



CENTRO UNIVERSITÁRIO DE BRASÍLIA – UnICEUB
PROGRAMA DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

Felipe de Lacerda Pereira

**LIPIDÔMICA DAS IMPRESSÕES DIGITAIS EM CIÊNCIAS FORENSES: UTILIZAÇÃO
DA IMPRESSÃO QUÍMICA NA IMPRESSÃO MORFOLÓGICA PELA
ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

BRASÍLIA

2019



Felipe de Lacerda Pereira

**LIPIDÔMICA DAS IMPRESSÕES DIGITAIS EM CIÊNCIAS FORENSES: UTILIZAÇÃO
DA IMPRESSÃO QUÍMICA NA IMPRESSÃO MORFOLÓGICA PELA
ESPECTROMETRIA DE MASSAS**

Relatório final de pesquisa de Iniciação Científica
apresentado à Assessoria de Pós-Graduação e
Pesquisa.

Orientação: Aline Maria Araújo Martins

BRASÍLIA

2019

RESUMO

A Papiloscopia é a ciência responsável pelo processo de identificação de impressões digitais, tanto no meio civil quanto criminal. Diversos estudos nesta área foram responsáveis pelo aprimoramento das metodologias utilizadas neste processo. Dentre as tecnologias mais recentes a serem utilizadas no âmbito das ciências forenses está a espectrometria de massas, sendo ampla as possibilidades para sua utilização. Com uma grande importância no estudo analítico da Lipidômica, ciência responsável por estudar as vias e interações celulares nas quais os lipídeos atuam, a espectrometria de massas foi selecionada neste estudo como ferramenta para análise do perfil lipídico encontrado nas impressões digitais. Os lipídeos constituintes da pele humana são diversos, por este motivo o estudo da constituição da camada mais superficial da pele, o denominado Stratum Corneum foi necessária. Sua formação é dependente de diferentes fatores como dieta, temperatura e idade. Para compreender se existem perfis lipídicos que diferem entre os indivíduos foi estudada a literatura existente para então avaliar os resultados das extrações das amostras da camada lipídica que compõe as digitais dos sujeitos avaliados. A coleta de amostras foi realizada a partir do modelo BLIGH & DYER modificado (1959) para extração de lipídeos totais.

Palavras-Chave: Espectrometria de Massas. Lipidômica. Impressões Digitais.

SUMÁRIO

| | |
|---------------------------------------|----------|
| 1. Introdução..... | 1 |
| 2. Objetivos..... | 2 |
| 3. Fundamentação Teórica..... | 2 |
| 3.1 Papiloscopia..... | 2 |
| 3.2 Lipidômica..... | 2 |
| 4. Métodos..... | 3 |
| 5. Resultados e Discussão..... | 4 |
| 6. Considerações Finais..... | 4 |
| 7. Referências..... | 5 |

1. Introdução:

As impressões digitais são as formas de identificação mais recorrentemente utilizadas no reconhecimento individual nas Ciências Forenses. Seu estudo é denominado Papiloscopia, sendo definida como a ciência responsável pela individualização humana a partir das papilas dérmicas presentes nas regiões palmar e plantar, das mãos e dos pés respectivamente [1]. Inovações tecnológicas nesta área são cada vez mais fundamentais para complementar outros métodos já existentes e se obter resultados ainda mais conclusivos.

A espectrometria de massas (EM) é uma modalidade de análise química baseada na identificação direta de moléculas diante de suas razões massa/carga e de seus padrões de fragmentação particulares [2]. Essa ferramenta surgiu no contexto forense como uma possibilidade a se recorrer em casos com exigência de diferenciação de padrões moleculares específicos. Avaliações toxicológicas em impressões palmares [3] e a determinação da variação qualitativa dos compostos lipídicos em digitais aderidas a diferentes superfícies [4], são alguns exemplos da utilidade de tal ferramenta para as ciências forenses.

