

**UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE QUÍMICA DE SÃO CARLOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA ANALÍTICA E INORGÂNICA**

**Planejamento do tipo Plackett-Burman no preparo de amostras de líquido
cefalorraquidiano para estudo lipidômico**

FÁBIO APARECIDO DAMASCENO

**SÃO CARLOS
2024**

FABIO APARECIDO DAMASCENO

Planejamento do tipo Plackett-Burman no preparo de amostras de líquido cefalorraquidiano para estudo lipidômico

Dissertação de Mestrado apresentada ao Instituto de Química de São Carlos da Universidade de São Paulo como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Química.

Área de concentração: Química Analítica e Inorgânica

Orientador: Prof. Dr. Emanuel Carrilho

Coorientador: Prof. Dr. Nilson Antônio de Assunção

SÃO CARLOS

2024

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Assinatura:

Data:

Ficha Catalográfica elaborada pela Seção de Referência e Atendimento ao Usuário do SBI/IQSC

Damasceno, Fabio Aparecido

Planejamento do tipo Plackett-Burman no preparo de amostras de líquido cefalorraquidiano para estudo lipidômico / Fabio Aparecido Damasceno. — São Carlos, 2024.

136 f.

Dissertação (Mestrado em Química Analítica e Inorgânica) — Instituto de Química de São Carlos / Universidade de São Paulo, 2024.

Orientador: Prof. Dr. Emanuel Carrilho

Coorientador: Prof. Dr. Nilson Antônio de Assunção

1. Lipidômica. 2. Preparo de amostras. 3. Microextração em fase sólida. 4. Espectrometria de massas. 5. Esclerose Múltipla. I. Título.



DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho a todos os cientistas que desafiam o mundo natural na busca de conhecimento e de possibilidades de melhora na qualidade de vida das pessoas.

Dedico também a todos os pacientes que cederam suas amostras biológicas, material essencial para desenvolvimento desta proposta de trabalho.

AGRADECIMENTOS

Inicialmente, gostaria de agradecer aos meus pais Pedro e Fátima por tudo o que sou e por tudo o que fizeram por mim. Agradeço também pela fraternidade e cumplicidade de minhas irmãs Beatriz e Tainá.

Agradeço aos professores Dr. Emanuel Carrilho e Dr. Nilson Antônio de Assunção pela orientação, oportunidade de formação e trabalho acadêmico-científico.

Agradeço ao professor Dr. Luís Gustavo Dias pela amizade, carinho, respeito desde os tempos de graduação. Destaco ainda meus agradecimentos à Prof. Dra. Rogéria Rocha Gonçalves e Prof. Luiz Alberto Beraldo de Moraes, docentes da FFCLRP-USP pela inspiração e por compartilharem seus conhecimentos de Química.

Agradeço a Luis Roberto da Silva (Beto) por ser meu primeiro professor de Química e meu exemplo pessoal de conduta profissional e humana. Obrigado por ter mudado a minha vida!

Agradeço a MSc. Chubraider Xavier por todo auxílio e pelas ricas, cruciais e decisivas discussões no âmbito da Quimiometria, cujo companheirismo ultrapassou o significado das palavras. Eu realmente não consigo empregar justamente palavras que expressem a minha mais profunda gratidão.

Agradeço aos colegas de laboratório por toda ajuda e experiências ao longo deste processo.

Agradeço às minhas amigas Dra. Letícia A. Marques, MSc. Mariá del Bianco Puppi e MSc Natália Santos pelo apoio, motivação e ajuda ao longo desta etapa, meu mais sincero obrigado!

Agradeço aos meus amigos de Ribeirão Preto por estarem comigo mesmo que a distância: MSc. Amanda de Souza Cruz, MSc. Daniela Mica Espímpolo, Larissa Missano, Priscila Rodrigues, MSc. Priscila de Mattos, MSc. Francielle de Mattos, Luciene Oliveira, Letícia Borges, MSc. Alex Castro, Larissa Azevedo e Carol Patelli.

Agradeço às minhas amigas e professoras Mikaela, Lilian e Denise que me ensinaram a ressignificar a prática docente.

Agradeço aos funcionários e técnicos desta unidade, com destaque à Gislei e Daniele do Serviço de Pós-Graduação por toda ajuda e esclarecimento nos processos acadêmicos desta etapa, além da primazia dos atendimentos prestados.

Agradeço à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto pela formação em nível de graduação e ao Instituto de Química de São Carlos pela

formação no nível de pós-graduação, duas unidades da Universidade de São Paulo que contribuíram para a minha formação em Química e ofereceram seus espaços, equipamentos e esforços dos diversos profissionais para que este trabalho fosse realizado.

O presente trabalho foi realizado com apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq. Bolsa institucional processo 130678/2019-8.

RESUMO

A proposta deste trabalho contemplou a investigação de condições de Microextração em Fase Sólida (SPME) empregando o Planejamento do tipo Plackett-Burman no preparo de amostras de líquido cefalorraquidiano de pacientes diagnosticados com Esclerose Múltipla (MtS) para análise em espectrômetro de massas de alta resolução. Pelos testes realizados preliminarmente, pôde-se constatar a heterocetasticidade dos dados e que os coeficientes de variação obtidos para as quatro faixas de m/z selecionadas para trabalho (m/z 50-600, 300-800, 700-2000 e 1000-2000) são comparáveis e variaram de 17 a 36%, tais testes também mostraram que as condições centrais dos níveis dos fatores triados foram visualmente comparáveis com os perfis espectrais obtidos pelo método de referência (Bligh e Dyer). A realização do Planejamento do tipo Plackett-Burman assistido pela função de desejabilidade para maximização da variável resposta (número de íons) mostraram que não é possível obter um modelo global que contemple as quatro faixas simultaneamente, a partir dos níveis testados, gerando uma condição de compromisso para a extração utilizando SPME: 5 min de extração e 5 min de dessorção a 30°C sem agitação em 150 μ L de metanol. Foi utilizado um *threshold* de 30% em relação ao sinal mais intenso em cada espectro obtido nas amostras de pacientes com MtS e pacientes do grupo de controle, tendo em vista as janelas de aquisição de dados nas faixas de 50-600 m/z , 300-800 m/z , 700-2000 m/z e 1000-2000 m/z , resultando em espectros com íons em ordem de grandeza entre 10^5 e 10^7 . A análise de componentes principais aponta a influência de uma diversidade de relações m/z sobre a auto-organização dos dados, que permite inferir a ausência de marcadores específicos. A PCA resultou em 8 componentes principais sem um delineamento definitivo de agrupamentos, mas com quatro amostras com perfil completamente distinto das demais. Foi utilizado o software *MZMine 3* para previsão de possíveis íons de estruturas lipídicas empregando dados MS^1 , indicando a maior potencialidade do software principalmente com dados MS^2 e acoplamento de técnicas de separação à espectrometria de massas para análises lipidômicas futuras.

Palavras-chave: lipidômica; esclerose múltipla; microextração em fase sólida; planejamento experimental; espectrometria de massas.

ABSTRACT

The purpose of this work included investigating Solid Phase Microextraction (SPME) conditions using Plackett-Burman planning in the preparation of cerebrospinal fluid samples from patients diagnosed with Multiple Sclerosis (MtS) for analysis in a high-resolution mass spectrometer. Through the tests carried out preliminarily, it was possible to verify the heteroskedasticity of the data and that the coefficients of variation obtained for the four m/z ranges selected for work (m/z 50-600, 300-800, 700-2000 and 1000-2000) are comparable and ranged from 17 to 36%, such tests also showed that the central conditions of the levels of the screened factors were visually comparable with the spectral profiles obtained by the reference method (Bligh and Dyer). Carrying out Plackett-Burman planning assisted by the desirability function to maximize the response variable (number of ions) showed that it is not possible to obtain a global model that contemplates the four bands simultaneously, from the levels tested, generating a condition of commitment for extraction using SPME: 5 min of extraction and 5 min of desorption at 30°C without stirring in 150 μ L of methanol. A threshold of 30% was used in relation to the most intense signal in each spectrum obtained in samples from patients with MtS and patients from the control group, taking into account the data acquisition windows in the ranges of 50-600 m/z , 300 -800 m/z , 700-2000 m/z and 1000-2000 m/z , resulting in spectra with ions in order of magnitude between 10⁵ and 10⁷. Principal component analysis points out the influence of a diversity of m/z ratios on the self-organization of data, which allows inferring the absence of specific markers. The PCA resulted in 8 main components without a definitive delineation of clusters, but with four samples with a completely different profile from the others. The MZMine 3 software was used to predict possible ions of lipid structures using MS¹ data, indicating the greater potential of the software mainly with MS² data and coupling separation techniques to mass spectrometry for future lipidomic analyses.

Keywords: lipidomics; multiple sclerosis; solid phase microextraction; experimental design experiments; mass spectrometry.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Modelo comercial de sistema SPME.....	10
Figura 2 - Casos de MtS no cenário mundial em cada 100.000 habitantes.....	13
Figura 3 -Espectros de massas de CSF a partir da LLE.....	23
Figura 4 - Espectros de massas de CSF com uso de sistema SPME	24
Figura 5 - Extração de classes de lipídios em diferentes solventes.....	25
Figura 6 - Distribuição das médias das respostas para os experimentos de triagem de níveis para as faixas: (a) m/z 50 – 600 (b) m/z 300 – 800 (c) m/z 700 – 2000 (d) m/z 1000 – 2000.....	28
Figura 7 - Gráfico de Pareto para o Planejamento Plackett-Burman para a faixa m/z 50 – 600.....	32
Figura 8 – Gráfico de Pareto para o Planejamento Plackett-Burman para a faixa m/z 300 - 800.....	34
Figura 9 - Gráfico de Pareto para o Planejamento Plackett-Burman para a faixa m/z 700 - 2000.....	36
Figura 10 - Gráfico de Pareto para o Planejamento Plackett-Burman para a faixa m/z 1000 - 2000.....	38
Figura 11 - Gráfico de Pareto para o Planejamento Plackett-Burman para a desejabilidade.....	41
Figura 12 - Gráfico de Pareto para o Planejamento Plackett-Burman para a desejabilidade global do primeiro par de faixas (m/z 50 – 600 e m/z 300 - 800).....	43
Figura 13 - Gráfico de Pareto para o Planejamento Plackett-Burman para a desejabilidade global do segundo par de faixas (m/z 700 – 2000 e m/z 1000 - 2000).....	44
Figura 14 - Espectro de massas na faixa de 50-600 m/z a partir de amostras de pacientes com MtS e pacientes com quadro clínico diverso.....	46
Figura 15 - Espectro de massas na faixa de 300-800 m/z a partir de amostras de pacientes com MtS e pacientes com quadro clínico diverso.....	47
Figura 16 - Espectro de massas na faixa de 700-2000 m/z a partir de amostras de pacientes com MtS e pacientes com quadro clínico diverso.....	48
Figura 17 - Espectro de massas na faixa de 1000-2000 m/z a partir de amostras de pacientes com MtS e pacientes com quadro clínico diverso.....	49

Figura 18 - Análise de Componente Principais para os espectros alinhados, em resolução unitária, de pacientes com e sem esclerose múltipla: (a) Capacidade de explicar variabilidade atribuído a cada uma das oito componentes principais; (b) Contribuição das relações massa/carga na variabilidade dos dados; (c) Score plot para a PC7 vs. PC8; (d) biplot para PC7 vs. PC851

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Número de estruturas por categoria lipídica	6
Tabela 2 - Fases poliméricas comerciais para SPME	11
Tabela 3 - Informações sobre os participantes da pesquisa (pacientes com MtS e controles)	19
Tabela 4 - Fatores estudados no planejamento inicial.....	26
Tabela 5 - Experimentos exploratórios de triagem de nível para as quatro faixas de m/z (Continua)	26
Tabela 6 - Teste F para as quatro faixas de m/z estudadas	29
Tabela 7 - Coeficientes de variação dos experimentos realizados	29
Tabela 8 - Matriz Plackett-Burman para os seis fatores	30
Tabela 9 - Resultados do planejamento Plackett-Burman para a faixa m/z 50 – 600	31
Tabela 10 - Efeitos principais calculados a partir do planejamento Plackett-Burman para a faixa m/z 50 - 600	31
Tabela 11 - Resultados do planejamento Plackett-Burman para a faixa m/z 300 – 800	33
Tabela 12 - Efeitos principais calculados a partir do planejamento Plackett-Burman para a faixa m/z 300 - 800.....	33
Tabela 13 – Resultados do planejamento Plackett-Burman para a faixa m/z 700 – 2000	35
Tabela 14 - Efeitos principais calculados a partir do planejamento Plackett-Burman para a faixa m/z 700 - 2000.....	35
Tabela 15 - Resultados do planejamento Plackett-Burman para a faixa m/z 1000 – 2000.....	37
Tabela 16 - Efeitos principais calculados a partir do planejamento Plackett-Burman para a faixa m/z 1000 - 2000.....	37
Tabela 17 - Número médio de íons, desejabilidade individuais e desejabilidade global calculados a partir dos resultados das quatro faixas estudadas no Planejamento de Plackett-Burman	40
Tabela 18 - Efeitos principais calculados a partir do planejamento Plackett-Burman para a desejabilidade global.....	40

Tabela 19 - Novas desejabilidades globais calculadas para os pares de faixas de m/z	42
Tabela 20 - Efeitos principais calculados a partir do planejamento Plackett-Burman para a desejabilidade global do primeiro par de faixas (m/z 50 – 600 e m/z 300 - 800)	42
Tabela 21 - Efeitos principais calculados a partir do planejamento Plackett-Burman para a desejabilidade global do segundo par de faixas (m/z 700 – 2000 e m/z 1000 - 2000).....	43
Tabela 22 – Quantidade de possíveis íons de espécies lipídicas indicados pelo software MZMine 3 em amostras de CSF de pacientes com MtS. (continua).....	54
Tabela 22 – Quantidade de possíveis íons de espécies lipídicas indicados pelo software MZMine 3 em amostras de CSF de pacientes com MtS. (continuação)	55
Tabela 23 - Quantidade de possíveis íons de espécies lipídicas indicados pelo software MZMine 3 em amostras de CSF de pacientes do grupo de controle (quadro clínico diverso) (continua)	55
Tabela 23 - Quantidade de possíveis íons de espécies lipídicas indicados pelo software MZMine 3 em amostras de CSF de pacientes do grupo de controle (quadro clínico diverso) (continuação).....	56

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

AG	Ácidos Graxos
CI	Ionização química
CID	Ionização induzida por colisão
CNS	Sistema Nervoso Central
CSF	Líquido cefalorraquiano ou fluído cérebro-espinhal
DIMS	Espectrometria de Massas por Infusão Direta
EI	Ionização por impacto de elétrons
GC	Cromatografia Gasosa
GC-MS	Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas
GL	Acilgliceróis
GP	Glicerofosfolipídios
HPLC	Cromatografia Líquida de Alta Performance
HPLC-MS	Cromatografia Líquida de Alta Performance acoplada à Espectrometria de Massas
LLE	Extração líquido-líquido
m/z	Razão massa/carga de íons gerados em espectrometria de massas
MS	Espectrometria de Massas
MS/MS	Espectrometria de Massas em Tandem
MtS	Esclerose Múltipla
PK	Policetídeos
PNS	Sistema Nervoso Periférico
PR	Prenóis
RR	<i>relapsing-remitting</i>
SL	<i>Shotgun Lipidomics</i>
SL	Glicolipídios
SLE	Lupus sistêmico eritematoso
SP	Esfingolipídios
SPME	Microextração em Fase Sólida
ST	Esteróis

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	1
2 REVISÃO DA LITERATURA	5
2.1 LIPIDÔMICA.....	5
2.2 LIPÍDIOS E NEUROLOGIA	7
2.3 AVANÇOS NA LIPIDÔMICA E ESPECTROMETRIA DE MASSAS	7
2.4 MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA.....	9
2.5 ESCLEROSE MÚLTIPLA	11
2.6 ESPECTROMETRIA DE MASSAS E ESCLEROSE MÚLTIPLA.....	14
2.7 PLANEJAMENTO DO TIPO PLACKETT-BURMAN E LIPIDÔMICA.....	15
2 OBJETIVOS	17
2.1 OBJETIVO GERAL.....	17
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	17
3 MATERIAIS E MÉTODOS	18
3.1 REAGENTES E MATERIAIS	18
3.2 AMOSTRAS DE CSF DE PACIENTES COM ESCLEROSE MÚLTIPLA E PACIENTES COM QUADRO CLÍNICO DIVERSO (GRUPO DE CONTROLE)	18
3.2 TRATAMENTO DE AMOSTRAS	19
3.2.1 Preparo de amostras por Extração Líquido-Líquido	19
3.3.2 Preparo de amostras das amostras e Microextração em Fase Sólida (SPME)	20
3.3 CONDIÇÃO DE ANÁLISE INSTRUMENTAL DO ESPECTRÔMETRO DE MASSAS	20
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	22
4.1 AVALIAÇÃO PRELIMINAR DOS ESPECTROS OBTIDOS POR <i>FULL SCAN</i> PARA AMOSTRAS EXTRAÍDAS.....	22
4.2 TRIAGEM DE NÍVEIS DAS VARIÁVEIS EM ESTUDO.....	25
4.3 PLANEJAMENTO PLACKETT-BURMAN	30

