado mos-

tra que a castração induziu uma redução no peso corporal constatada na data da morte. Por outro lado, apesar do volume menor de tecidos para ser decomposto em comparação ao grupo Controle, os animais do grupo Castrado estavam menos decompostos. Isso sugere que a castração, isto é, a ausência de hormônios esteróides sexuais, é responsável pelo processo mais lento de decomposição.

Após a comparação inicial, os grupos Testosterona, Estradiol e Progesterona foram comparados aos grupos Controle e Castrado. É importante ressaltar que estes grupos receberam doses farmacológicas de hormônios com o objetivo principal de evidenciar seus efeitos na decomposição corporal.

No momento da morte, o grupo Testosterona apresentou peso corporal estatisticamente semelhante ao do grupo Castrado ($q \leq 0,05$) e redução significativa ($q \leq 0,05$) em comparação ao grupo Controle. Considerando a decomposição corporal, os animais tratados com testosterona mostraram-se mais decompostos que os animais dos grupos Controle e Castrado. Dessa forma, o peso corporal não foi o principal interveniente a ser considerado no processo, evidenciando que o tratamento com testosterona parece ser o fator associado com a decomposição corporal mais intensa. Como pode ser notado, a ausência de esteróides sexuais nos machos castrados, assim como a presença de doses farmacológicas de testosterona induzem diferentes padrões de decomposição corporal independentemente da interferência do peso corporal.

O grupo Estradiol apresentou redução significativa no peso corporal ($q \leq 0,05$) em comparação a todos os outros grupos. Essa redução no peso corporal no momento da morte pode ser explicada pelo tratamento farmacológico com estradiol. Esse grupo também foi observado como sendo o mais decomposto de todos. Entretanto, a razão para esse estado avançado de decomposição não pode ser atribuído exclusivamente aos efeitos do tratamento com estradiol, uma vez que o peso corporal foi consideravelmente reduzido em relação a todos os demais grupos, o que não pode ser desconsiderado como possível interveniente no processo.

O grupo Progesterona apresentou peso corporal estatisticamente similar ao dos grupos Castrado e Testosterona ($q \leq 0,05$) na data da morte. Então, esse grupo também apresenta redução significativa do peso corporal ($q \leq 0,05$) em comparação do grupo Controle. Todavia, considerando-se a decomposição corporal, os animais tratados com progesterona apresentaram-

se mais decompostos que os animais do grupo controle e os animais castrados, mas não tão decompostos como aqueles tratados com testosterona. Considerando-se que o peso corporal dos grupos Testosterona e Progesterona foram similares, a diferença observada na decomposição corporal pode ser atribuída aos efeitos diferenciais dos dois esteróides, testosterona e progesterona.

5- CONCLUSÕES

Pode ser colocado em evidência que o processo de decomposição foi afetado diferencialmente pelo tratamento com hormônios esteróides. Enquanto a castração induz um atraso na decomposição, animais castrados submetidos a tratamento com progesterona têm processo mais rápido. A decomposição apresenta-se ainda mais rápida quando animais castrados recebem tratamento com testosterona antes da morte.

Conclusões sobre animais castrados submetidos a tratamento com estradiol não podem ser realizadas.

Esse modelo experimental levanta uma importante implicação para propósitos forenses, uma vez que perfis hormonais podem induzir diferentes aspectos na decomposição corporal no mesmo intervalo de tempo, o que pode causar dúvidas na determinação do tempo desde a morte em investigações criminais.

É certo que há uma grande distância do modelo animal para a aplicação em humanos. Entretanto, isso abre um precedente ético para justificar a necessidade de investigação em seres humanos.

6- AGRADECIMENTOS

Agradecimentos ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) – pelas verbas Departamentais para pesquisa. À Fundação de Apoio ao Ensino, Pesquisa e Assistência do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (FAEPA) pelo auxílio para apresentação em evento.

Soares ATC, Ferrari AC, Guimarães MA. Effects of testosterone, estradiol or progesterone on the body decomposition of castrated rats. *Medicina (Ribeirão Preto)* 2008;41 (1): 43-9.

ABSTRACT: Previous results from our laboratory showed that males and females buried in the same place and in the same environmental conditions, conduct the male bodies to reach complete skeletonization before the female ones. So, it was decided to investigate if castrated male rats submitted to different steroid treatments showed different body decomposition patterns. Fifty male Wistar rats were anesthetized at 21 days of age and 40 of them were castrated while 10 were submitted to sham surgeries. The animals were divided into the following groups: Co- Control (*sham* surgery); Ca- Castreted; T- Testosterone (castrated + testosterone propionate); E- Estradiol (castrated + estradiol cipionate); P- Progesterone (castrated + progesterone). The animals were killed at 81 days of age in a CO₂ chamber and were buried in the same grave. Exhumation was done 120 days after burial. The body decomposition was more advanced in the Group T, decreasingly followed by the Groups P, Co and Ca. The Group E was not considered in the analysis because of the significant differences in body weight in comparison to the other groups in the time of death. The results indicate that steroid sexual hormones can interfere in the process of the body decomposition. This experimental biological model raises an important implication for forensic purposes, once hormonal profiles can induce different aspects of the body decomposition in the same interval of time, opening a precedent to justify investigation of human material to avoid doubts in the determination of the time since death in criminal investigations.

Keywords: Forensic Medicine. Rat. Castration. Body decomposition. Testosterone. Estradiol. Progesterone.