A Lipidômica é a ciência responsável por estudar todo o conteúdo lipídico celular, conhecido como lipidoma, utilizando-se dos princípios da química analítica para isto [5]. A EM é considerada o melhor e mais efetivo método para quantificar e qualificar estruturas lipídicas [6]. A modalidade MALDI-TOF-TOF de EM, é utilizada usualmente na imagética de perfis lipídicos [7]. Sua funcionalidade se baseia na associação da amostra a um componente matriz, no qual é irradiado um feixe de raio laser de 334 nm. As moléculas irradiadas, adsorvem a energia e a transferem para as moléculas adicionadas com prótons, sendo os lipídeos as moléculas alvo neste estudo. Logo após, um captador detecta as variações de energia e a traduz, por meio de um software, para um gráfico [8].

O processo de análise do perfil lipídico de digitais palmares surgiu com o conhecimento, já bem estabelecido, de alta variabilidade da camada lipídica denominada de Stratum Corneum (SC) [9,10,11,12]. Esta camada fica localizada nos primeiros 20 picômetros superficiais da epiderme e é formada não só por lipídeos, mas também por diferentes compostos importantes para a manutenção de sua integridade. O SC pode ser afetado por diversos fatores. No contexto cronológico, é observado que há uma depleção significativa de todos os compostos lipídicos presentes nesta camada com o envelhecimento, porém um aumento pontual relativo ocorre durante as estações com temperaturas mais elevadas, como verão e outono [10,11,13,14]

A temperatura também tem sido um fator associado a mudança na alteração da composição do SC [11,12]. Temperaturas mais elevadas, conseqüentemente, aumentam as secreções pelo suor. Este fator possibilita compreender que variações anuais de temperatura, durante diferentes estações, podem comprometer os números de secreções sebáceas alterando as concentrações lipídicas no SC [10,13,14].

A alimentação é conhecida por alterar as concentrações lipídicas no SC de forma significativa. Dietas com alto consumo de ácidos graxos de cadeias longas são favoráveis para a manutenção das vias lipofílicas localizadas na camada superficial da pele, facilitando a absorção de substâncias lipofílicas e dificultando para substâncias hidrofílicas [15,16].

A ciência forense, hoje, com o aumento da criminalidade e conseqüentemente dos processos judiciais diariamente iniciados, exige que novas tecnologias acelerem e efetivem a identificação criminal [17]. Muitas destas tecnologias, como a espectrometria de massas, são ainda caras para a aquisição em larga escala, entretanto é notável o investimento estatal no contexto científico desta área pelo fato de seu custo benefício ser mais favorável do que a imensa carga de verba destinada a justiça todos os anos para casos não solucionados [17,18].

Considerando o contexto apresentado, foi objetivado por este estudo avaliar a viabilidade de se utilizar da EM para analisar perfis lipídicos em impressões de diferentes indivíduos e então definir suas especificidades para diferenciação. Com uma tecnologia tão precisa na distinção de lipídeos será possível avaliar padrões inerentes ao estilo de vida de cada um.

2. Objetivos:

O objetivo desta pesquisa foi fundamentada na análise de perfis lipídicos dos sujeitos avaliados por meio do espectrômetro de massas, para avaliar a possibilidade do uso deste método futuramente como identificador e diferenciador de suspeitos nas ciências forenses. Foi realizado também uma revisão da literatura conhecida sobre a composição natural da camada lipídica superficial da pele denominada *Stratum Corneum* e suas possíveis alterações dependentes do indivíduo e do meio ambiente.

3. Fundamentação Teórica:

3.1 Pampiloscopia

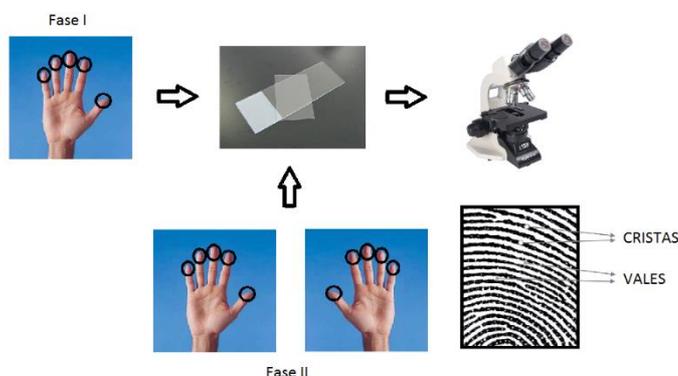
A análise de impressões digitais apresenta extrema importância no meio forense para identificação de suspeitos e ainda continua sendo um dos métodos mais utilizados na área [19]. Uma impressão é formada por secreções transferidas de um indivíduo para um substrato, deixando um padrão de cristas e vales no objeto tocado com os dedos [20]. Este padrão de cristas e vales varia entre os indivíduos, mas além disso a composição destas secreções também depende de variações na composição da epiderme. Tais secreções derivam de duas origens diferentes: componentes metabólicos ou traços de medicamentos e componentes externos (substâncias em contato com a pele, sujidades, entre outros agentes externos) [21].