4.3.1 Faixa m/z 50 – 600	31
4.3.2 Faixa m/z 300-800	33
4.3.3 Faixa m/z 700 – 2000	35
4.3.4 Faixa m/z 1000 – 2000	37
4.3.5 Análise dos dados da matriz Plackett-Burman	39
4.4 ANÁLISE ESPECTROMÉTRICA DAS AMOSTRAS DE CSF DE PACIENTES COM ESCLEROSE MÚLTIPLA E GRUPO DE CONTROLE	46
4.5 PROCESSAMENTO DE DADOS E ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS APLICADA A LIPIDÔMICA	50
4.6 PREVISÃO DE LIPÍDIOS NAS AMOSTRAS DE CSF UTILIZANDO O SOFTWARE <i>MZMINE 3</i>	53
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	57
REFERÊNCIAS	59
APÊNDICE	68
APÊNDICE 1 – PROJEÇÕES DA ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)	68
APÊNDICE 2 – PREVISÃO DE LIPÍDIOS UTILIZANDO O <i>MZMINE 3</i> DE PACIENTES COM ESCLEROSE MÚLTIPLA E PACIENTES DO GRUPO DE CONTROLE (QUADRO CLÍNICO DIVERSO)	75

1 INTRODUÇÃO

A Química Analítica Moderna é reconhecidamente responsável pela informação química, a qual relaciona aspectos teóricos e práticos nas mais diversas investigações experimentais. Seu objetivo é fornecer informações sobre o material ou sistema estudado, distinguindo entre informações globais e parciais por meio de ferramentas, instrumentos, estratégias, metodológicas e materiais, dimensões estas interconectadas na implementação dos processos analíticos.¹

No que tange às diversas técnicas analíticas empregadas nas investigações experimentais, cita-se a Espectrometria de Massas (do inglês *Mass Spectrometry, MS*) a qual ocupa um lugar central e estratégico enquanto ferramenta na determinação da presença concentração e hipóteses estruturais de espécies químicas. Avanços notórios foram alcançados em diversas áreas da ciência decorrentes do desenvolvimento de instrumentação das técnicas espectrométricas e, conseqüentemente, obtenção de dados de alta acurácia, sendo um fator facilitador e promotor de análises químicas mais rápidas de diversas classes de substâncias.^{1;2}

O desenvolvimento da MS teve contribuições significativas dos trabalhos de J.J. Thomson (prêmio Nobel em Física, 1906), para a compreensão de grandezas como a relação carga do elétron e massa atômica da espécie química (e/m), a qual foi substituída posteriormente pela relação entre massa atômica e a carga do íon em questão (m/z), parâmetro presente nos dias atuais para compreensão dos espectros gerados pelas técnicas espectrométricas.³

Embora a MS tenha nascido no cerne de pesquisas da Física, ela é abraçada pelas diversas áreas químicas a partir dos anos 1960 do século XX, demarcando, a partir de então, uma nova possibilidade de abordagem analítica na resolução e exploração de composições de amostras em matrizes complexas até elucidação estrutural de biomoléculas e atribuição de suas funções em sistemas biológicos.³

A MS tem, constantemente, diversos avanços instrumentais em seus analisadores de massas, permitindo investigação de amostras complexas como em análises de natureza proteômica e metabolômica para as quais são necessários instrumentos robustos, de alta confiabilidade e de baixo custo de operação. Diante disso, há o surgimento do analisador Orbitrap, o qual associado com uma fonte de

ionização branda, foi responsável por gerar uma variedade de íons e dados para caracterizar os sistemas estudados.^{4; 5}

As tecnologias de investigação em amostras complexas e de vastas classes de substâncias, ordinariamente classificadas como *Omics*, ou Ciências Ômicas, surgem em um contexto de grandes avanços nas investigações clínicas e biológicas, resultando em pesquisas sobre compartimentos celulares e biomoléculas complexas a fim de coletar dados e, possivelmente, compreender as estruturas moleculares, sua localização no ambiente químico e atrelar sua função aos fenômenos bioquímicos.⁶

A primeira ciência dita “ômica” é a Genômica, termo alcunhado pelo geneticista alemão Hans Winkler em 1920 sendo atribuído como início da era *Omics*. Em 1986, após aumento significativo na produção de conhecimento pelas mais diversas pesquisas realizadas em âmbito mundial, o termo Genômica é utilizado pelo geneticista norte-americano Tom Roderick para incluir uma abordagem complexa e integrativa de todos os genes em contraste aos estudos anteriores sobre as atividades de genes isolados. Um dos grandes responsáveis pelo aumento das pesquisas ômicas foi o desenvolvimento da MS que por meio dos avanços tecnológicos em técnicas e equipamentos de alta acurácia e de alto poder de resolução permitindo a realização de análises de diversos compostos, dentre os quais ganham destaque neste trabalho as biomoléculas relacionadas a abordagens lipidômicas, que englobam lipídios e sistemas conjugados (presença de lipídios associados a açúcares ou proteínas).^{7; 8}

Tendo em vista o desenvolvimento instrumental da MS, alguns sistemas hifenados, ou seja, combinação de equipamentos e técnicas analíticas, ganharam destaque no cenário científico como por exemplo, o desenvolvimento da Cromatografia Gasosa (do inglês *Gas Chromatography, GC*) e Cromatografia Líquida (do inglês *High-performance Liquid Chromatography, HPLC*) acopladas aos espectrômetros de massas (por ionização por impacto de elétrons (do inglês *electron ionization, EI*) ou ionização química (do inglês *chemical ionization, CI*).

Entretanto, algumas restrições são bem conhecidas na investigação lipidômica ou de outras ciências ômicas via técnicas cromatográficas como por exemplo, altas demandas de tempo no preparo de amostras, exemplificado na Cromatografia Gasosa na necessidade de processos reacionais derivativos para alterar propriedades físico-química dos compostos de interesse para que sejam mais voláteis e assim seja

possível a realização da análise, enquanto que na Cromatografia Líquida, há uma necessidade emergente de aperfeiçoamento da interface entre o cromatógrafo líquido e o espectrômetro de massas devido às incompatibilidades instrumentais.⁹

Em uma abordagem lipidômica, a espectrometria de massas pode ser hifenada por técnicas de separação como cromatografia ou eletroforese ou realizada por meio da inserção direta de extratos lipídicos no espectrômetro de massas, um método conhecido como *Shotgun Lipidomics (SL)*, ou ainda por meio da inserção direta de amostras no espectrômetro de massas denominada de Espectrometria de Massas por Infusão Direta (do inglês *Direct Infusion Mass Spectrometry, DIMS*).^{10; 11; 12} Essa abordagem, facilitada pela ionização por eletrospray, é particularmente eficaz para lipídios com grupos polares em sua estrutura. A SL, conduzida em plataformas MS ou MS/MS (Espectrometria de Massas em Tandem) e utilizando instrumentação de alta precisão, como Q-TOF (analisador quadrupolo tandem TOF – do inglês *Time of Flight*) ou Orbitrap, destaca-se por proporcionar uma rápida identificação e quantificação de diversas classes de lipídios.¹³

Tendo em vista a necessidade de modificação da amostra para posterior análise, tem-se a Microextração em Fase Sólida como uma técnica de extração, limpeza da amostra e armazenamento dos espécies de interesse. A Microextração em Fase Sólida (do inglês *Solid Phase Microextraction, SPME*) foi desenvolvida nos anos 90 em direção à demanda da comunidade científica por técnicas e métodos que empregassem menores volumes possíveis de solventes orgânicos nos laboratórios e rotinas analíticas, menor manipulação da amostra pelo analista, além de um aumento na seletividade dos compostos a serem extraídos. Com a possibilidade de mudanças das fases extratoras poliméricas que recobrem a fibra de sílica fundida, as análises de biomoléculas tornaram-se operacionalmente simplificadas frente às técnicas clássicas de extração, no caso de lipídios como por exemplo Extração Líquido-Líquido (do inglês *Liquid-Liquid Extraction, LLE*), bem como mantém uma relação de proporcionalidade entre a concentração dos analitos em solução e os analitos extraídos, sendo possíveis processos de quantificação por meio curvas de calibração envolvendo adição de padrões internos.^{13; 14; 15; 16}

Ainda deve-se destacar que as investigações experimentais devem caminhar em direção à dados confiáveis, buscando uma quantidade de experimentos adequada à investigação proposta tendo em vista os fatores que influenciam o sistema em

estudo, sendo necessário um planejamento experimental antes do início das análises e uma abordagem quimiométrica dos dados obtidos, sendo ela uma poderosa ferramenta em análises lipídicas *untargeted*. Um planejamento experimental que pode ser citado aqui é do tipo Plackett-Burman o qual permite a identificação de elementos cruciais que impactam um resultado particular em experimentos. Esse planejamento se mostra eficaz na otimização de processos como a extração de lipídios, a seleção de técnicas analíticas e o ajuste de variáveis experimentais. Isso é alcançado por meio da utilização de uma matriz experimental estrategicamente organizada, que permite a avaliação do impacto de cada fator envolvido, ao mesmo tempo que minimiza a quantidade de experimentos necessários a serem realizados.^{17; 18; 19; 20; 21}

As amostras de natureza biológica como sangue, saliva, urina, pele, porções de tecidos biológicos, células, fluídos e secreções corporais, e líquido cefalorraquidiano, ou fluído cérebro-espinhal (do inglês *cerebrospinal fluid, CSF*) são objetos de estudos clínicos pautados em investigações biomoleculares em doenças como câncer, diabetes, doenças cardíacas doenças autoimunes e doenças do sistema nervoso são de amplo interesse no cenário nacional e internacional uma vez que são doenças que tem sua etiologia ainda não estabelecida ou devidamente reconhecida pela comunidade científica, sendo empregados por vezes diagnósticos demorados por meio de equipes multidisciplinares, não dispendo de teste clínico ou imagético específico.^{22 23; 24; 25; 26}

Nesta proposta de trabalho os esforços foram orientados em direção à empregar o planejamento do tipo Plackett-Burman para triagem de fatores que influenciam na extração de lipídios utilizando SPME em amostras de CSF de pacientes com esclerose múltipla (do inglês *Multiple Sclerosis, MtS*)¹.

¹ Os termos referentes à Espectrometria de Massas e Esclerose Múltipla em inglês ambos são grafados pela sigla MS. Para efeitos de diferenciação no texto, foi adotado a sigla MS para Espectrometria de Massas e MtS para Esclerose Múltipla.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 LIPIDÔMICA

A Lipidômica pode ser estabelecida enquanto um domínio dentro da Metabolômica e uma potencial chave para compreensão do papel estrutural e funcional que os lipídios desempenham no ambiente biológico, tendo enfoque em matrizes de origem animal e vegetal contemplando plasma ou soro, tecidos, células e urina.^{25; 26}

Entretanto, há divergências na literatura quanto ao uso de definições para delimitar os domínios moleculares da Lipidômica ou de um grupo restrito de lipídios alvo de investigação científica, fato que revela a necessidade e esforço de uma classificação sistemática para uso do meio científico.^{22; 27; 28; 29}

As primeiras definições sobre a natureza de um composto lipídico eram baseadas em propriedades físico-químicas como a solubilidade em solventes polares e apolares. No entanto essa definição era falha em razão das possibilidades de compostos com estruturas moleculares diversas, não ficando restritos ao um caráter polar e solúvel em solventes orgânicos como característica limitante. Portanto, deve-se abandonar essa abordagem superficial sobre a natureza dos lipídios e utilizar ferramentas e conceitos atômico-moleculares para que haja a devida categorização dessas espécies.³⁰

Desses esforços, surge em 2005 o LIPID MAPS, o qual estabelece um sistema classificatório baseado na “construção em blocos” (FAHY et al., 2011, tradução do autor) em unidades comuns ou seja, em reações para a formação dessas moléculas, incorrendo em um prolongamento cadeia carbônica e complexidade de arranjo das cadeias carbônicas, processos descritos por meio de modelos de reações de condensação de Claisen de carbocátions de isopreno (prenóis, esteróis, etc.) ou de condensação de carbânions de tio ésteres (ácidos graxos, policetídeos, etc.).³¹

Neste trabalho opta-se pelo uso de uma definição ampla sobre a classe de lipídios, e que neste momento permita a discussão aqui apresentada, a partir da qual tem-se que os “lipídios são ácidos graxos, seus derivados, e substâncias biossinteticamente correlatas ou funcionalmente a esses compostos”.⁹

Tendo em vista a necessidade de compreensão estrutural dos lipídios, mesmo que em uma classificação primária, é possível agrupar essas classes de compostos em 8 grupos distintos, organizados conforme o total de espécies disponíveis nas bases de dados de investigação lipidômica na Tabela 1.

Tabela 1 - Número de estruturas por categoria lipídica

Categoria	Abreviação	Apurados	Gerados computacionalmente	Todos
Ácidos Graxos	AG	8816	1898	10714
Acilgliceróis	GL	355	7379	7734
Glicerofosfolipídios	GP	1768	8328	10096
Esfingolipídios	SP	1821	3168	4989
Esteróis	ST	3853	0	3853
Prenóis	PR	2457	0	2457
Glicolipídios	SL	51	1294	1345
Policetídeos	PK	7164	0	7164
TOTAL		26285	22067	48352

Fonte: <<https://www.lipidmaps.org/>>. Acesso em: 12/01/2024.

No ambiente biológico, os lipídios desempenham papéis essenciais para a estruturação e manutenção da vida. Alguns desses papéis podem ser elencados ^{32; 33}:

1. Reserva energética enquanto “combustível celular”;
2. Abrangência de combinações nas formações de compostos cujas propriedades biofísicas desempenham funções específicas;
3. Estruturação da membrana plasmática e de contenção das organelas celulares desempenhando um papel de controlador de processos difusivos;
4. Depósito de mensageiros secundários latentes para vias de biossinalização;
5. Determinantes primários nas atividades proteicas transmembranares;
6. Substratos para acilações de proteínas;
7. Precursores hormonais;
8. Regulação de vias metabólicas;

Diante dessa diversidade de funções, torna-se compreensível o grande número de investigações científicas na busca de identificar, quantificar os lipídios e buscar a compreensão das funções destes no meio biológico e, se possível, correlacionar às situações não-homeostáticas, configuradas pelo desenvolvimento de doenças e

quadros disfuncionais de determinadas organelas ou células, objetos de interesse dos domínios biomédicos.

2.2 LIPÍDIOS E NEUROLOGIA

Em amplo aspecto, tem-se o Sistemas Nervosos Central e Periférico (do inglês *Central Nervous System, CNS; Peripheral Nervous System, PNS* – compreendendo o cérebro e medula espinhal, ramificações da medula espinhal, respectivamente) como ambientes teciduais ricos em lipídios (em torno de 50% em termos composicionais), caracterizada diversidade de estruturas moleculares e funções neurais.^{36; 37}

A complexidade estrutural dos lipídios reflete a suas diversas funcionalidades fisiológicas no ambiente biológico, sendo apontados como ferramentas estratégicas na compreensão de doenças e metabolismo celular de classes lipídios. No estudo da fisiologia do SNCP e dos órgãos componentes, a compreensão química e estrutural dos lipídios dessas regiões permite a investigação de processos sinápticos, desequilíbrios do metabolismo de lipídios e possíveis relações com as doenças supressoras da atividade neural ou progressão do quadro de degeneração neural.^{34; 35; 36; 37}

2.3 AVANÇOS NA LIPIDÔMICA E ESPECTROMETRIA DE MASSAS

As técnicas de ionização de moléculas em MS., foram importantes evoluções ao longo do desenvolvimento instrumental e corroboraram para uma melhora no potencial analítico da MS. Nos anos 1940, tem-se o uso de Ionização por Elétrons, enquanto nos anos 1950 têm-se a difusão de Ionização Induzida por Colisão (do inglês *Collision-induced dissociation, CID*), situações que envolviam um ambiente de alto vácuo.^{9; 38; 39}

No final da década de 1970, houve um amplo desenvolvimento da Lipidômica em função do desenvolvimento de sistemas hifenados como a Cromatografia Líquida e Cromatografia Gasosa com Espectrometria de Massas, para separação e quantificação e/ou identificação de espécies, respectivamente, contribuindo para um aumento de acurácia dos dados obtidos em função do uso de uma técnica eficiente de separação de compostos, implicando em uma alta sensibilidade e seletividade.

