**A análise proteômica no contexto forense**

Foi realizada uma revisão de literatura consultando as bases de dados Medline, LILACS , BBO e Scielo, de 1997 a 2017, com o objetivo de ressaltar a importância do estudo da proteômica e sua aplicação nas diversas áreas forenses. A compreensão da morfologia e função da molécula de DNA é um pressuposto para o estudo e elaboração de metodologias aplicadas ao estudo das proteínas. O Projeto Genoma Humano (PGH) revelou que há muito mais proteínas num proteoma (um milhão de proteínas aproximadamente) do que genes (20.000 a 25.000). A proteômica ressurge como uma área complementar ao estudo do genoma. Não só as proteínas podem ser analisadas como também os diversos processos biológicos das células, suas isoformas, modificações e interações. O campo alcançado tem testemunhado um enorme desenvolvimento na última década, principalmente através de avanços na espectrometria de massa (MS- Mass Spectrometry) e na bioinformática com softwares disponíveis que convertem os gigabytes da MS em identificações peptídicas. Essas abordagens aumentam a confiabilidade da identificação protéica pois a precisão a ser alcançada nos peptídeos derivados da proteína é muito maior, algumas partes por milhão.

A capacidade da espectrometria de massa para identificar quantidades mínimas de proteínas de misturas cada vez mais complexas é a principal força motriz da proteômica. Uma vez identificadas, a MS baseada em ensaios-alvo facilita a detecção e a quantificação de proteínas de baixa abundância em um contexto de outras moléculas não-alvo. Esta abordagem resultou em uma riqueza de novas oportunidades para desenvolver pesquisas baseadas em proteínas com aplicações forenses, onde muitas vezes as amostras coletadas nessas situações são em quantidades ínfimas e de difícil detecção.

Considerando que o genoma é quase idêntico em cada célula do corpo humano e também relativamente constante ao longo da vida de um organismo, existem expressões protéicas em diferentes partes do corpo, em cada célula, e muda dramaticamente ao longo do tempo, em diferentes estágios do ciclo de vida e em diferentes condições ambientais. Enquanto o genoma é uma entidade constante, o proteoma é uma entidade dinâmica e torna possível uma análise mais detalhada e dinâmica da expressão gênica nos processos metabólicos dos seres vivos.

Projetos iniciais do proteoma humano incluem: o mapa proteômico de Kim et al. em 2014, que apresentaram medições diretas de proteínas e peptídeos; o banco de dados proteômicos de Wilhelm et al. em 2014 (https:www.proteomicssdb.org) que permitirão desenvolver ferramentas computacionais e reagentes laboratoriais facilitando experimentos na descoberta de todo o proteoma, ensaios quantitativos de proteínas, bem como a exploração geral do proteoma humano; e o atlas de proteínas do corpo humano de Uhlén et al. em 2015, com detalhado proteoma nos diferentes tecidos e órgãos do corpo humano (Human Protein Atlas, www.proteinatlas.org).

A informação sistemática confiável através da sequenciação de proteínas resistentes à degradação é essencial para as investigações em biologia evolutiva adicionando novas dimensões para o estudo da seleção natural de espécies extintas e existentes.Esta técnica oferece perspectivas para inferências filogenéticas e estudos fisiológicos na investigação de amostras onde o DNA antigo não é acessível devido à degradação fossil, que pode oferecer a oportunidade de reconstruir fenótipos fisiopatológicos caracterizados por padrões específicos de expressão protéica e não necessariamente codificados por DNA. A elevada sensibilidade da MS e a estabilidade das proteínas possibilitam identificar amostras pequenas e antigas inclusive em amostras parcialmente degradadas. Amostras com essas características, ínfima quantidade, antigas e até mesmo arqueológicas e/ou degradadas por diversos fatores, são comumente encontradas nas diversas áreas das Ciências Forenses. O sequenciamento de regiões peptídicas do dimorfismo do gênero encontrado no esmalte dentário, pode ser útil na determinação do sexo.A análise proteômica auxilia na diferenciação de origens étnicas e oferecer uma abordagem para o uso de evidências de cabelo em cenas de crime na distinção entre indivíduos. As informações provenientes da caracterização proteômica complementam o exame microscópico e de DNA, e aumentam o seu valor probatório. Auxilia na identidade e a ancestralidade biogeográfica pelos peptídeos variantes na proteína do eixo do cabelo, auxiliando na antropologia e na genética forense.

A cor dos olhos pode permitir a associação de marcadores genéticos através da MS servindo como um recurso valioso para futuras investigações. Entre outras abordagens como a identificação de manchas biológicas em local de crime que é fundamental que haja um método capaz de estabelecer uma relação unívoca entre os elementos em questão com capacidade de associar um extrato de DNA a um tecido específico, como saliva humana, fluido seminal, urina, fluido vaginal, sangue periférico e fluido menstrual. Além da análise em amostra de 9 anos de idade submetida a tratamento químico para realçar a visualização do sangue. Esta eficácia e impacto na prática forense acelera as investigações laboratoriais e fornece mais evidências confiáveis e informativas.