REFERÊNCIAS

- 1 - Yan F, McNally R, Kontanis EJ, Sadik OA. Preliminary quantitative investigation of postmortem adipocere formation. *J Forensic Sci* 2001; 46(3): 609-14.
- 2 - Kahana T, Almong J, Levy J, Shmeltzer E, Spier Y, Hiss J. Marine taphonomy: adipocere formation in a series of bodies recovered from a single shipwreck. *J Forensic Sci* 1999; 44(5): 897-901.
- 3 - Ubelaker DH. Taphonomic applications in forensic anthropology. In: Haglund WD, Sorg MH, editors. *Forensic Taphonomy – The postmortem fate of human remains*. Boca Raton, Florida: CRC Press; 1997. p. 77-90.
- 4 - Sledzik OS, Micozzi MS. Autopsied, embalmed, and preserved human remains: distinguishing features in forensic and historical contexts. In: Haglund WD, Sorg MH, editors. *Forensic Taphonomy – The postmortem fate of human remains*. Boca Raton, Florida: CRC Press; 1997. p. 483-95.
- 5 - Campobasso CP, Di Vella G, Introna F. Factors affecting decomposition and Diptera colonization. *Forensic Sci Int* 2001; 120(1-2): 18-27.
- 6 - Carvalho LM, Thyssen PJ, Linhares AX, Palhares FA. A checklist of arthropods associated with pig carrion and human corpses in southeastern Brazil. *Mem Inst Oswaldo Cruz* 2000; 95(1):135-8.
- 7 - Gill-King H. Chemical and ultrastructural aspects of decomposition. In: Haglund WD, Sorg MH, editors. *Forensic Taphonomy – The postmortem fate of human remains*. Boca Raton, Florida: CRC Press; 1997. p. 93-108.
- 8 - DiMaio DJ, DiMaio VJ. Time of death. In: Di Maio DJ, Di Maio VJ, editors. *Forensic Pathology*. Boca Raton, Florida: CRC Press; 1993. p. 21-42.
- 9 - França GV. Tanatologia médico-legal. In: França GV, editor. *Medicina Legal*. 7ª edição. Guanabara-Koogan, Rio de Janeiro, Brasil; 2004. p. 327-406.
- 10 - Knight B. The pathophysiology of death – Post-mortem decomposition. In: Knight B, editor. *Forensic pathology*. Edward Arnold, London; 1991. p. 58-65.
- 11 - Takatori T, Yamaoka A. The mechanism of adipocere formation. I: Identification and chemical properties of hydroxy fatty acids in adipocere. *Forensic Sci* 1977; 9(1): 63-73.
- 12 - Takatori T & Yamaoka A. The mechanism of adipocere formation. II. Separation and identification of oxo fatty acids in adipocere. *Forensic Sci* 1977; 10(2): 117-25.
- 13 - Takatori T, Ishiguro N, Tarao H, Matsumiya H. Microbial production of hydroxy and oxo fatty acids by several microorganisms as a model of adipocere formation. *Forensic Sci Int* 1986; 32(1): 5-11.
- 14 - Gotouda H, Takatori T, Terazawa K, Nagao M, Tarao H. The mechanism of experimental adipocere formation: hydration and dehydrogenation in microbial synthesis of hydroxy and oxo fatty acids. *Forensic Sci Int* 1988; 37(4): 249-57.
- 15 - Mellen PF, Lowry MA, Micozzi MS. Experimental observations on adipocere formation. *J Forensic Sci* 1993; 38(1): 91-3.
- 16 - Takatori T. Investigations on the mechanism of adipocere formation and its relation to other biochemical reactions. *Forensic Sci Int* 1996; 80(1-2): 46-61.
- 17 - Rocha FS, Guimarães MA, Martin CCS. Tempo do processo de esqueletização de ratos Wistar em diferentes tipos de sepultamento [resumos]. Anais da XV Reunião Anual da Federação de Sociedade de Biologia Experimental (FESBE), Caxambu-MG, Brasil; 2000. p. 234.
- 18 - Guimarães MA, Rocha FS, Purkyt MEG, Martin CCS. Differential body decomposition related to sex in an animal experimental model. Annals of the 16th Meeting of the International Association of Forensic Sciences (IAFS), Montpellier, France, *J Forensic Med* 2002; 45: 99.
- 19 - Guimarães MA, Rocha FS, Purkyt MEG, Martin CCS. Decomposição corporal diferencial relacionada ao sexo em modelo experimental animal. *Revista de Medicina Legal, Direito Médico e da Saúde* 2004; 47-52.
- 20 - Colégio Brasileiro de experimentação animal (COBEA). Disponível em <http://www.cobea.org.br/etica.htm#3>. Acessado em 2005 24 Mar.
- 21 - Seale JV, Wood SA, Atkinson HC, Harbuz MS, Lightman SL. Postnatal masculinization alters the HPA axis phenotype in the adult female rat. *J Physiol* 2005; 563(Pt 1): 265-74.
- 22 - Moorthy K et al. Estradiol and progesterone treatments change the lipid profile in naturally menopausal rats from different age groups. *Biogerontology* 2004; 5(6): 411-9.
- 23 - Andersen ML et al. Princípios éticos e práticos do uso de animais de experimentação. Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo; 2004.

Recebido para publicação em 27/08/2007

Aprovado para publicação em 13/05/2008