Uma investigação química também contemplada pelas análises lipidômicas reside na exploração de sistemas de Infusão Direta nos espectrômetros de massas, buscando resultados exatos e precisos sem manipulação excessiva das amostras e sem o uso de uma técnica de separação.^{32; 40}

Ainda nos anos 1970, tem-se o desenvolvimento da Ionização a Pressão Ambiente, que inovava instrumentalmente em termos de possibilitar uma melhor interface entre a Cromatografia Líquida e a MS, bem como análise de lipídios intocados ou com pouca fragmentação molecular, compostos de média massa molecular e de média a alta polaridade.⁴¹

Nos anos 80, a Ionização por Bombardeamento Rápido de Átomos (do inglês *Fast Bombardment Atoms, FAB*), utilizava um feixe de átomos em situação de alta energia para promover a fragmentação molecular dos compostos analisados, promovendo uma melhora na compreensão da química de íons de lipídios.⁴²

No fim da década de 80 tem início à aplicações lipidômicas envolvendo o uso da Ionização e Dessorção a Laser Assistida por Matriz (do inglês *Matrix-assisted Laser Desorption Ionization, MALDI*), utilizando o analisador de massas Tempo de Voo (do inglês *Time Of Flight, TOF*). A vantagem dessa técnica espectrométrica é o alto processamento de amostras e obtenção de dados (em torno de 1 minuto por amostra), além da possibilidade de análise em amostras líquidas ou sólidas e obtenção de espectros de massa ou aplicação em imageamento da porção biológica (cortes histológicos).^{43; 44; 45} Para análise de lipídios, utiliza-se uma matriz que absorva comprimentos de onda na faixa do ultravioleta, geralmente o ácido 2,5-dihidróxido benzóico (do inglês *dihydroxydebenzoic acid, DHB*), a qual absorve e transfere energia para o analito a ser dessorvido e ionizado e previne a formação de agregados moleculares de lipídios.^{46; 47; 48; 49}

Outra contribuição em termos instrumentais é o desenvolvimento da Ionização em Pressão Atmosférica, que engloba processos de ionização por Ionização Química (do inglês *Atmospheric Pressure Chemical Ionization, APCI*) dos compostos (fragmentação com uso de gás inerte), Fotoionização (do inglês *Atmospheric Pressure Photoionization, APPI*) necessitando de uma menor fonte de calor para dessolvatação (uso de comprimentos de onda) oferecendo baixos limites de detecção analítica sendo de 2 a 4 vezes mais sensível e Ionização por Eletropulverização.⁹

A Ionização por Eletropulverização (do inglês *Electrospray Ionization, ESI*) foi desenvolvida por Fenn e colaboradores a qual é baseada na formação de um spray por ação de um gás, propelindo a amostra em uma região de aplicação de potencial elétrico (cerca de 3 a 4kV entre o sistema de injeção e a entrada do espectrômetro de massas), incorrendo na formação de íons moleculares de alta abundância.^{50; 51} A Ionização por Eletropulverização (ESI) é uma forma de transferência de espécies moleculares em solução para a fase gasosa na forma de íons. Como ferramenta, na Espectrometria de Massas a ESI tem contribuído significativamente na análise espécies de alta massa molar, incluindo a possibilidade de análises de tecidos ou células de forma direta a partir de amostras não tratada.^{34; 52 53}

2.4 MICROEXTRAÇÃO EM FASE SÓLIDA

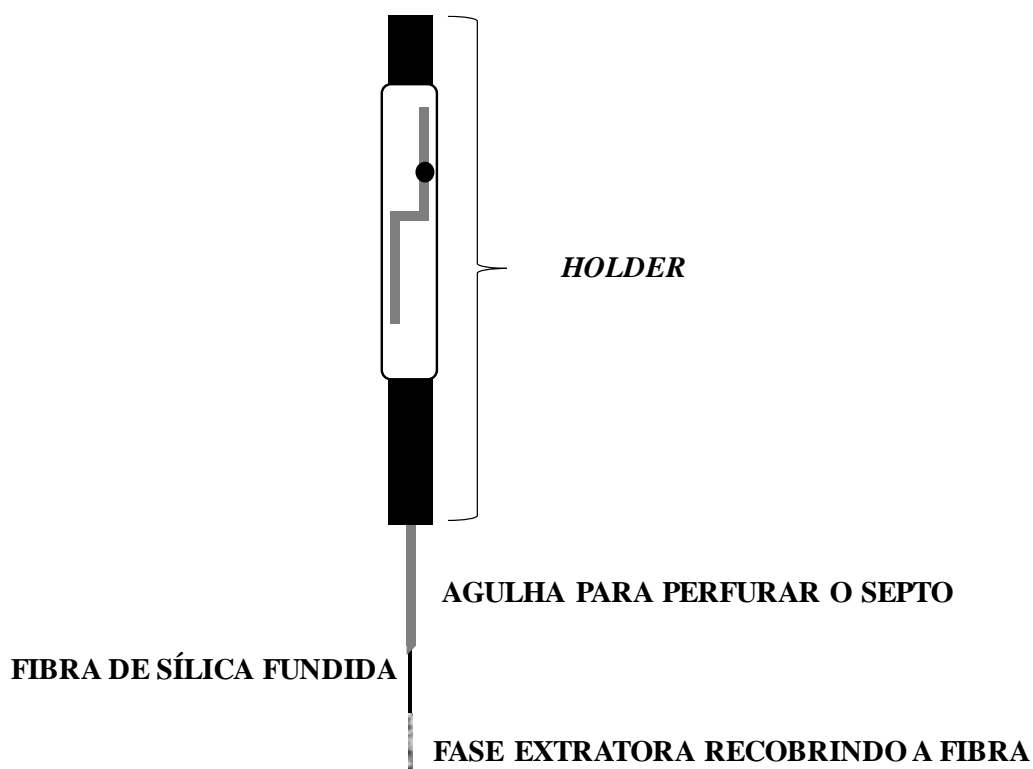
A Microextração em Fase Sólida (do inglês *Solid Phase Microextraction, SPME*), surge em um contexto de diminuição em volume ou extinção de uso de solventes orgânicos em análises químicas, caracterizando um marco tecnológico no preparo de amostras e tendo aplicações diversas nas mais variadas áreas e interesses como alimentos, meio ambiente, pesquisas clínicas, forenses e bioanalíticas, seja em abordagens exploratórias com espécies alvo ou não.^{15; 54; 55}

A SPME é um aprimoramento da Extração em Fase Sólida (SPE, do inglês *Solid Phase Extraction*), compartilhando o mesmo princípio físico, baseado nos coeficientes de distribuição de um ou mais compostos entre uma fase solvente e uma extratora nas quais ocorrem processos sortivos ou equilíbrios de solubilidade (partição) dos analitos, que se distribuem entre essas fases, de acordo com suas propriedades físico-químicas (solubilidade, tipo de interação intermolecular, tamanho, etc.).

O sistema da SPME é exemplificado abaixo na Figura 1, tendo como característica a constituição de uma fibra de sílica fundida e a possível presença de fases poliméricas ligadas quimicamente à sílica. A Figura 1 ilustra um modelo comercial de SPME (Supelco Inc[®]), no qual tem-se o *holder* que é um sistema projetado permitir o ajuste da profundidade alcançada pela agulha ao perfurar o septo do recipiente que guarda a amostra e posterior exposição da fibra e do material sortivo, ocorrendo de forma direta, por *headspace* (introdução de um sistema SPME

na atmosfera acima da amostra, tendo potencial aplicação na extração de compostos voláteis ou semi-voláteis⁵⁶) ou por fibra protegida por membrana. O uso de SPME ainda representa um novo horizonte em preparo de amostras diante da possibilidade de análise *in vivo* de forma bem menos invasiva (diante das dimensões do aparato) frente à técnicas clássicas de extração de espécies em biofluidos.^{15; 16; 57; 58; 59}

Figura 1 - Modelo comercial de sistema SPME



Fonte: Autoria própria.

A diversidade de aplicações e pesquisas envolvendo a SPME está intimamente relacionada às possibilidades de sistemas envolvendo fases poliméricas distintas que implicam em mudanças nos coeficientes de distribuição dos analitos na fase extratora, parâmetros físico-químicos comuns já empregados rotineiramente em estudos cromatográficos.⁵⁴ Na Tabela 2 abaixo, tem-se algumas fases poliméricas comercialmente disponíveis, conforme o levantamento de Dean.¹⁴

Tabela 2 - Fases poliméricas comerciais para SPME

Tamanho das partículas	Material	Fase ligante
07 mm	Polidimetilsiloxano	Ligada
30 mm	Polidimetilsiloxano	não ligada
100 mm	Polidimetilsiloxano	não ligada
85 mm	Poliacrilato	parcialmente reticulado
60 mm	Polidimetilsiloxano / divinibenzeno	parcialmente reticulado
65 mm	Polidimetilsiloxano / divinibenzeno	parcialmente reticulado
75 mm	Polidimetilsiloxano / Carboxen	parcialmente reticulado
65 mm	Carbowax / divinilbenzeno	parcialmente reticulado
50 mm	Carbowax / divinilbenzeno	parcialmente reticulado

Fonte: Adaptado de Dean.¹⁴

Na perspectiva de adequação da fase polimérica à extração de uma espécie, tem-se a fase C18 (octadecilsilano) como sistema biocompatível, ou seja, apresenta potencial na análise de biomoléculas de caráter acentuadamente apolar. Essa característica permite a exploração analítica de lipídios presentes em biofluidos e outras matrizes de origem biológica, envolvendo pouca manipulação das amostras, ganhando notoriedade nas diferentes matrizes biológicas como urina, sangue, tecidos e culturas bacterianas.^{15; 55}

2.5 ESCLEROSE MÚLTIPLA

A Esclerose Múltipla (MtS) consiste em doença afeta a medula espinhal, tronco cerebral, cerebelo, cérebro e nervos ópticos (exceto, nervos periféricos), em nível patológico a doença é caracterizada pela presença pequenas lesões devido a demielinação em massa branca e cinza no Sistema Nervoso Central (CSN), essas lesões são denominadas *esclerose* (do inglês *sclerosis*) as quais além de variados sintomas indicam sinais de disfunção de ordem neurológica. Cabe ressaltar que esse tipo de lesão pode ser levar a um diagnóstico divergente, dado que outras doenças também induzem a formação de lesões nessas áreas cerebrais isquemia, lupus sistêmico eritematoso (do inglês *systemic lupus erythematosus*, *SLE*), síndrome de Behçet, etc., implicando em uma grande dificuldade de diferenciação entre elas e a MtS. caso essa técnica seja o único parâmetro a ser analisado.³ Muitos pacientes apresentam como quadro sintomático caracterizado *relapsing-remitting* (RR), ou seja,

um quadro com sintomas imprevisíveis que podem aparecer ou desaparecer brevemente ou então, ter os sintomas atenuados por um período.⁶⁰

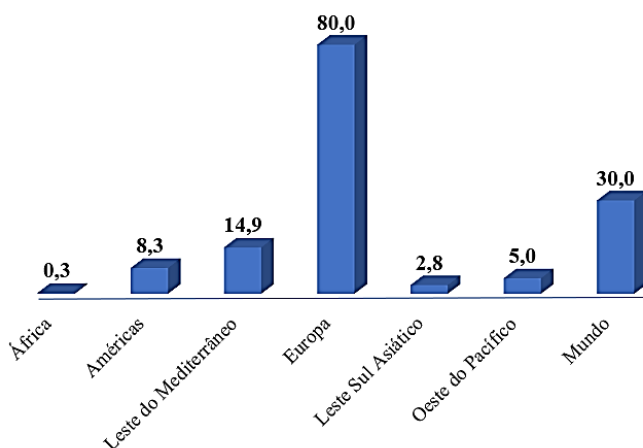
Tendo em vista o desenvolvimento metodológico e tecnológico para a devida caracterização dessa enfermidade, deve ser exaltada a intrínseca necessidade de estudo lipidômico de amostras biológicas de origem humana. Diante de padrões composicionais em amostras obtidas a partir de pacientes com MtS e grupos de controle de indivíduos saudáveis, Ionescu *et al.* (2011) e Broza *et al.* (2017) sugerem um novo caminho para obtenção de amostragem biológica por meio de técnicas menos invasivas como por exemplo a partir do ar expirado por pacientes, apresentando, assim, novas possibilidades para evitar métodos invasivos e menos danosos (em casos de complicações infecciosas) como a punção de CSF, logo que o fluido mantém relação direta com os órgãos alvo e características semelhantes em termos da presença de espécies moleculares em comum, tornando-o uma amostra de alto poder informativo sobre processos patológicos.^{24; 61; 62; 63}

Diante das possibilidades analíticas advindas do avanço em preparo de amostras Espectrometria de Massas é plausível esperar por informações valiosas de perfis espectrométricos para entendimento composicional de amostras, e neste caso, a atenção está centralizada em aspectos relacionados a amostras de líquido de pacientes diagnosticados com MtS. Faz-se, portanto, necessárias novas análises e trabalhos comparativos que possam colaborar de forma ainda mais significativa no aprimoramento de técnicas analíticas em pesquisas que visam a fixação de um protocolo clínico efetivo para o diagnóstico da MtS diante de uma falta de consenso científico sobre um possível biomarcador ou uma assinatura molecular característica para essa enfermidade.

Em termos de produção científica e relevância da temática, em uma busca preliminar foram encontrados 3.400 artigos no período compreendido entre 2014 e 2023, revelando que o assunto é atual e constitui a pauta de pesquisas no meio científico. Nessa procura foram encontrados o total de 75 artigos nas plataformas online de pesquisa *Scopus*, *Web of Science* e *PubMed*, baseada em artigos relacionados a Esclerose Múltipla e avanços em espectroscopia de massas.

A relevância dessa temática é observada quando é levada em consideração a dispersão dos casos no cenário mundial, sobretudo em populações do hemisfério Norte, conforme expresso na Figura 2.

Figura 2 - Casos de MtS no cenário mundial em cada 100.000 habitantes



Fonte: Adaptado da Organização Mundial da Saúde, OMS (2001).⁶⁰

A estimativa, segundo a OMS (2008), é 30 casos a cada 100.000 habitantes, a qual pode variar em função da localização desses casos gerando uma variação de 5-80 casos. No Brasil, no período de 2008 a 2019, das 29.088 internações relacionadas, 85,9% delas estavam relacionadas a pessoas na faixa etária de 20-59 anos, na qual a região Sudeste do país foi responsável por 59,7% dessas internações.⁶⁴

Poddighe *et al.* (2017) trazem contribuições significativas com este trabalho devido à caracterização metabólica por GC-MS em plasma após o devido tratamento e derivatização da amostra, incorrendo na discussão de duas rotas biossintéticas: formação da aspargina e da citrolina. Outro apontamento importante neste trabalho é a relação entre o aumento da concentração de glutamina, glutamato e MtS, conforme também foi abordado de Srinivasan *et al.* (2005), e a escolha desse método contribui para a análise de uma grande gama de metabólitos que podem ser detectados.^{9,10,11}

Outro trabalho que corrobora para a elaboração deste texto advém de Domingues *et al.* (2017), no qual há um levantamento bibliográfico sobre potenciais biomarcadores que foram classificados em três eixos: biomarcadores do líquido de atividade da doença (citocinas, quimiocinas, fetuína A); biomarcadores do líquido de progressão clínica (ligante de quimiocina 13, proteína glial fibrilar, proteína básica de mielina ácida e biomarcadores do líquido de resposta terapêutica (fetuína A, osteopontina e ligante de quimiocina 13). Esse levantamento torna-se importante

diante da apresentação de novas possibilidades de constituição de potenciais biomarcadores frente à necessidade de uso dessa ferramenta no diagnóstico médico para a tomada de decisão terapêutica.⁶⁵

Em análises utilizando HPLC-MS, o trabalho de Caruso *et al.* (2014) traz valiosas informações sobre concentrações variáveis de esteróides neuroativos em homens apontando os metabólitos PROG (progesterona) e T (testosterona) em amostras de líquido, sendo acentuada essa variação em pacientes homens em um quadro sintomático RR.⁶⁶

2.6 ESPECTROMETRIA DE MASSAS E ESCLEROSE MÚLTIPLA

A espectrometria de massas é uma técnica analítica poderosa que tem sido utilizada em estudos para investigar a esclerose múltipla (MtS), uma doença crônica e autoimune do sistema nervoso central. A MtS é caracterizada pela inflamação e degeneração da mielina, uma substância que reveste os neurônios e é fundamental para a transmissão dos impulsos nervosos.

A espectrometria de massas tem sido aplicada em diferentes áreas de pesquisa relacionadas à MtS, incluindo a identificação de biomarcadores para diagnóstico precoce e monitoramento da progressão da doença, a caracterização de mecanismos patológicos subjacentes e a avaliação de novas terapias.

Um exemplo de aplicação da espectrometria de massas na pesquisa em MtS é a análise de proteínas do líquido cérebro-espinhal (CSF) de pacientes com EM. O CSF é um fluido encontrado no sistema nervoso central que pode fornecer informações valiosas sobre a atividade da doença. Através da espectrometria de massas, é possível identificar proteínas específicas que são diferencialmente expressas em pacientes com MtS em comparação com indivíduos saudáveis. Essas proteínas podem ser usadas como biomarcadores para diagnóstico e monitoramento da doença.

Além disso, a espectrometria de massas tem sido utilizada para investigar a presença e o papel de lipídios na patogênese da MtS. A mielina é rica em lipídios e sua degeneração é uma característica central da doença. Através da análise de lipídios em amostras de CSF ou tecido nervoso, é possível identificar lipídios

específicos que estão associados com a MtS. Esses lipídios podem ser potenciais alvos terapêuticos para o tratamento da doença.

Em resumo, a espectrometria de massas é uma técnica analítica útil para a pesquisa em esclerose múltipla. Pode ser aplicada em diferentes áreas, incluindo a identificação de biomarcadores para diagnóstico e monitoramento da doença, a caracterização de mecanismos patológicos e a avaliação de novas terapias. A análise de proteínas e lipídios do CSF é um exemplo de aplicação da espectrometria de massas na pesquisa em MtS.

2.7 PLANEJAMENTO DO TIPO PLACKETT-BURMAN E LIPIDÔMICA

O planejamento Plackett-Burman é uma técnica de planejamento experimental que é amplamente utilizada em química analítica para otimizar métodos de espectrometria de massas. Essa técnica é usada para identificar quais fatores são mais importantes para a análise e como eles afetam os resultados obtidos.

O planejamento Plackett-Burman envolve a realização de uma série de experimentos, cada um dos quais varia um fator específico. O número de experimentos necessários é determinado pelo número de fatores que se deseja investigar. Os resultados de cada experimento são analisados estatisticamente para identificar quais fatores têm maior impacto na análise.

A espectrometria de massas é uma técnica analítica que é utilizada para identificar e quantificar compostos químicos em amostras complexas. Ela pode ser aplicada em diversas áreas, como proteômica, metabolômica e lipidômica. A espectrometria de massas é frequentemente combinada com outras técnicas analíticas, como cromatografia líquida ou gasosa, para aumentar a sensibilidade e a seletividade da análise.

Ao utilizar o planejamento Plackett-Burman para otimizar métodos de espectrometria de massas, é possível identificar quais fatores são mais importantes para a análise, como a escolha do solvente, volumes de amostra, tempos de sorção e dessorção de moléculas em sistemas extratores, acompanhados ou não de agitação e as condições de temperatura durante o preparo de amostras. Essa abordagem permite que sejam realizados experimentos de forma mais eficiente e com menor custo, já que não é necessário testar todos os fatores em todos os experimentos.