3.2 Lipidômica

Os lipídeos são metabólitos essenciais para o funcionamento celular, isso não apenas pela sua função em sua constituição celular, mas no processo de sinalização extremamente importante para o funcionamento adequados das células. A composição total de lipídeos de uma célula é denominada lipidoma e a Lipidômica é a ciência responsável por estudar esta questão [22]. Existem 4 vias metabólicas essenciais para o estudo da lipidômica: esfingolipídeos, glicerofosfolipídeos, glicerolipídeos e ácidos graxos não esterificados. O entendimento da composição dessas vias permite entender como variações internas e externas ao indivíduo podem modula-las [23].

Os esfingolípídeos tem como importante função a composição das membranas celulares, por este motivo alterações em suas concentrações podem acabar gerando alterações estruturais nas células [24]. Glicerofosfolípídeos são os lipídeos encontrados em maior quantidade nas células. Alterações genéticas e ambientais podem alterar as concentrações das enzimas responsáveis por sua síntese, dessa forma influenciando em sua distribuição e quantidade no meio celular [25]. Alterações em concentrações de ácidos graxos não esterificados também podem comprometer o funcionamento celular, isso por causa da capacidade que estes tem de alterar a permeabilidade celular, conseqüentemente o processo de transportes celular [26].

4. Métodos



O processo de obtenção de amostras lipídicas para a análise pela espectrometria de massas seguiu o protocolo de extração de lipídeos totais (método de Bligh & Dyer modificado – 1959), onde 13 voluntários tiveram a remoção de suas amostras por meio da coleta dos dez quirodáctilos de cada um em tubos identificados e seguiu os seguintes passos:

1. O pellet de células em 150 μL de água Milli Q foi ressuspendido;
2. Adicionou-se 190 μL de clorofórmio (grau HPLC) a cada amostra;
3. Adicionou-se 375 μL de metanol (grau HPLC) às amostras;
4. Misturou-se em vórtex por 2 min, proporcionando a formação de uma única fase;
5. Acrescentou-se 167.4 μL de clorofórmio (grau HPLC) a cada uma das amostras;
6. Depositou-se mais 150 μL de água Milli Q (grau HPLC), gerando a partir deste momento duas fases, para então centrifugar (5 min/ 14.000 rpm);
7. O clorofórmio contendo lipídeos na região inferior é transferida para outro tubo e seca no concentrador com vácuo e rotação;
8. As amostras foram armazenadas a -20°C ;

9. Foi estabelecido que no momento da análise as amostras seriam ressuspendidas em metanol e clorofórmio (1:1).

5. Resultados e Discussão

A realização de reuniões ao longo do 2º semestre de 2018 no Instituto de Papiloscopia da Polícia Civil foram fundamentais para o processo. A partir de tais reuniões, deu-se início a confecção da revisão narrativa voltada para a compreensão da formação, constituição e modificação da camada denominada *Stratum Corneum* (localizada na epiderme) e como esta pode ser possivelmente utilizada, associadas às impressões digitais, para diferenciar ou individualizar suspeitos. O objetivo desta revisão é abordar a possibilidade da utilização da modalidade MALDI TOF-TOF de espectrometria de massas para a avaliação de perfis lipídicos e identificação de diferentes indivíduos por meio de características pessoais que possam alterar a composição desta camada em comum. Pode-se compreender que com o término da busca bibliográfica será possível realizar, diante da análise das amostras futuramente obtidas laboratorialmente e categorizadas por um espectrômetro de massas, resultados que possam comprovar a efetividade desta questão.