Esse tipo de tecnologia também pode ser empregado na análise dos projetis de arma de fogo auxiliando a autópsia da Medicina Legal segundo Dammeier et al. (2016). Na Criminologia, no desenvolvimento de novos métodos diagnósticos e terapêuticos de doenças mentais como esquizofrenia e condições psiquiátricas. Na toxicologia forense através de biomarcadores da eficácia e da toxicidade de drogas beneficiar no diagnóstico, na descoberta de fármacos e na elucidação de mecanismos da ação de drogas inclusive na análise do esmalte dentário em exposições a metais pesados e intoxicação por metanol.

A evolução de tecnologia avançada no estudo das proteínas humanas representa um recurso inestimável inclusive com importantes aplicações forenses na investigação e na prova criminal. Este estudo aprofundado das proteínas pode auxiliar na identificação de amostras biológicas e diferenciação de fluidos corporais, tecidos e órgãos humanos encontrados em cenas de crimes através de uma análise conclusiva e em única etapa, onde hoje são aplicados diversos testes porém, apenas presuntivos; Pode auxiliar nos exames de corpo de delito, inclusive toxicológico; Auxiliar no diagnóstico de doenças mentais em Criminologia, aumentando a confiabilidade nos resultados, e consequentemente, favorecendo a justiça; e auxiliar na área de Arqueologia e Antropologia Forense no estudo da evolução das espécies, na estimativa da ancestralidade, sexo, cor dos olhos e do cabelo graças à estabilidade e resistência de proteínas em condições degradantes o que contribui na identificação de corpos, ossadas e mesmo carbonizados.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ABHILASH, M. *Applications Of Proteomics.* The Internet Journal of Genomics and

Proteomics, v.4, n.1, p. 01-07, 2009.

2. CAPPELLINI, E.; JENSEN, L.J.; SZKLARCZYK, D.; GINOLHAC, A.; DA FONSECA, R.A.; STAFFORD, T.W. et al. *Proteomic analysis of a pleistocene mammoth femur reveals more than one hundred ancient bone proteins*. Journal of Proteome Research, v. 11, p. 917–926, 2012.

3. DAMMEIER, S.; NAHNSEN, S.; VEIT, J.; WEHNER, F.; UEFFING, M.; KOHLBACHER, O. *Mass-spectrometry-based proteomics reveals organ-specific expression patterns to be used as forensic evidence*. Journal of Proteome Research, Washington, v. 15, p. 182−192, 2016.

4. FUJIHARA, J.; FUJITA, Y.; YAMAMOTO, T.; NISHIMOTO, N.; KIMURA-KATAOKA, K.; KURATA, S. et al. *Blood identification and discrimination between human and nonhuman blood using portable Raman spectroscopy*. International Journal of Legal Medicine, v. 131, p. 319-322, 2017.

5. HÄGGMARK, A.; SCHWENK, J.M.; NILSSON, P. *Neuroproteomic profiling of human body fluids*. Proteomics - Clinical Applications. v. 10, p. 485–502, 2016.

6. KIM, M.S.; PINTO, S.M.; GETNET, D. et al. *A draft map of the human proteome*. Nature, London, v. 509, p. 575-81, 2014.

7. MUÑOZ, J; HECK, A.J.R. *From the human genome to the human proteome*. Angewandte Angewandte Chemie International Edition, v. 53, p. 10864 – 10866, 2014.

8. STEENDAM, K.V.; CEULENEER, M.D.; DHAENENS, M.; HOOFSTAT, D.V.; DEFORCE, D. *Mass spectrometry-based proteomics as a tool to identify biological matrices in forensic science*. International Journal of Legal Medicine, Washington, v. 127, p. 287–298, 2013.

9. TYERS, M.; MANN, M. *From genomics to proteomics*. Nature, Londres, v. 422, p. 193-197, 2003.

10. UHLÉN, M.; FAGERBERG, L.; HALLSTRÖM, B.M.; LINDSKOG, C.; OKSVOLD, P.; MARDINOGLU, A. et al. *Tissue-based map of the human proteome*. Science, Washington. v. 347, n. 6220, p. 1260419-1 –9, 2015.

11. WADSWORTH, C.; BUCKLEY, M. *Proteome degradation in fossils: investigating the longevity of protein survival in ancient bone*. Rapid Communications in Mass Spectrometry, v. 28, p. 605–615, 2014.

12. WILHELM, M.; SCHLEGL, J.; HAHNE, H. et al. *Mass-spectrometry-based draft of the human proteome*. Nature, London. v. 509, p. 582-7, 2014.