Logo, o planejamento Plackett-Burman é uma técnica útil para otimizar métodos de espectrometria de massas. Ele permite identificar quais fatores são mais importantes para a análise, reduzindo o número de experimentos necessários e, conseqüentemente, os custos. A espectrometria de massas é uma técnica analítica poderosa que pode ser aplicada em diversas áreas, e sua combinação com o planejamento Plackett-Burman pode ser útil para a identificação de biomarcadores, a caracterização de mecanismos patológicos e a avaliação de novas terapias.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Empregar o Planejamento Experimental do tipo Plackett-Burman em preparo de amostras de CSF para análises instrumentais para abordagem lipídômica.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Explorar o uso da técnica de Microextração em Fase Sólida (SPME) no preparo de amostras.
- Comparar perfis lipídicos obtidos por Espectrometria de Massas em amostras de Líquor de pacientes diagnosticados com MtS.
- Avaliar e otimizar parâmetros de extração (tempo de extração, tempo de dessorção mistura de solventes - isopropanol e metanol -, fator de diluição, agitação e temperatura) na busca de resultados em com de maior recuperação dos analitos na matriz.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 REAGENTES E MATERIAIS

Metanol (LC-MS) (Sigma-Aldrich, Alemanha), ácido fórmico (LC-MS) (Sigma-Aldrich, Alemanha), Isopropanol (LC-MS) (Sigma-Aldrich, Alemanha), 10 Fibras de SPME C18 (Supelco, - Sigma-Aldrich, Alemanha) e *vials* de vidro incolor, 9mm, volume 2 mL com tampa e septo.

3.2 AMOSTRAS DE CSF DE PACIENTES COM ESCLEROSE MÚLTIPLA E PACIENTES COM QUADRO CLÍNICO DIVERSO (GRUPO DE CONTROLE)

A obtenção de amostras de líquido foi possível devida à parceria do Laboratório de Bioanalítica, Microfabricação e Separações (BiomicS), representado pelo orientador Prof. Dr. Emanuel Carrilho, com o colaborador e corientador deste trabalho Prof. Dr. Nilson Antônio de Assunção (Universidade Federal de São Paulo, UNIFESP) amostras obtidas pelo projeto “*Análise proteômica e metabolômica de líquido cefalorraquidiano em pacientes com suspeita de esclerose múltipla e bandas oligoclonais positiva*” do pesquisador Fernando Brunale (instituição proponente: UNIFESP/EPM) atrelado ao Projeto CEP/UNIFESP n: 0402/2018 e por meio do parecer do Comitê de Ética nº 2.632.044, o qual segue anexo a este texto.

As amostras foram preparadas no laboratório do Prof. Dr. Nilson Antônio de Assunção alocado na Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), *campus* Diadema, sob supervisão deste docente, uma vez que as espécies de interesse serão extraídas via LLE. e SPME, constituindo extratos de biomoléculas, os quais foram direcionados para serem analisados no IQSC-USP, e as amostras permaneceram sob a tutela da instituição proponente do Comitê de Ética enunciado anteriormente.

No total, foram 33 amostras de CSF com diagnóstico de MtS e 24 amostras de CSF para controle de pacientes que inicialmente suspeitava-se de MtS, mas esta suspeita foi descartada. Os pacientes com MtS foram divididos em três grupos: até 45 anos do sexo masculino, até 45 anos do sexo feminino, acima de 45 anos do sexo masculino e feminino. Todos os controles formaram somente um grupo.

Tabela 3 - Informações sobre os participantes da pesquisa (pacientes com MtS e controles)

Código	Sexo	Idade (anos)	Data da coleta	MtS	Outras doenças	Nº participantes
G1	F	Até 45	12/07/2018 à 08/11/2018	Sim	Não	13
G2	M	Até 45	17/07/2018 à 05/11/2018	Sim	Não	12
G3	M e F	Acima de 45	13/09/2018 à 29/10/2018	Sim	Não	8
G4	M e F	Acima de 20	13/07/2018 à 27/10/2018	Não	Sim	24

Fonte: Autoria própria.

3.2 TRATAMENTO DE AMOSTRAS

3.2.1 Preparo de amostras por Extração Líquido-Líquido

Neste procedimento de extração de compostos utilizando a LLE, foi empregado o protocolo de Bligh e Dyer como estratégia amplamente adotada no que se refere a extração de compostos lipídicos em matrizes animais ou de vegetais por uma mistura de clorofórmio e metanol (1:2, v/v), quando não adotado, são empregadas variações de reagentes e proporções mas que mantem similaridade de polaridade com a classe de biomoléculas de interesse, como no método de Folch que utiliza uma mistura binária de clorofórmio e metanol (2:1, v/v).^{67; 68; 69} Neste tratamento de amostras é necessária a precipitação proteica para posterior injeção das amostras no equipamento espectrométrico, a fim de evitar interferência na análise ou precipitação de proteínas no capilar de injeção.

1. Resfriar o volume de metanol a -20°C (4 vezes o volume da amostra).
2. Introduzir 10 mL amostra em um tubo do tipo Eppendorf®.
3. Adicionar o volume de metanol no tubo contendo amostra.
4. Agitar o tubo e deixar em descanso por 60 min a -20°C.
5. Centrifugar a amostra por 10 min em 13.000-15.000 x g.
6. Separar o sobrenadante da fase proteica.
7. Deixar o metanol evaporar do precipitado por 30 min em temperatura ambiente.
8. Reconstituir as amostras em tampão adequado (caso haja interesse na análise da fase proteica).
9. Extração utilizando o método de Bligh e Dyer a partir da coleta de 20 mL de sobrenadante e 20 mL da solução de metanol e clorofórmio (2:1), com posterior adição de 10 mL de solução aquosa saturada de NaCl.

10. Coleta da fase inferior contendo clorofórmio e compostos de caráter apolar.
11. Secar as amostras por uma hora em temperatura ambiente sob fluxo de N₂.
12. Reconstitui as amostras em 100 mL de metanol puro.
13. Proceder com as análises instrumentais.

3.3.2 Preparo de amostras das amostras e Microextração em Fase Sólida (SPME)

Adotou-se o uso de sistema SPME enquanto alternativa à LLE. devido ao apelo que esta técnica de preparo de amostras como baixa demanda de solventes orgânicos e fator de concentração dos analitos na fase extratora.^{13; 54; 70} Dessa forma, foi necessário o condicionamento das fibras previamente à extração, conforme descrito abaixo:

1. Condicionamento das fibras em mistura água-metanol (1:1) (v/v) por uma hora, conforme orientação do fabricante.
2. Adição de 100 µL de amostra em um *insert* dentro de um *vial* de 2 mL.

Foram testadas inicialmente algumas condições multivariadas, implicando no preparo das amostras sob essas condições, as quais estão apresentadas na seção 4.2 TRIAGEM DE NÍVEIS deste texto, resultando em volumes finais de 100 e 150 mL de solução.

3.3 CONDIÇÃO DE ANÁLISE INSTRUMENTAL DO ESPECTRÔMETRO DE MASSAS

As inserções dos extratos das amostras de CSF foram realizadas utilizando o sistema de cromatografia líquida HPLC Accela (automatização de inserções sem o uso de coluna cromatográfica) equipado com Accela PDA, bomba 1250 acoplado ao espectrômetro de massas Orbitrap Velos (Thermo Fisher Scientific, Bremen). A condição da fonte de ionização por Eletrospray aquecida (HESI), estava ajustada com voltagem no spray de 3,5 kV e temperatura da fonte de 50° C.

O tempo total de análise foi de 7 minutos para cada amostra, nas quais foi utilizado metanol com 0,1% de ácido fórmico como solvente carreador da amostra ao espectrômetro de massas. O volume injetado foi de 10µL em uma taxa de 50 µL/ min.

Com janelas de aquisição de dados de 50 a 600 m/z , 300 a 800 m/z , 700 a 2000 m/z e 1000 a 2000 m/z . O software utilizado para aquisição dos dados foi o LTQTune (Thermo Fischer Scientific, Bremen).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

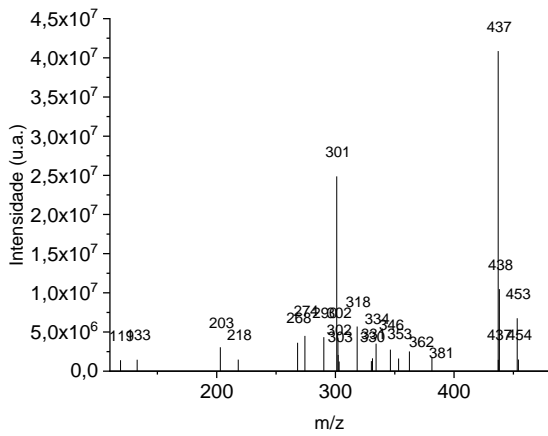
4.1 AVALIAÇÃO PRELIMINAR DOS ESPECTROS OBTIDOS POR *FULL SCAN* PARA AMOSTRAS EXTRAÍDAS

A proposta experimental contemplou a obtenção preliminar de espectros de massas de lipídios obtidos por extração líquido-líquido, no modo positivo de ionização, enquanto norte para os primeiros passos do Planejamento Experimental.

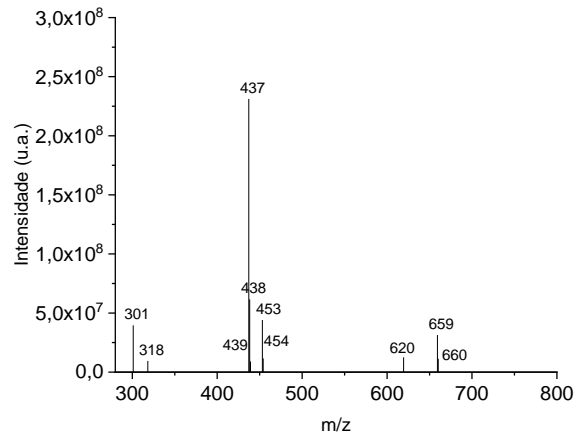
Na Figura 3, são apresentados 4 espectros de massas, nos quais é possível observar a grande diversidade de íons tendo em vista que são esperados compostos lipídicos devido ao preparo de amostras por LLE por método de Bligh e Dyer⁶⁷, com predomínio de íons nas faixas de maiores m/z em (a) e (b), 50 a 800 m/z , com íons em menor diversidade em razão massa/carga e alta intensidade de sinal analítico. Enquanto nos espectros (c) e (d) há um predomínio de íons em variedade de m/z , porém com intensidade de sinal analítico de ordem menor.

Na Figura 4, são apresentados os primeiros espectros obtidos por uma condição central de extração diante dos fatores e níveis propostos utilizando SPME: tempo de extração: 30 min.; tempo de dessorção: 30 min.; diluição em 100 μ L de mistura de solventes isopropanol e metanol na proporção de 1:1; temperatura: 30° C; com agitação. Deve-se observar que há uma grande diversidade de íons em termos de m/z e com intensidades de sinais analíticos menores em uma ordem de grandeza quando comparados com os espectros da Figura 3, revelando um perfil espectral similar em técnicas de preparo de amostras distintas.

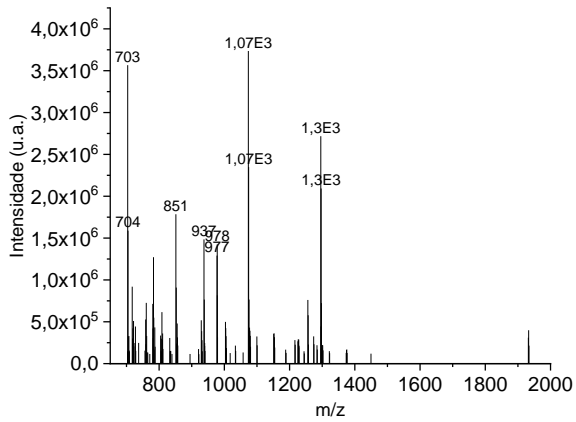
Figura 3 -Espectros de massas de CSF a partir da LLE



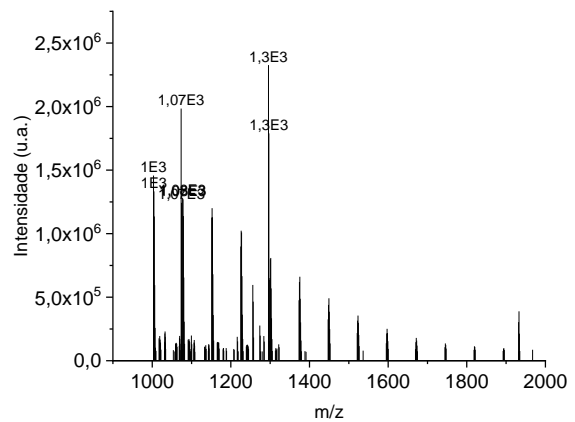
(a) Scan de amostra na faixa de 50 a 600 m/z .



(b) Scan de amostra na faixa de 300 a 800 m/z .



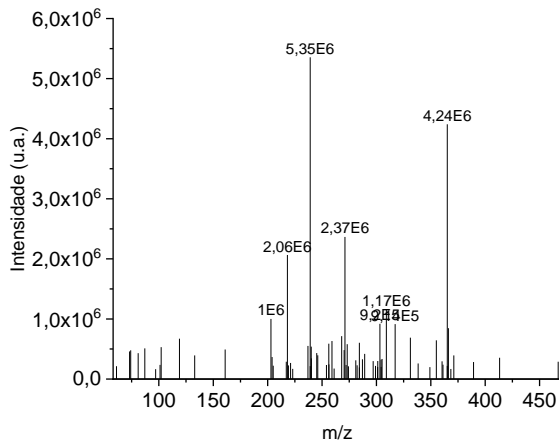
(c) Scan de amostra na faixa de 700 a 2000 m/z .



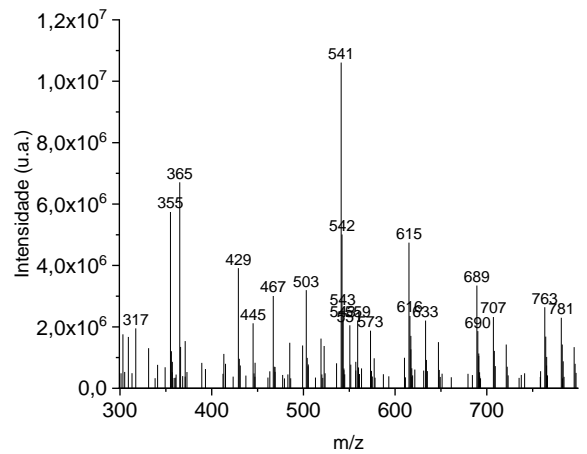
(d) Scan de amostra na faixa de 1000 a 2000 m/z .

Fonte: Autoria própria.

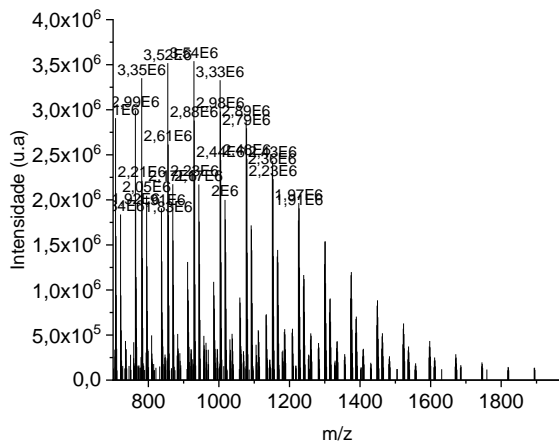
Figura 4 - Espectros de massas de CSF com uso de sistema SPME



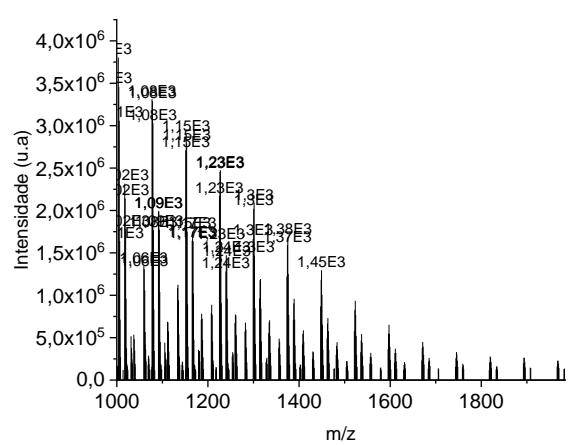
(a) Scan de amostra na faixa de 50 a 600 m/z



(b) Scan de amostra na faixa de 300 a 800 m/z



(c) Scan de amostra na faixa de 700 a 2000 m/z



(d) Scan de amostra na faixa de 1000 a 2000 m/z

Fonte: Autoria própria.