Após o primeiro encontro no Instituto de Papiloscopia da Polícia Civil do DF foram realizadas discussões sobre como seriam desenvolvidos os procedimentos para obtenção do conteúdo lipídico das digitais. Foi definido que a utilização do clorofórmio deveria ser a ideal para a obtenção da solução diluída de SC para análise, pela sua alta volatilidade e capacidade de remoção desta camada. Dividiu-se o processo em duas etapas. A primeira se tratava da extração da camada lipídica dos 10 dedos dos voluntariados usando de clorofórmio ejetado por uma micropipeta em sentido distal as mãos para a remoção da camada lipídica. Não houve condicionamento externo dos voluntariados sob pedido dos avaliadores nesta etapa inicial. A segunda etapa solicitaria aos avaliados que realizassem o processo de *grooming*, desta forma ao passar as mãos por diferentes locais do corpo, suas mãos poderiam recuperar o conteúdo lipídico retirado pelo clorofórmio anteriormente. Logo após seriam extraídos novamente pelo clorofórmio as estruturas lipídicas do SC. Cada voluntariado teria duas coletas e ambas seriam avaliadas separadamente e identificadas por iniciais.

No primeiro semestre de 2019, diante do processo de coleta, foi necessário que o pesquisador realizasse dois minicursos para obtenção da capacidade para realizar o processo. O primeiro minicurso teve como objetivo o processo de treinamento para pipetagem, onde foi aprendido como manipular a pipeta e realizar os processos de centrifugação. No segundo minicurso, foram realizados os processos de extração de amostras lipídicas totais de 13 indivíduos, já explicitados anteriormente. Mesmo com a obtenção das amostras para análise não foi possível concluir a pesquisa inicialmente proposta. A análise necessária pela espectrometria de massas foi impossibilitada pela quebra do equipamento necessário, o espectrômetro de massas.

6. Considerações Finais:

O projeto proposto inicialmente, mesmo tendo sido possível a realização da coleta das amostras e o aprendizado adquirido no processo a respeito de métodos de coleta não conseguiu atingir seu objetivo final da análise dos perfis lipídicos das impressões digitais dos sujeitos da pesquisa.

Um imprevisto, mas infelizmente fundamental para a conclusão do estudo impediu que fosse possível obter resultados que comprovassem ou não o que foi proposto pelo projeto inicial.

7. REFERÊNCIAS

[1] Ulery, B. T., Hicklin, R. A., Kiebusinski, G. I., Roberts, M. A., & Buscaglia, J. (2013). *Understanding the sufficiency of information for latent fingerprint value determinations. Forensic Science International, 230(1-3), 99–106*.doi:10.1016/j.forsciint.2013.01.012 .

[2] Urban, Pawel L. "Quantitative mass spectrometry: an overview" *Philosophical transactions. Series A, Mathematical, physical, and engineering sciences* vol. 374,2079 (2016): 20150382.

[3] Muramoto, S., Forbes, T. P., van Asten, A. C., & Gillen, G. (2015). *Test Sample for the Spatially Resolved Quantification of Illicit Drugs on Fingerprints Using Imaging Mass Spectrometry. Analytical Chemistry, 87(10), 5444–5450*.doi:10.1021/acs.analchem.5b01060.

[4] Archer, N. E., Charles, Y., Elliott, J. A., & Jickells, S. (2005). *Changes in the lipid composition of latent fingerprint residue with time after deposition on a surface. Forensic Science International, 154(2-3), 224–239*.

[5] Han, X. (2016). *Lipidomics for studying metabolism. Nature Reviews Endocrinology, 12(11), 668–679*.doi:10.1038/nrendo.2016.98

[6] [10] Hu T., Zhang J.-L. Mass-spectrometry-based lipidomics. *Journal of Separation Science*. 2018;41(1):351–372. doi: 10.1002/jssc.201700709.

[7] Gogichaeva, N.V., Williams, T. & Alterman, M.A. *J Am Soc Mass Spectrom* (2007) 18: 279. <https://doi.org/10.1016/j.jasms.2006.09.013>

[8] O'Rourke, M. B., Smith, C. C., De La Monte, S. M., Sutherland, G. T., & Padula, M. P. (2019). Higher mass accuracy MALDI-TOF/TOF lipid imaging of human brain tissue in Alzheimer's disease. *Current Protocols in Molecular Biology*, e86. doi: [10.1002/cpmb.86](https://doi.org/10.1002/cpmb.86)

[9] Antoine, K. M., Mortazavi, S., Miller, A. D., & Miller, L. M. (2010). *Chemical Differences Are Observed in Children's Versus Adults' Latent Fingerprints as a Function of Time. Journal of Forensic Sciences, 55(2), 513–518*.