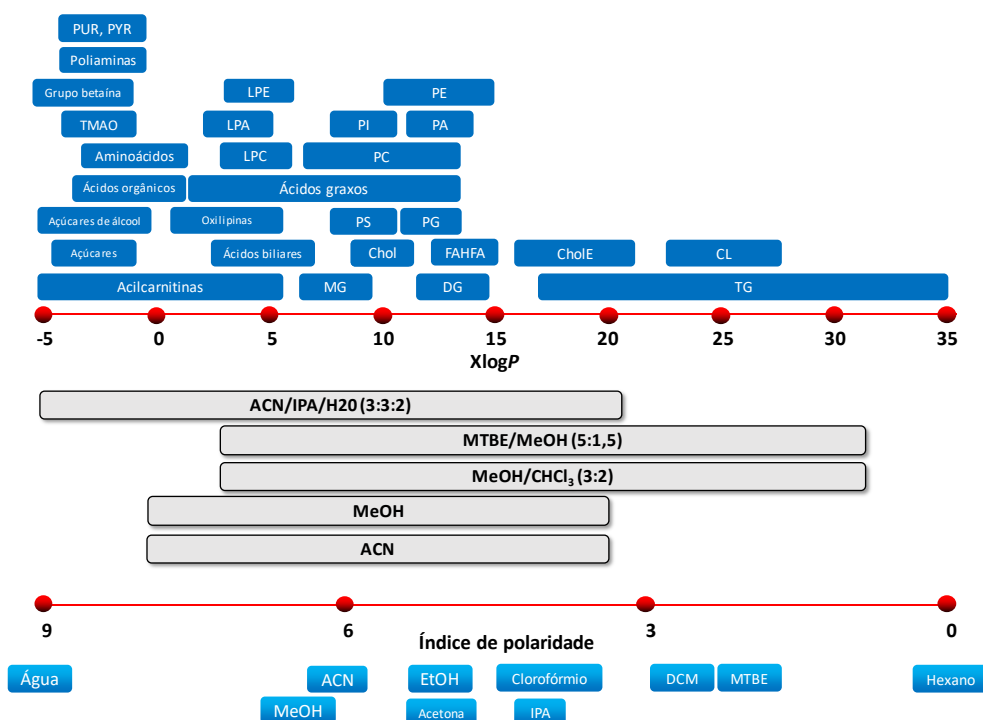
Deve-se destacar que os espectros obtidos na Figura 3 ressaltam uma maior intensidade no sinal obtido na análise diante de uma extração exaustiva como é o caso da LLE quando comparada à extração de equilíbrio obtida na SPME diante de uma restrição na quantidade de fase extratora presente na fibra compósita. Entretanto, a técnica de extração tem grande potencial em rotinas analíticas uma vez que requer pouca manipulação da amostra, além de possibilitar maior frequência analítica e baixo consumo de solventes.

4.2 TRIAGEM DE NÍVEIS DAS VARIÁVEIS EM ESTUDO

Foi realizado inicialmente uma busca na literatura para indicar possíveis condições para a extração de lipídios. Devido à dificuldade de encontrar tais informações, alguns parâmetros, tais como tempo de extração, tempo de dessorção, mistura solvente extrator, fator de diluição, agitação e temperatura, para posterior realização de um Planejamento Fatorial do tipo Plackett-Burman para estimar os efeitos de maior ordem desses fatores, além de corroborar para um menor número de experimentos diante da pouca disponibilidade de amostras biológicas que seriam utilizadas em um Planejamento Fatorial Completo.^{17; 20; 71; 72}

Os tempos de extração e dessorção foram escolhidos com base no trabalho de Garwolińska *et al.*⁵⁹ para a triagem de níveis. A mistura de solvente foi proposta em função da mudança de polaridade do meio extrator na etapa de dessorção das espécies das fibras de SPME, podendo ser um fator importante no delineamento de uma melhor condição de extração. Na Figura 5 é possível observar a significativa diferença em abrangência na extração de classes de lipídios quando utilizadas misturas de solventes de polaridades distintas.⁶⁸

Figura 5 - Extração de classes de lipídios em diferentes solventes



Fonte: Modificado de Cajka; Fiehn⁶⁸

Para uma triagem primária de níveis para as variáveis escolhidas, foi utilizada uma abordagem univariada de caráter exploratório, visando apenas uma observação preliminar do comportamento do sistema frente a esses parâmetros. A Tabela 4 mostra a proposta de níveis para a triagem inicial para os 6 fatores e os níveis adotados (-1, 0 e 1).

Tabela 4 - Fatores estudados no planejamento inicial.

Variável	Descrição da variável (Fatores)	Nível baixo (-1)	Nível central (0)	Nível alto (+1)
V1	Tempo de Extração (min)	5	32,5	60
V2	Tempo de Dessorção (min)	5	32,5	60
V3	Solvente Extrator (metanol : isopropanol)	1:19	1:1	19:1
V4	Fator de Diluição (μL de solução)	50	75	100
V5	Agitação (rpm)	0	200	400
V6	Temperatura ($^{\circ}\text{C}$)	30	45	60

Fonte: Autoria própria.

Na Tabela 5 estão expostas as respostas em função dos fatores a serem triados e das faixas de razão massa/carga (m/z) escolhidas. A contagem de íons foi feita a partir de um *threshold* o qual estabelecia que seria considerado um sinal analítico para dado íon é aquele maior que 3% do sinal mais intenso do espectro obtido de conforme adotado por Neves *et al.*⁷³ Para fins de evitar efeitos de erros sistemáticos sobre as conclusões desses resultados, os experimentos foram realizados em ordem aleatória.

Tabela 5 - Experimentos exploratórios de triagem de nível para as quatro faixas de m/z (Continua)

Experimento	V1	V2	V3	V4	V5	V6	Nº de íons	Nº de íons	Nº de íons	Nº médio de íons
5	1	0	0	0	0	0	10	7	26	14
1	-1	0	0	0	0	0	23	18	16	19
3	0	-1	0	0	0	0	13	16	26	18
6	0	1	0	0	0	0	9	38	42	30
10	0	0	-1	0	0	0	50	52	50	51
2	0	0	1	0	0	0	123	68	112	101
9	0	0	0	1	0	0	26	71	67	55
7	0	0	0	-1	0	0	57	52	35	48
12	0	0	0	0	1	0	6	19	8	11
8	0	0	0	0	-1	0	26	46	54	42
11	0	0	0	0	0	-1	43	35	27	35
4	0	0	0	0	0	1	31	21	32	28

m/z 50-600

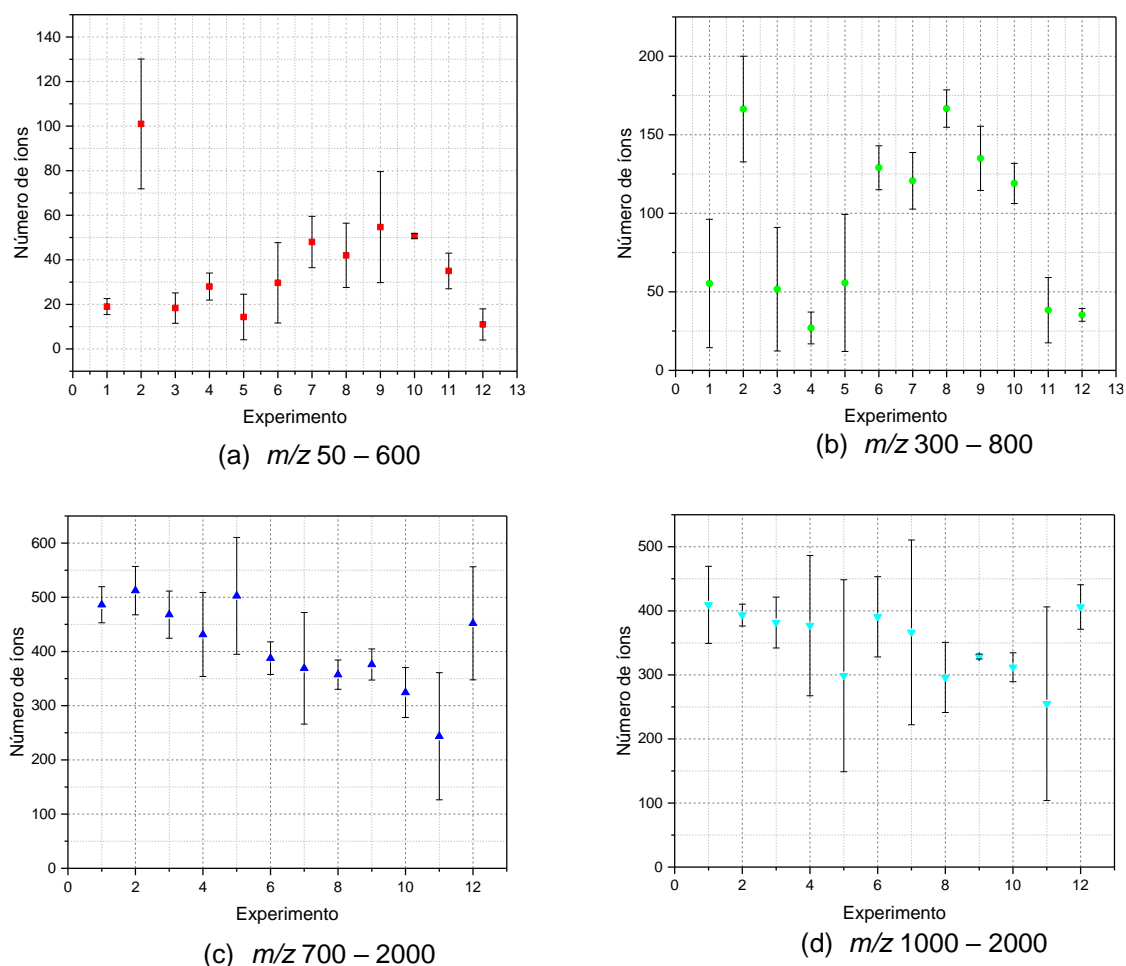
Tabela 5 - Experimentos exploratórios de triagem de nível para as quatro faixas de m/z
(Continuação)

	Experimento	V1	V2	V3	V4	V5	V6	Nº de íons	Nº de íons	Nº de íons	Nº médio de íons
m/z 300-800	5	1	0	0	0	0	0	32	29	106	56
	1	-1	0	0	0	0	0	102	38	26	55
	3	0	-1	0	0	0	0	31	27	97	52
	6	0	1	0	0	0	0	143	115	129	129
	10	0	0	-1	0	0	0	105	130	122	119
	2	0	0	1	0	0	0	205	144	150	166
	9	0	0	0	1	0	0	142	151	112	135
	7	0	0	0	-1	0	0	133	129	100	121
	12	0	0	0	0	1	0	33	40	33	35
	8	0	0	0	0	-1	0	180	163	157	167
	11	0	0	0	0	0	-1	30	62	23	38
	4	0	0	0	0	0	1	25	18	38	27
m/z 7000-2000	Experimento	V1	V2	V3	V4	V5	V6	Nº de íons	Nº de íons	Nº de íons	Nº médio de íons
	5	1	0	0	0	0	0	615	400	493	503
	1	-1	0	0	0	0	0	508	503	448	486
	3	0	-1	0	0	0	0	489	497	418	468
	6	0	1	0	0	0	0	403	353	407	388
	10	0	0	-1	0	0	0	323	279	371	324
	2	0	0	1	0	0	0	516	466	555	512
	9	0	0	0	1	0	0	409	357	362	376
	7	0	0	0	-1	0	0	479	353	275	369
	12	0	0	0	0	1	0	568	422	366	452
	8	0	0	0	0	-1	0	358	384	330	357
	11	0	0	0	0	0	-1	122	253	356	244
4	0	0	0	0	0	1	519	373	402	431	
m/z 1000-2000	Experimento	V1	V2	V3	V4	V5	V6	Nº de íons	Nº de íons	Nº de íons	Nº médio de íons
	5	1	0	0	0	0	0	457	280	159	299
	1	-1	0	0	0	0	0	475	396	357	409
	3	0	-1	0	0	0	0	353	365	427	382
	6	0	1	0	0	0	0	370	341	461	391
	10	0	0	-1	0	0	0	323	286	327	312
	2	0	0	1	0	0	0	383	384	413	393
	9	0	0	0	1	0	0	333	327	326	329
	7	0	0	0	-1	0	0	442	200	457	366
	12	0	0	0	0	1	0	386	446	386	406
	8	0	0	0	0	-1	0	236	343	309	296
	11	0	0	0	0	0	-1	221	n/a	289	255
4	0	0	0	0	0	1	360	494	277	377	

Fonte: Autoria própria.

Já a Figura 6 mostra a distribuição dos dados exibidos na Tabela 6. Na qual observa-se que o número médio de íons aumenta indo da menor para a maior faixa de relação m/z . Esse resultado é esperado, uma vez que o aumento de faixa de m/z sugere lipídios com maiores massas moleculares, que por sua vez, podem apresentar mais domínios apolares.^{30; 74} Assim, como a fase extratora da SPME é uma fase apolar, é mais provável que ela extraia um maior número de compostos relativamente mais apolares, durante a etapa competitiva de partição das fases.

Figura 6 - Distribuição das médias das respostas para os experimentos de triagem de níveis para as faixas: (a) m/z 50 – 600 (b) m/z 300 – 800 (c) m/z 700 – 2000 (d) m/z 1000 – 2000



Fonte: Autoria própria.

Além disso, a Figura 6 também permite, por inspeção visual, observar que os dados de contagem de íons são heterocedásticos (há variância dos dados muda ao longo das respostas, Tabela 6, na qual é mostrado o teste F – estatística de Fisher – utilizado para comparar variâncias e que confirma este dado). Já a Tabela 7 mostra

os coeficientes de variação (CV, razão entre o desvio padrão e a média expresso em porcentagem) para cada experimento dentro das quatro faixas. Nota-se que a menor faixa de m/z apresenta os maiores valores de CV, ao passo que a faixa m/z 700 – 2000, a faixa mais larga, apresenta em média os menores valores de CV.

Tabela 6 - Teste F para as quatro faixas de m/z estudadas²

Faixa de m/z	F_{exp}	$\frac{F_{exp}}{F_{tab}}$	Heterocedasticidade
50 – 600	31	8	Sim
300 – 800	11	3	Sim
700 – 2000	4	1	Sim
1000 – 2000	40	10	Sim

Fonte: Autoria própria.

Tabela 7 - Coeficientes de variação dos experimentos realizados

Experimento	Coeficiente de Variação			
	m/z 50 - 600	m/z 300 - 800	m/z 700 - 2000	m/z 1000 - 2000
1	19	74	7	15
2	29	20	9	4
3	37	76	9	10
4	22	38	18	29
5	71	78	21	50
6	61	11	8	16
7	24	15	28	39
8	34	7	8	18
9	46	15	8	1
10	2	11	14	7
11	23	54	48	59
12	64	11	23	9
CV médio	36	34	17	22

Fonte: Autoria própria.

² Nota: F_{exp} = valor da estatística de Fisher obtido experimentalmente como a razão da maior e da menor variância obtido para cada faixa; $F_{tab} = 4,0$ – que é o valor Tabelado da estatisticamente de Fisher, com intervalo de confiança de 95%, e 2 e 11 graus de liberdade (12 experimentos em triplicata), note que para que a as variâncias sejam estatisticamente iguais é preciso que $F_{exp} < F_{tab}$, ou seja $\frac{F_{exp}}{F_{tab}} < 1$.

4.3 PLANEJAMENTO PLACKETT-BURMAN

A matriz do planejamento Plackett-Burman é mostrada na Tabela 8. Esse tipo de planejamento é um caso particular de planejamento fatorial fracionário empregado quando se tem muitos fatores para triar. Caso fosse realizado um planejamento fatorial completo para os seis fatores e réplicas em todos os pontos (2^{6+1}) teriam que ser realizados 128 extrações analisadas em quatro faixas, totalizando 512 injeções. Logo, a matriz de Plackett-Burman para seis fatores contém 12 ensaios, que foram realizadas em triplicata e analisadas nas quatro faixas, totalizando 144 injeções, ou seja aproximadamente 3,6 vezes menos experimentos que o planejamento completo.¹⁸

Tabela 8 - Matriz Plackett-Burman para os seis fatores

Experimento	Tempo de Extração (min)	Tempo de Dessorção (min)	Proporção MeOH: IPA	Diluição (µL)	Agitação	Temperatura (°C)
1	60	5	0,95:0,05	100	Não	30
2	60	60	0,05:0,95	150	Não	30
3	5	60	0,95:0,05	100	Sim	30
4	60	5	0,95:0,05	150	Não	60
5	60	60	0,05:0,95	150	Sim	30
6	60	60	0,95:0,05	100	Sim	60
7	5	60	0,95:0,05	150	Não	60
8	5	5	0,95:0,05	150	Sim	30
9	5	5	0,05:0,95	150	Sim	60
10	60	5	0,05:0,95	100	Sim	60
11	5	60	0,05:0,95	100	Não	60
12	5	5	0,05:0,55	100	Não	30

Fonte: Autoria própria.

O objetivo desse planejamento é determinar quais os fatores são realmente estatisticamente relevantes para a otimização (levando-se em conta um intervalo de confiança de 95% e os níveis selecionados), com isso também direcionar-se para a região ótima de trabalho, na qual pode-se realizar um planejamento com mais que dois níveis (capaz de modelar curvaturas na superfície de resposta) de forma a determinar as condições ótimas de trabalho. Os resultados para cada faixa serão discutidos separadamente:

4.3.1 Faixa m/z 50 – 600

A Tabela 9 mostra os resultados para os doze experimentos, realizados em triplicata e em ordem aleatória para essa faixa.

Tabela 9 - Resultados do planejamento Plackett-Burman para a faixa m/z 50 – 600

Experimento	Nº de íons	Nº de íons	Nº de íons	nº médio de íons	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação
1	114	105	88	102	9	9
2	69	82	117	89	18	21
3	87	87	113	96	13	14
4	63	139	139	114	15	13
5	116	96	65	92	17	18
6	123	97	96	105	5	5
7	167	121	133	140	10	7
8	84	162	93	113	36	31
9	22	46	74	47	16	33
10	104	102	104	103	1	1
11	67	17	12	32	10	33
12	32	68	52	51	10	19

Fonte: Autoria própria.

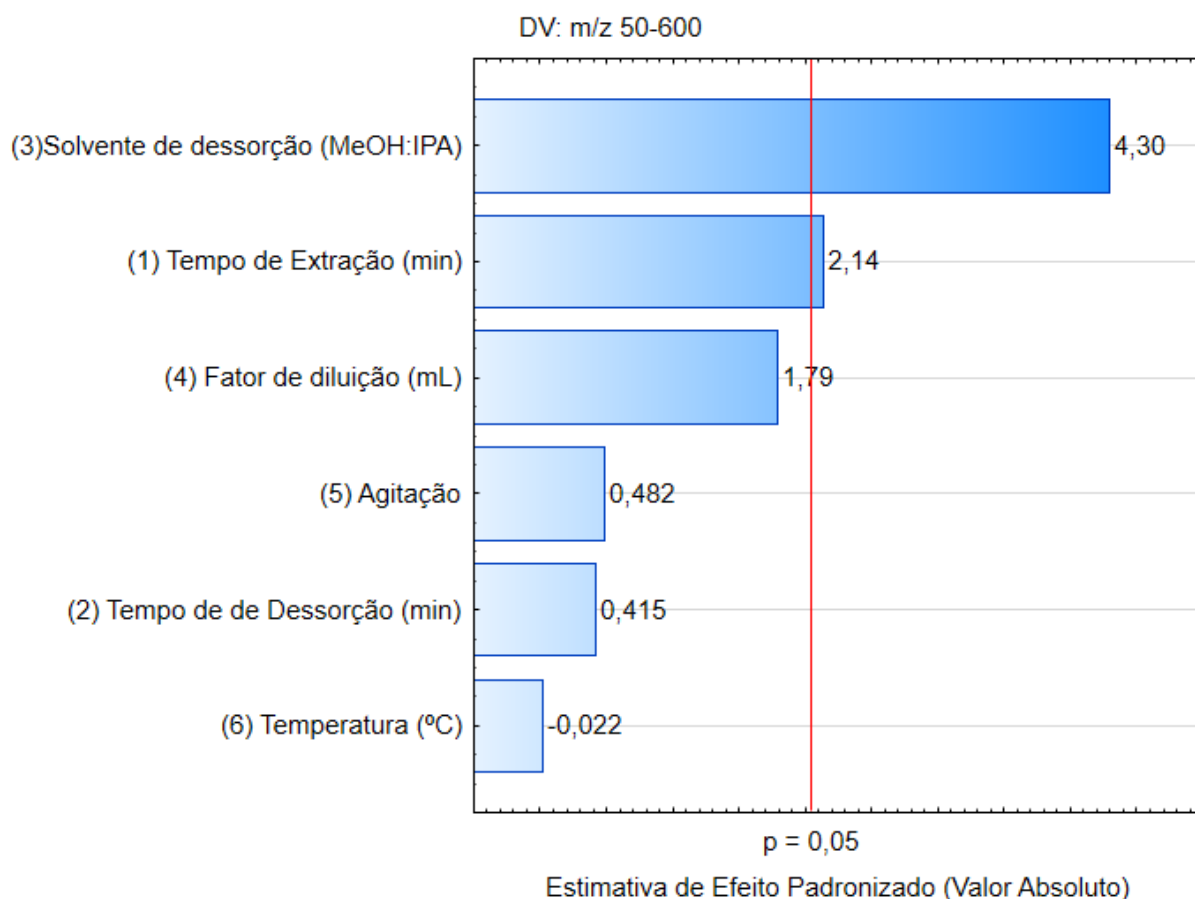
Empregando os *softwares* Chemoface 1.64²¹ e *STATISTICA 3.5* (Statsoft) foram realizados os cálculos dos efeitos (Tabela 10). A Figura 7 mostra o gráfico de Pareto para esses resultados, nota-se que apenas os fatores que cruzam a linha vermelha são estatisticamente significativos, com 95% de intervalo de confiança.

Tabela 10 - Efeitos principais calculados a partir do planejamento Plackett-Burman para a faixa m/z 50 - 600

Fator	Efeito	Erro	t-valor	p-valor	Significância
Tempo de extração (min)	21,2222	8,6898	2,4422	0,0223	Sim
Tempo de dessorção (min)	4,1111	8,6898	4731	0,6404	Não
Solvente de dessorção (MeOH:IPA)	42,5556	8,6898	4,8972	$5,3952 \times 10^{-5}$	Sim
Fator de diluição (ml)	17,7778	8,6898	2,0458	0,0519	Não
Agitação	4,7778	8,6898	0,5498	0,5875	Não
Temperatura (°C)	-0,2222	8,6898	-0,0256	0,9798	Não

Fonte: Autoria própria.

Figura 7 - Gráfico de Pareto para o Planejamento Plackett-Burman para a faixa m/z 50 – 600



Fonte: Autoria própria.

Pelos dados da Tabela 10 e Figura 7, nota-se que apenas a composição do solvente extrator e o tempo de extração foram estatisticamente significativos, para os níveis testados e 95% de confiança, além disso, seu efeito sobre a média do número de íons foi positivo, em ambos os fatores, ou seja, aumentar o teor de isopropanol na fase extratora e o tempo de extração, aumenta o número de íons detectados.

4.3.2 Faixa m/z 300-800

A Tabela 11 mostra os resultados para os doze experimentos, realizados em triplicata e em ordem aleatória para essa faixa.

Tabela 11 - Resultados do planejamento Plackett-Burman para a faixa m/z 300 – 800

Experimento	Nº de íons	Nº de íons	Nº de íons	nº médio de íons	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação
1	39	51	45	45	6	13
2	64	79	60	68	10	15
3	62	58	81	67	12	18
4	26	62	125	71	50	71
5	39	52	69	53	15	28
6	45	106	31	61	40	66
7	95	67	133	98	33	34
8	115	105	95	105	10	10
9	42	38	37	39	3	7
10	46	39	46	44	4	9
11	88	8	23	40	43	107
12	64	41	36	47	15	32

Fonte: Autoria própria.

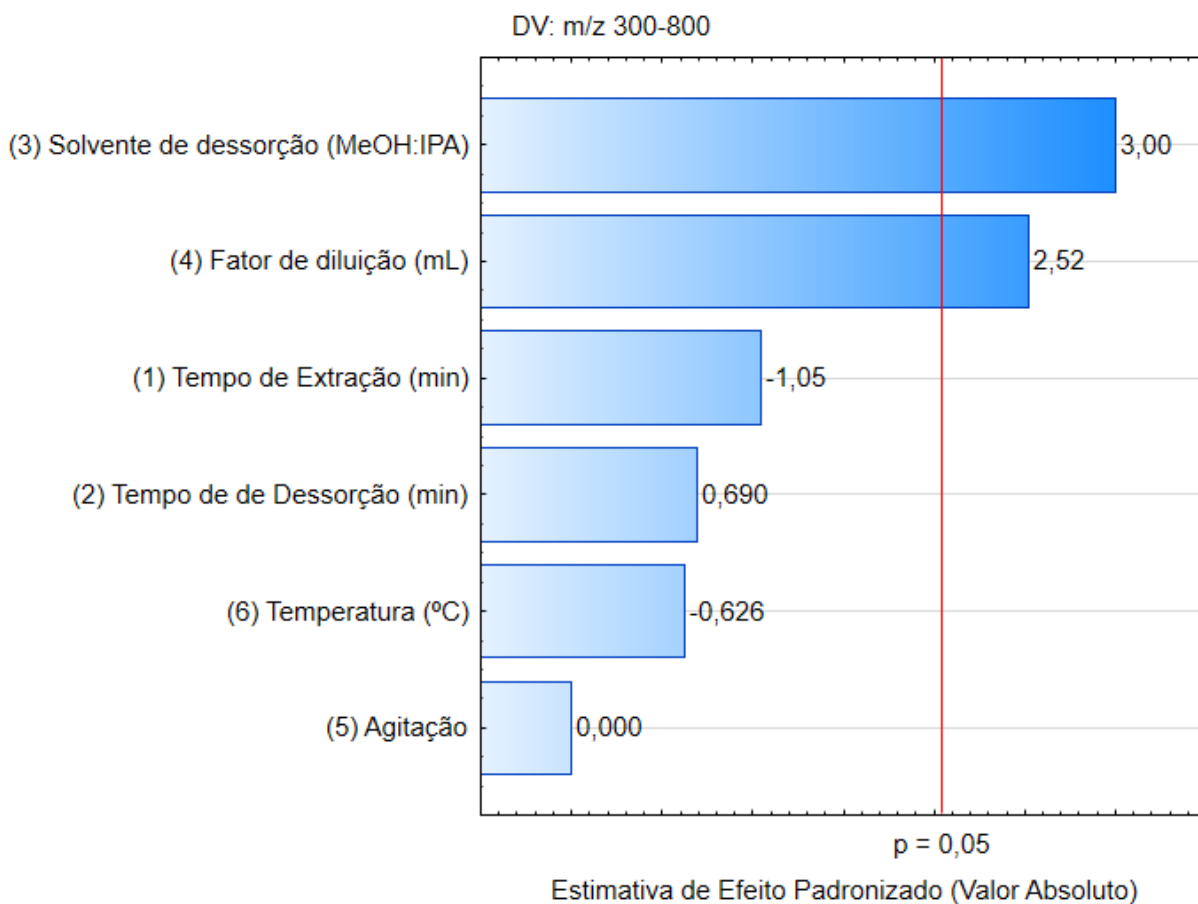
Empregando novamente os *softwares* Chemoface 1.64 e *STATISTICA 3.5* (Statsoft) foram realizados os cálculos dos efeitos (Tabela 12). A Figura 8 mostra o gráfico de Pareto para esses resultados.

Tabela 12 - Efeitos principais calculados a partir do planejamento Plackett-Burman para a faixa m/z 300 - 800

Fator	Efeito	Erro	t-valor	P-valor	Significância
Tempo de extração	-9,1111	8,535	-1,0675	0,2964	Não
Tempo de dessorção	6	8,535	0,703	0,4888	Não
Solvente de dessorção (MeOH:IPA)	26,1111	8,535	3,0594	0,0054	Sim
Fator de diluição	21,8889	8,535	2,5647	0,017	Sim
Agitação	$-1,1842 \times 10^{-15}$	8,535	$-1,3875 \times 10^{-16}$	1	Não
Temperatura	-5,4444	8,535	-0,6379	0,5296	Não

Fonte: Autoria própria.

Figura 8 – Gráfico de Pareto para o Planejamento Plackett-Burman para a faixa m/z 300 - 800



Fonte: Autoria própria.

Pelos dados da Tabela 12 e Figura 8, nota-se que apenas a composição do solvente extrator e o fator de diluição foram estatisticamente significativos, para os níveis testados e 95% de confiança, além disso, seu efeito sobre a média do número de íons foi positivo, em ambos os fatores, ou seja, aumentar o teor de isopropanol na fase extratora e o tempo de extração, aumenta o número de íons detectados. Para essa faixa, o tempo de extração não é significativa, como para a anterior.

4.3.3 Faixa m/z 700 – 2000

A Tabela 13 mostra os resultados para os doze experimentos, realizados em triplicata e em ordem aleatória para essa faixa.

Tabela 13 – Resultados do planejamento Plackett-Burman para a faixa m/z 700 – 2000

Experimento	Nº de íons	Nº de íons	Nº de íons	nº médio de íons	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação
1	272	291	276	280	10	4
2	150	260	285	232	72	31
3	281	271	257	270	12	4
4	303	263	255	274	26	9
5	150	203	145	166	32	19
6	255	264	317	279	34	12
7	394	264	266	308	74	24
8	312	286	286	295	15	5
9	282	315	258	285	29	10
10	359	197	171	242	102	42
11	303	354	403	353	50	14
12	346	362	361	356	9	3

Fonte: Autoria própria.

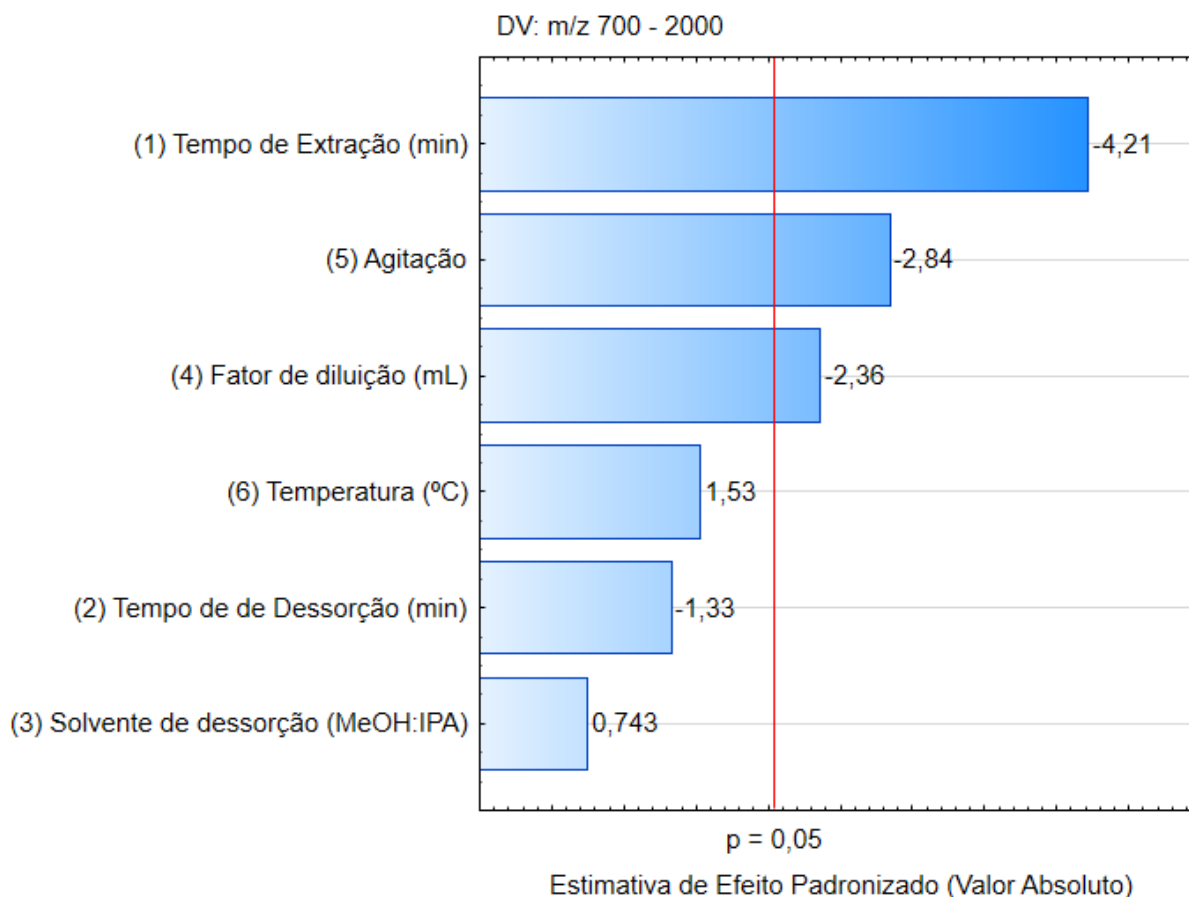
Empregando novamente os *softwares* Chemoface 1.64 e *STATISTICA* 3.5 (Statsoft) foram realizados os cálculos dos efeitos (Tabela 14). A Figura 9 mostra o gráfico de Pareto para esses resultados.

Tabela 14 - Efeitos principais calculados a partir do planejamento Plackett-Burman para a faixa m/z 700 - 2000

Fator	Efeito	Erro	t-valor	p-valor	Significância
Tempo de extração	-65,8333	16,036	-4,1055	$4,0351 \times 10^{-4}$	Sim
Tempo de dessorção	-20,7222	16,036	-1,2923	0,2086	Não
Solvente de dessorção (MeOH:IPA)	11,6111	16,036	0,7241	0,476	Não
Fator de diluição	-36,8333	16,036	-2,2970	0,0306	Sim
Agitação	-44,3889	16,036	-2,7682	0,0107	Sim
Temperatura	23,8333	16,036	1,4863	0,1502	Não

Fonte: Autoria própria.

Figura 9 - Gráfico de Pareto para o Planejamento Plackett-Burman para a faixa m/z 700 - 2000



Fonte: Autoria própria.

Pelos dados da Tabela 14 e Figura 9, nota-se que apenas a composição do solvente extrator e o fator de diluição e a agitação foram estatisticamente significativos, para os níveis testados e 95% de confiança, além disso, seu efeito sobre a média do número de íons foi negativo, nesses fatores, ou seja, diminuir o teor de isopropanol na fase extratora, o tempo de extração e não agitar aumenta o número de íons detectados. Para essa faixa, o tempo de extração não é significativo nos níveis testados, como foi para a primeira faixa.

4.3.4 Faixa m/z 1000 – 2000

A Tabela 15 mostra os resultados para os doze experimentos, realizados em triplicata e em ordem aleatória para essa faixa.

Tabela 15 - Resultados do planejamento Plackett-Burman para a faixa m/z 1000 – 2000

Experimento	Nº de íons	Nº de íons	Nº de íons	nº médio de íons	Desvio Padrão	Coefficiente de Variação
1	208	198	227	211	15	7
2	202	232	319	251	61	24
3	201	199	197	199	2	1
4	315	195	204	238	67	28
5	223	249	158	210	47	22
6	177	205	227	203	25	12
7	278	338	210	275	64	23
8	259	290	246	265	23	9
9	332	256	289	292	38	13
10	212	233	209	218	13	6
11	210	302	322	278	60	21
12	213	296	244	251	42	17

Fonte: Autoria própria.