[10] Lehman, P. A., & Franz, T. J. (1993). *Effect of Age and Diet on Stratum Corneum Barrier Function in the Fischer 344 Female Rat. Journal of Investigative Dermatology, 100(2), 200–204*. doi:10.1111/1523-1747.

[11] Rogers, J., Harding, C., Mayo, A., Banks, J., & Rawlings, A. (1996). *Stratum corneum lipids: the effect of ageing and the seasons. Archives of Dermatological Research, 288(12), 765–770*. doi:10.1007/bf02505294

[12] SPENCER, T. S., LINAMEN, C. E., AKERS, W. A., & JONES, H. E. (2006). *Temperature dependence of water content of stratum corneum. British Journal of Dermatology, 93(2), 159–164*.

[13] Boireau-Adamezyk, E. , Baillet-Guffroy, A. and Stamatas, G. N. (2014), Age-dependent changes in stratum corneum barrier function. *Skin Res Technol*, 20: 409-415. doi:[10.1111/srt.12132](https://doi.org/10.1111/srt.12132)

[14] Rawlings A.V. (2010) The Stratum Corneum and Aging. In: Farage M.A., Miller K.W., Maibach H.I. (eds) Textbook of Aging Skin. Springer, Berlin, Heidelberg

[15] Lehman, P. A., & Franz, T. J. (1993). *Effect of Age and Diet on Stratum Corneum Barrier Function in the Fischer 344 Female Rat*. *Journal of Investigative Dermatology*, 100(2), 200–204. doi:10.1111/1523-1747.ep12462809

[16] Menton, D. N. (1970). *The effects of essential fatty acid deficiency on the fine structure of mouse skin*. *Journal of Morphology*, 132(2), 181–205. doi:10.1002/jmor.1051320206

[17] Ludwig, A., & Fraser, J. (2014). *Effective use of forensic science in volume crime investigations: Identifying recurring themes in the literature*. *Science & Justice*, 54(1), 81–88. doi:10.1016/j.scijus.2013.09.006

[18] DEADMAN, W J. "FORENSIC MEDICINE: AN AID TO CRIMINAL INVESTIGATION" *Canadian Medical Association journal* vol. 92,13 (1965): 666-70.

[19] S. Adebsi, Fingerprint studies — the recent challenges and advancements: a literary view, *Internet J. Biol. Anthropol.* 2 (2) (2009) 3.

[20] B. Jones, *Comprehensive Medical Terminology: A Competency-Based Approach*, 3rd ed. Thomson Delmar Learning, USA, 2008.

[21] A. Girod, R. Ramotowski, C. Weyermann, Composition of fingerprint residue: a qualitative and quantitative review, *Forensic Sci. Int.* 223 (1) (2012) 10–24.

[22] Yetukuri, L. et al. Bioinformatics strategies for lipidomics analysis: characterization of obesity related hepatic steatosis. *BMC Syst. Biol.* 1, 12 (2007).

[23] Griffiths, W. J. Tandem mass spectrometry in the study of fatty acids, bile acids, and steroids. *Mass Spectrom. Rev.* 22, 81–152 (2003).

[24] Gault, C. R., Obeid, L. M. & Hannun, Y. A. An overview of sphingolipid metabolism: from synthesis to breakdown. *Adv. Exp. Med. Biol.* 688, 1–23 (2010).

[25] Vance, J. E. Phosphatidylserine and phosphatidylethanolamine in mammalian cells: two metabolically related aminophospholipids. *J. Lipid Res.* 49, 1377–1387 (2008).

[26] Nakamura, M. T. & Nara, T. Y. Structure, function, and dietary regulation of $\Delta 6$, $\Delta 5$, and $\Delta 9$ desaturases. *Annu. Rev. Nutr.* 24, 345–376 (2004).

[27] E. G. Bligh, W. J. Dyer (1959) A RAPID METHOD OF TOTAL LIPID EXTRACTION AND PURIFICATION. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology*, 1959, 37(8): 911-917, 10.1139/059-099.