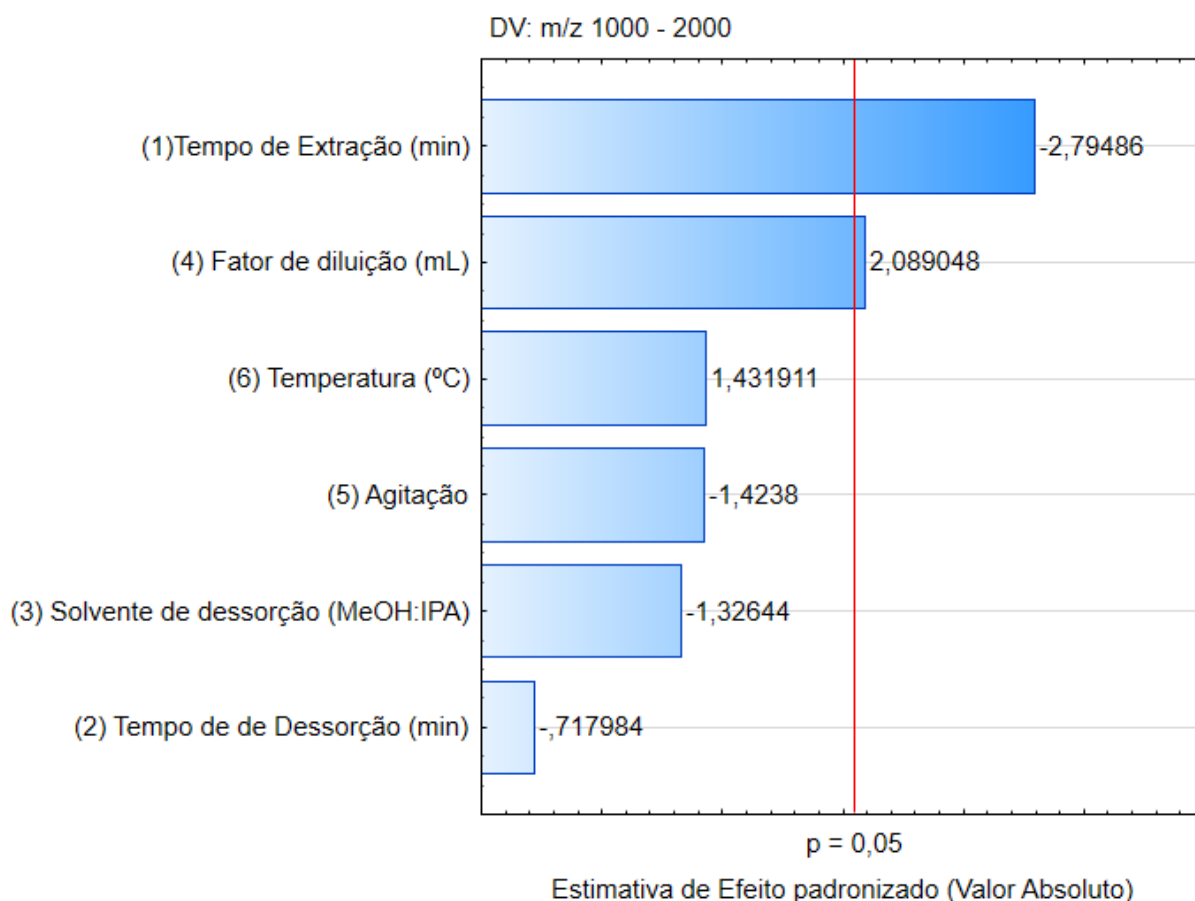
Empregando novamente os *softwares* Chemoface 1.64 e *STATISTICA* 3.5 (Statsoft) foram realizados os cálculos dos efeitos (Tabela 16). A Figura 10 mostra o gráfico de Pareto para esses resultados.

Tabela 16 - Efeitos principais calculados a partir do planejamento Plackett-Burman para a faixa m/z 1000 - 2000

Fator	Efeito	Erro	t-valor	p-valor	Significância
Tempo de extração	-38,2778	14,52	-2,6363	0,0145	Sim
Tempo de dessorção	-9,8333	14,52	-0,6772	0,5047	Não
Solvente de dessorção (MeOH:IPA)	-18,1667	14,52	-1,2512	0,2229	Não
Fator de diluição	28,6111	14,52	1,9705	0,0604	Sim
Agitação	-19,5000	14,52	-1,3430	0,1918	Não
Temperatura	19,6111	14,52	1,3507	0,1894	Não

Fonte: Autoria própria.

Figura 10 - Gráfico de Pareto para o Planejamento Plackett-Burman para a faixa m/z 1000 - 2000



Fonte: Autoria própria.

Pelos dados da Tabela 16 e Figura 10, nota-se que apenas o tempo de extração e o fator de diluição foram estatisticamente significativos, para os níveis testados e 95% de confiança, além disso, seu efeito sobre a média do número de íons foi positivo para o tempo de extração e negativo para o fator de diluição, ou seja, aumentar o tempo de extração e diminuir o fator de diluição aumenta o número de íons detectados. Para essa faixa, composição do solvente extrator não é significativo nos níveis testados, como para todas as demais faixas e nem o são a agitação como foi para a terceira faixa.

4.3.5 Análise dos dados da matriz Plackett-Burman

Assim, levando-se em conta os resultados para essas quatro faixas, tem-se que o tempo de dessorção e a temperatura não foram estatisticamente significativos, com 95% de confiança, para os níveis testados e, portanto, serão fixados no nível baixo para os experimentos futuros. A agitação foi relevante apenas uma faixa e teve um efeito antagônico, assim, a agitação será removida das demais etapas.

Dessa forma, a composição do solvente extrator, o fator de diluição e tempo de extração são as variáveis que serão efetivamente otimizadas. A composição do solvente extrator foi positiva para duas faixas e negativa para a de m/z 700 – 2000. Dessa forma, em um caminho de Máxima Inclinação esse fator será trabalhado com passos no sentido positivo, e na etapa de determinação de um ponto ótimo, utilizar-se-á uma função de desejabilidade para determinar a melhor condição de compromisso para todas as faixas. O fator de diluição foi positivo em duas faixas e negativo para a de m/z 700 – 2000 assim uma abordagem análoga ao da composição de solvente será adotada, caminhando-se no sentido positivo de aumento do fator de diluição. Quanto ao tempo de extração, ele foi positivo em duas faixas e indiferente em outras duas, e será então direcionado no sentido positivo no caminho de máxima inclinação.

Dessa forma, não se observa um padrão nos diferentes perfis de efeitos dos fatores, para esse intervalo de níveis com 95% de confiança. Torna-se bastante complexo determinar, pelos perfis individuais de cada faixa, se há uma condição de compromisso que atenda a todas as faixas, e que permita determinar qual caminho seguir para encontrar uma região ótima para todas as faixas simultaneamente. Buscando determinar essa condição comum, se ela existir, empregou-se a função desejabilidade como resposta do Planejamento Plackett-Burman (Tabela 17). As desejabilidades individuais, visando a maximização da resposta é mostrado na Equação 1, em que y é o valor da resposta de cada experimento (neste caso, a média das triplicatas de cada ensaio), L é o menor valor observado, T é o valor desejado (maior valor observado) e s é o peso atribuído aquela resposta. A desejabilidade global é obtida da média geométrica das desejabilidades individuais, admitindo-se, nesse caso, peso 1 para todas as faixas estudadas, a Tabela 18 traz os efeitos

calculados por esse modelo e a Figura 11 mostra o respectivo gráfico de Pareto, obtidos com o *software* STATISTICA 3.5 (Statsoft).

$$d_i = \begin{cases} 0 & \text{se } y < L \\ \left(\frac{y-L}{T-L}\right)^s & \text{se } L \leq y \leq T \\ 1 & \text{se } y > T \end{cases} \quad (1)$$

Tabela 17 - Número médio de íons, desejabilidade individuais e desejabilidade global calculados a partir dos resultados das quatro faixas estudadas no Planejamento de Plackett-Burman

Experimento	Número médio de íons				desejabilidades individuais (d_i)				desejabilidade global
	-1	-2	-3	-4	-1	-2	-3	-4	(D)
1	102	45	280	211	0,65	0,09	0,6	0,13	0,259
2	89	68	232	251	0,53	0,43	0,35	0,56	0,458
3	96	67	270	199	0,59	0,42	0,55	0	0
4	114	71	274	238	0,75	0,49	0,57	0,42	0,542
5	92	53	166	210	0,56	0,22	0	0,12	0
6	105	61	279	203	0,68	0,33	0,59	0,04	0,274
7	140	98	308	275	1	0,9	0,75	0,82	0,861
8	113	105	295	265	0,75	1	0,68	0,71	0,773
9	47	39	285	292	0,14	0	0,63	1	0
10	103	44	242	218	0,66	0,07	0,4	0,2	0,248
11	32	40	353	278	0	0,01	0,98	0,85	0
12	51	47	356	251	0,17	0,12	1	0,56	0,328

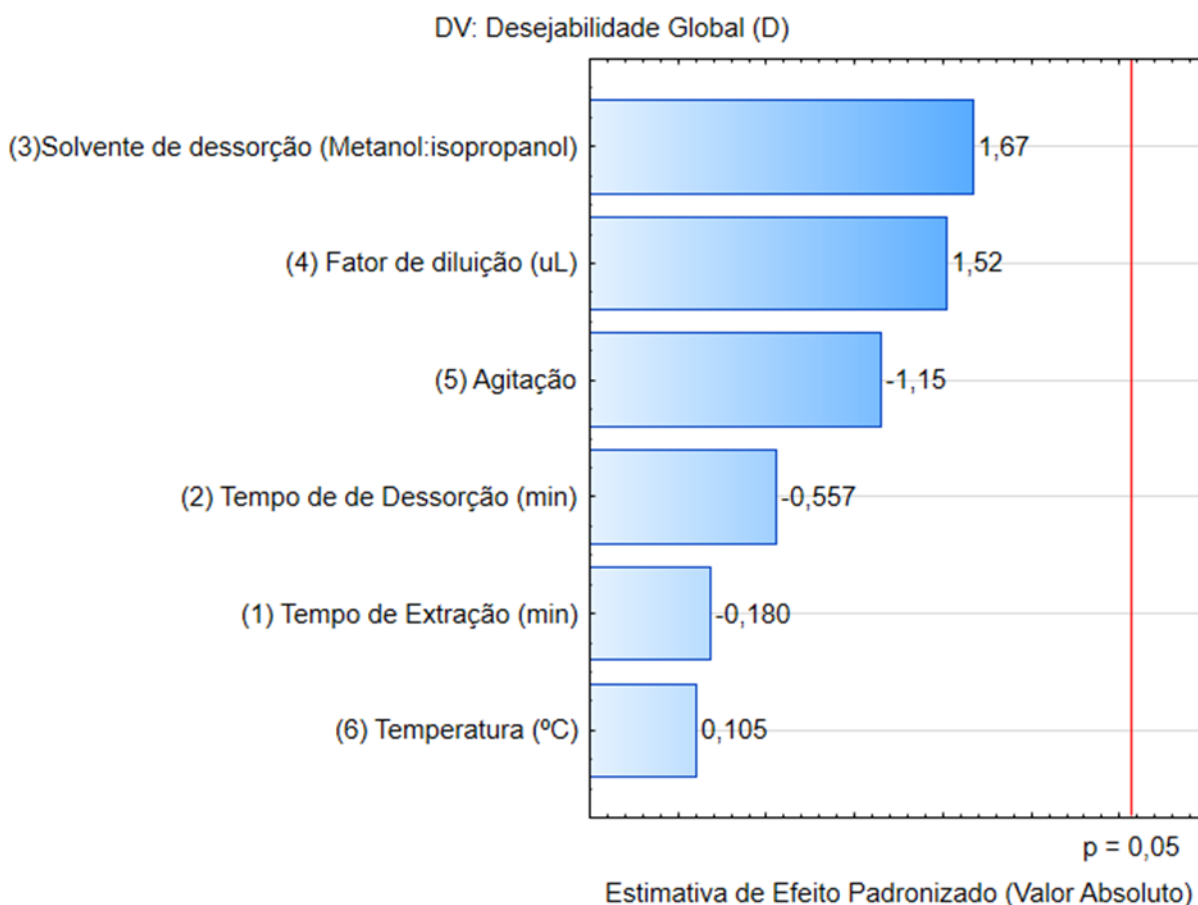
Fonte: Autoria própria.

Tabela 18 - Efeitos principais calculados a partir do planejamento Plackett-Burman para a desejabilidade global

Fator	Efeito	Erro	t-valor	p-valor	Significância
Tempo de extração	-0,029974	0,166994	-0,17949	0,8646	Não
Tempo de dessorção	-0,093077	0,166994	-0,55737	0,601306	Não
Solvente de dessorção (MeOH:IPA)	0,279035	0,166994	1,67093	0,1556	Não
Fator de diluição	0,254038	0,166994	1,52124	0,188684	Não
Agitação	-0,192268	0,166994	-1,52134	0,301654	Não
Temperatura	0,017581	0,166994	0,10528	0,920248	Não

Fonte: Autoria própria..

Figura 11 - Gráfico de Pareto para o Planejamento Plackett-Burman para a desejabilidade



Fonte: Autoria própria.

Dessa forma, pela Tabela 18 e Figura 11, tem-se que não é possível determinar uma condição de compromisso que leve à otimização dos parâmetros adotados, a partir dos níveis pré-estabelecidos, para encontrar uma condição ótima a todas as faixas. No aspecto químico, esse resultado é razoável, pois muito provavelmente as espécies encontradas na primeira faixa são muito distintas daquelas encontradas na última, em termos de estrutura, polaridade e propriedades físico-químicas. Logo, a otimização de extração deve se desdobrar em dois sentidos distintos, determinando condições de compromisso que atendam as duas primeiras faixas e uma que atenda as duas últimas.

Repetindo-se os cálculos de desejabilidade global como a média das desejabilidades individuais para as duas primeiras faixas e depois para as duas últimas (Tabela 19), pode-se recalcular dois modelos que levam respectivamente a Tabela 20 e a Figura 12, para o primeiro par de faixas, e a Tabela 21 e a Figura 13, para o segundo par de faixas.

Tabela 19 - Novas desejabilidades globais calculadas para os pares de faixas de m/z

Experimento	Desejabilidades individuais (di)		Desejabilidade global 1	Desejabilidades individuais (di)		Desejabilidade global 2
	m/z 50-600	m/z 300-800	(D1)	m/z 700-2000	m/z 1000-2000	(D2)
1	0,649	0,091	0,243	0,597	0,129	0,277
2	0,529	0,434	0,479	0,345	0,557	0,438
3	0,588	0,424	0,499	0,545	0	0
4	0,754	0,485	0,605	0,566	0,418	0,486
5	0,557	0,217	0,348	0	0,118	0
6	0,677	0,328	0,471	0,592	0,043	0,159
7	1	0,899	0,948	0,746	0,818	0,781
8	0,748	1	0,865	0,676	0,707	0,691
9	0,142	0	0	0,625	1	0,791
10	0,658	0,071	0,216	0,401	0,204	0,286
11	0	0,01	0	0,984	0,846	0,913
12	0,172	0,121	0,145	1	0,557	0,746

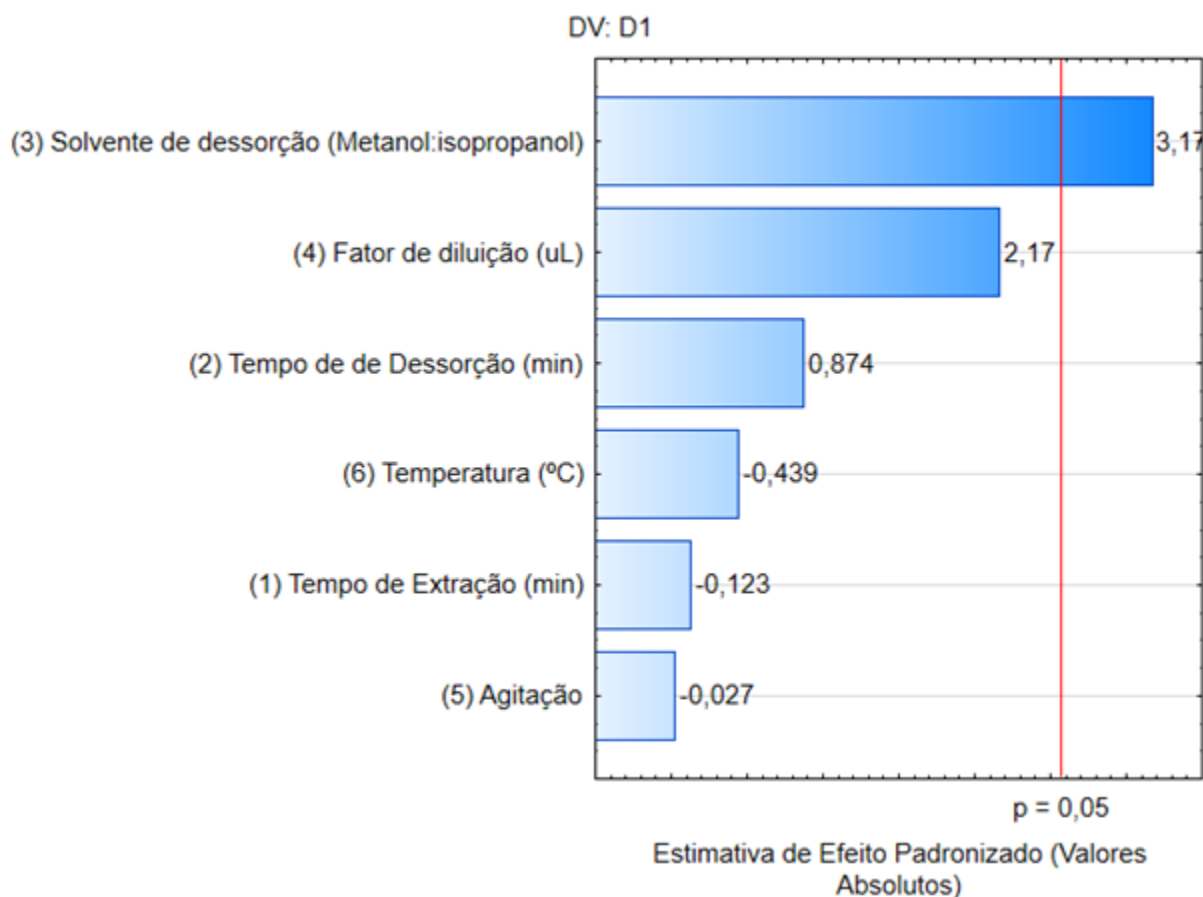
Fonte: Autoria própria.

Tabela 20 - Efeitos principais calculados a partir do planejamento Plackett-Burman para a desejabilidade global do primeiro par de faixas (m/z 50 – 600 e m/z 300 - 800)

Fator	Efeito	Erro	t-valor	p-valor	Significância
Tempo de extração	-0,015796	0,128521	-0,122908	0,906967	Não
Tempo de dessorção	-0,112268	0,128521	0,873535	0,422335	Não
Solvente de dessorção (MeOH:IPA)	0,407261	0,128521	3,168826	0,024848	Sim
Fator de diluição	0,278445	0,128521	2,166528	0,082504	Não
Agitação	-0,003443	0,128521	-0,026787	0,979666	Não
Temperatura	-0,056467	0,128521	-0,439361	0,678739	Não

Fonte: Autoria própria.

Figura 12 - Gráfico de Pareto para o Planejamento Plackett-Burman para a desejabilidade global do primeiro par de faixas (m/z 50 – 600 e m/z 300 - 800)



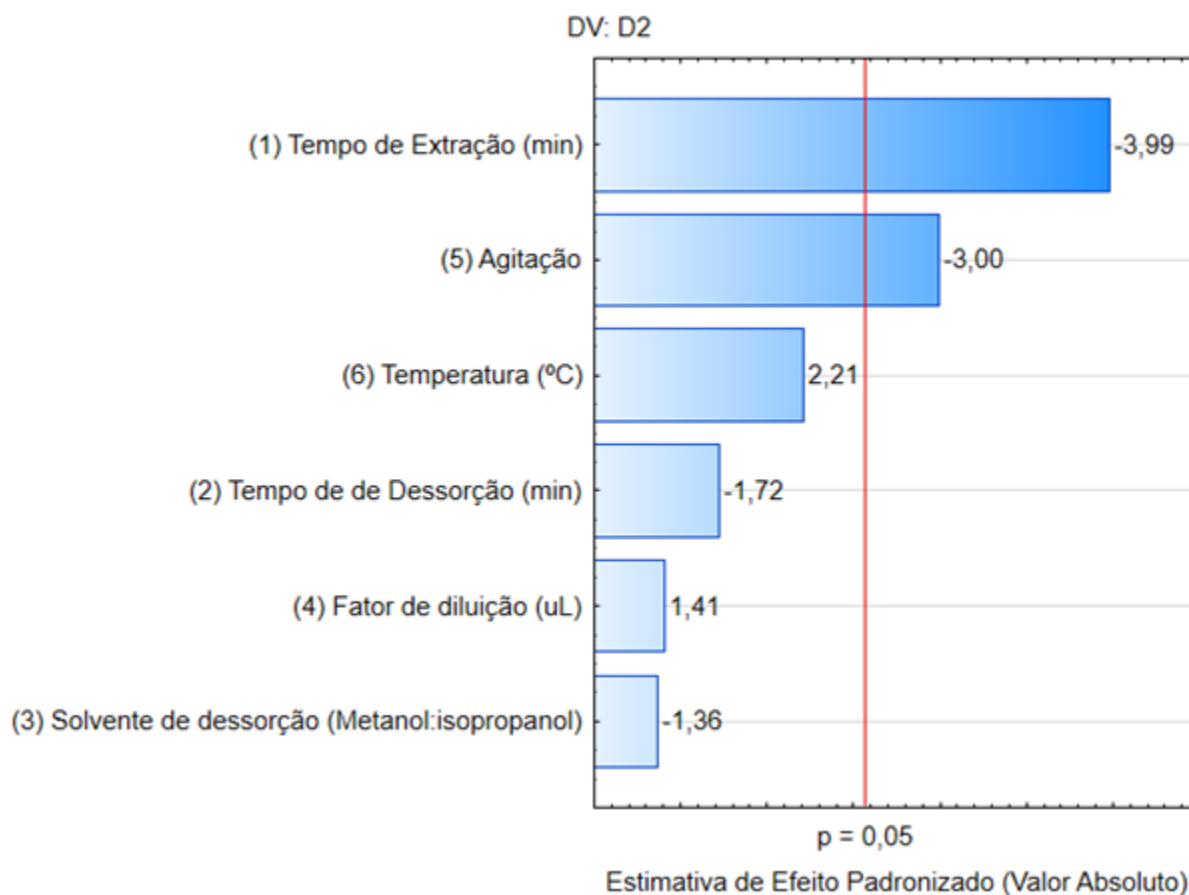
Fonte: Autoria própria.

Tabela 21 - Efeitos principais calculados a partir do planejamento Plackett-Burman para a desejabilidade global do segundo par de faixas (m/z 700 – 2000 e m/z 1000 - 2000)

Fator	Efeito	Erro	t-valor	p-valor	Significância
Tempo de extração	-0,379281	0,095299	-3,97990	0,010532	Sim
Tempo de dessorção	-0,164327	0,095299	-1,72433	0,14525	Não
Solvente de dessorção	-0,129823	0,095299	-1,36227	0,23127	Não
Fator de diluição	0,134431	0,095299	1,41063	0,217432	Não
Agitação	-0,285813	0,095299	-2,99912	0,03013	Sim
Temperatura	0,210404	0,095299	2,20782	0,078319	Não

Fonte: Autoria própria.

Figura 13 - Gráfico de Pareto para o Planejamento Plackett-Burman para a desejabilidade global do segundo par de faixas (m/z 700 – 2000 e m/z 1000 - 2000)



Fonte: Autoria própria.

Para o primeiro modelo de desejabilidade global (primeiras duas faixas de m/z), a composição do solvente é o único fator estatisticamente significativo, com 95% de confiança, para os níveis testados. O fator tempo de extração, que no modelo individual é estatisticamente significativo, para a primeira faixa (m/z 50 - 600) deve ser fixado no nível alto, já que perde a significância no modelo global de compromisso, mas tinha efeito positivo na primeira faixa. Já o fator de diluição, que é estatisticamente significativo, nos níveis testados, a 95% de confiança, para faixa m/z 300 – 800 (enquanto resposta individual), deve ser fixado no nível baixo, uma vez que não é significativo para uma condição de compromisso. Assim, o mais adequado para essa faixa de m/z (50 – 800) é fazer a otimização univariada da composição de solvente.

Para o segundo modelo de desejabilidade global (duas últimas faixas), a agitação e o tempo de extração são estatisticamente significativos (95% de confiança,

para os níveis testados. A agitação deve ser removida pois atuou negativamente sobre o modelo. O tempo de extração apresenta efeito negativo e será diminuído em abordagem univariada, para determinar a melhor condição de compromisso para as duas últimas faixas. Por fim, o fator de diluição, que era estatisticamente significativo (95% de confiança), para os níveis testados, para a faixa de m/z 1000 - 2000 deixa de ser significativo, para a condição de compromisso, como era um efeito positivo, esse fator é fixado em seu nível alto para a faixa de trabalho de m/z 700 – 2000.

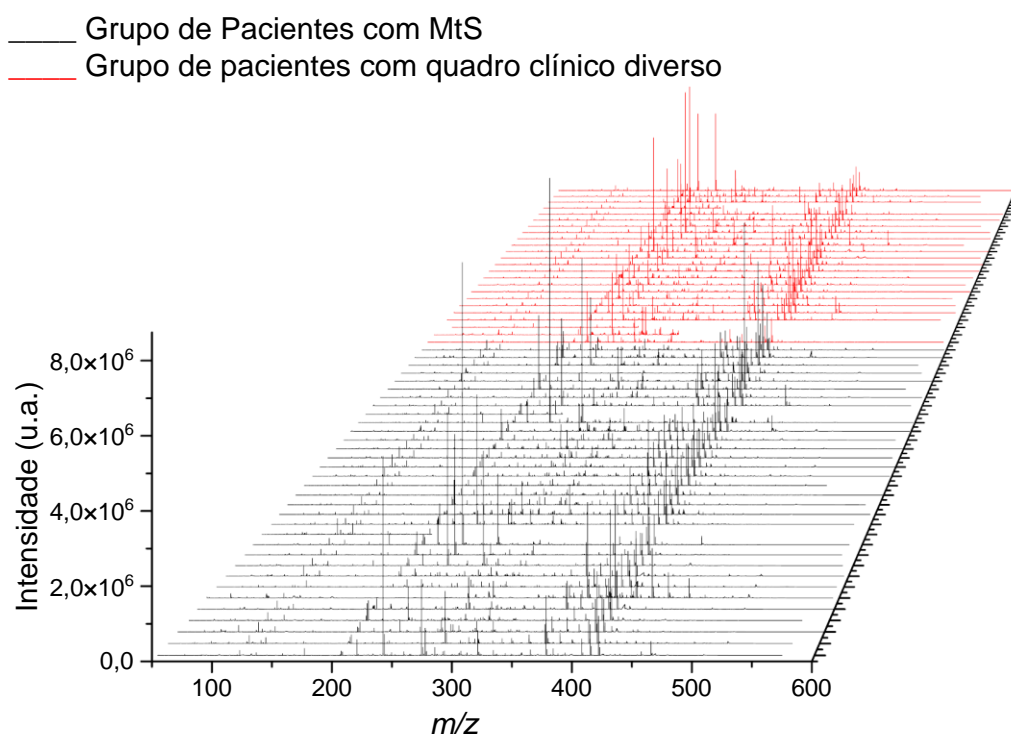
Portanto, pelos dois modelos globais, temos que as melhores condições de compromisso podem ser entendidas como um aumento do teor de metanol, menores tempos de extração e dessorção, sem agitação e temperaturas mais amenas. Dessa forma, adotou-se para as extrações de pacientes: com 5 min de extração e 5 min de dessorção a 30°C sem agitação em 150 μ L de metanol.

4.4 ANÁLISE ESPECTROMÉTRICA DAS AMOSTRAS DE CSF DE PACIENTES COM ESCLEROSE MÚLTIPLA E GRUPO DE CONTROLE

Os dados espectrométricos foram obtidos por meio do software *Xcalibur* (Thermo) e *MZmine 3*, organizados em planilhas no Excel (Microsoft) e plotados os espectros de massas no *Origin 2021*. Foi utilizado um *threshold* de 30% em relação ao sinal mais intenso em cada espectro obtido, tendo em vista as janelas de aquisição de dados nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-2000 *m/z* e 1000-2000 *m/z*, resultando em espectros com íons em ordem de grandeza entre 10^5 e 10^7 a depender da faixa de *m/z* em análise, para duplicata das amostras cada paciente investigado.

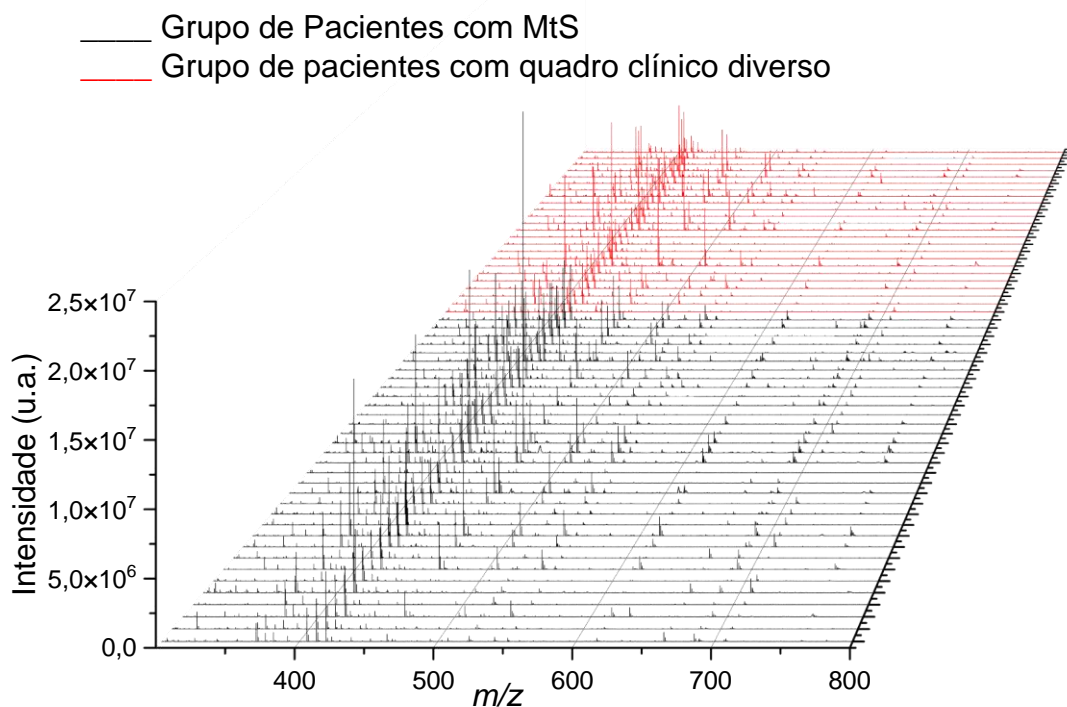
Na faixa de 50-600 *m/z*, foi possível observar um maior sinal analítico para os íons dessa faixa nas amostras de pacientes com MtS (linhas espectrais em preto) frente aos íons gerados a partir de amostras de pacientes do grupo de controle com quadro clínico diverso (linhas espectrais em vermelho) – pessoas saudias ou com outras doenças neurológicas –, com maior diversidade de íons e maior sinal predominantemente no intervalo de 200 a 450 *m/z* com ordem de grandeza entre 10^5 e 10^6 conforme apresentado no conjunto de espectros da Figura 14.

Figura 14 - Espectro de massas na faixa de 50-600 *m/z* a partir de amostras de pacientes com MtS e pacientes com quadro clínico diverso



Na faixa de 300-800 m/z , foi possível observar uma maior sobreposição sinal analítico para os íons dessa faixa nas amostras de pacientes com MtS (linhas espectrais em preto) frente aos íons gerados a partir de amostras de pacientes do grupo de controle com quadro clínico diverso (linhas espectrais em vermelho) – pessoas saudias ou com outras doenças neurológicas –, com maior diversidade de íons e maior sinal predominantemente no intervalo de 350 a 470 m/z com ordem de grandeza entre 10^6 e 10^7 conforme apresentado no conjunto de espectros da Figura 15.

Figura 15 - Espectro de massas na faixa de 300-800 m/z a partir de amostras de pacientes com MtS e pacientes com quadro clínico diverso

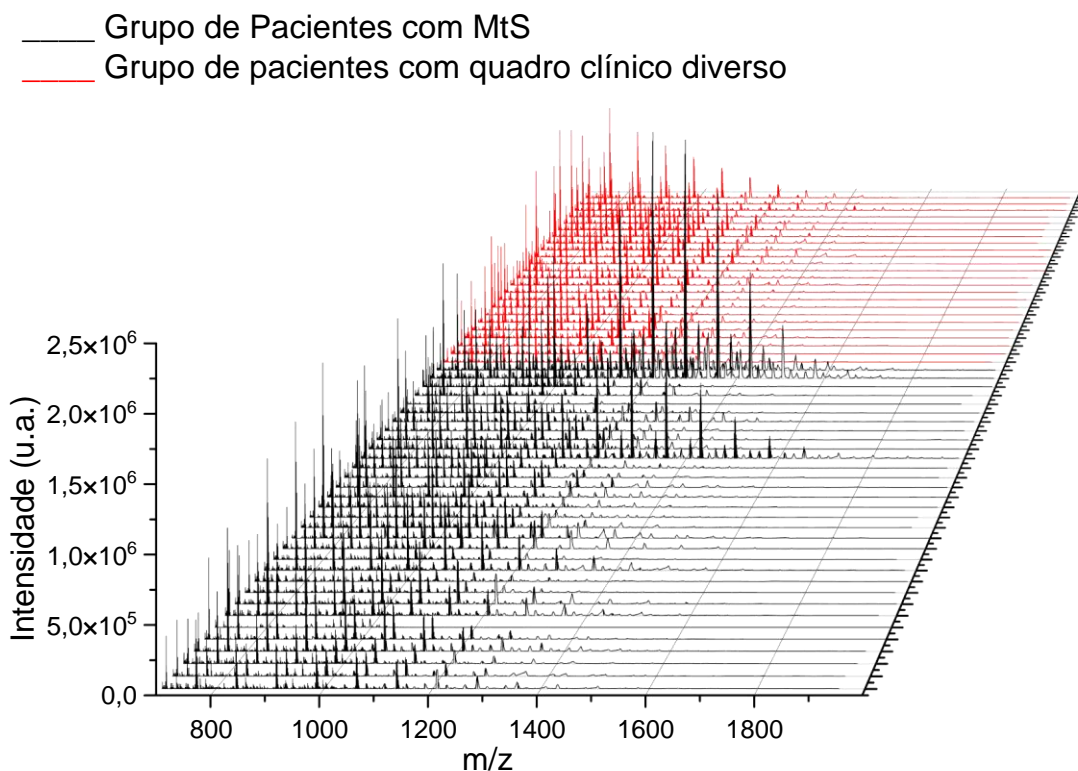


Fonte: Autoria própria.

Na faixa de 700-2000 m/z , foi possível observar que os sinais dos íons obtidos em amostras de pacientes com MtS (linhas espectrais em preto) são maiores frente aos íons obtidos em amostras de pacientes com quadro clínico diverso - grupo de controle -, (linhas espectrais em vermelho). Os sinais mais intensos para os pacientes com MtS predominam no intervalo de 100 a 1400 m/z com ordem de grandeza de 10^6 . Os sinais obtidos a partir de amostras do grupo de controle apresentam os sinais

mais intensos no intervalo de 700 a 900 m/z com ordem de grandeza de 10^5 , conforme apresentado no conjunto de espectros da Figura 16.

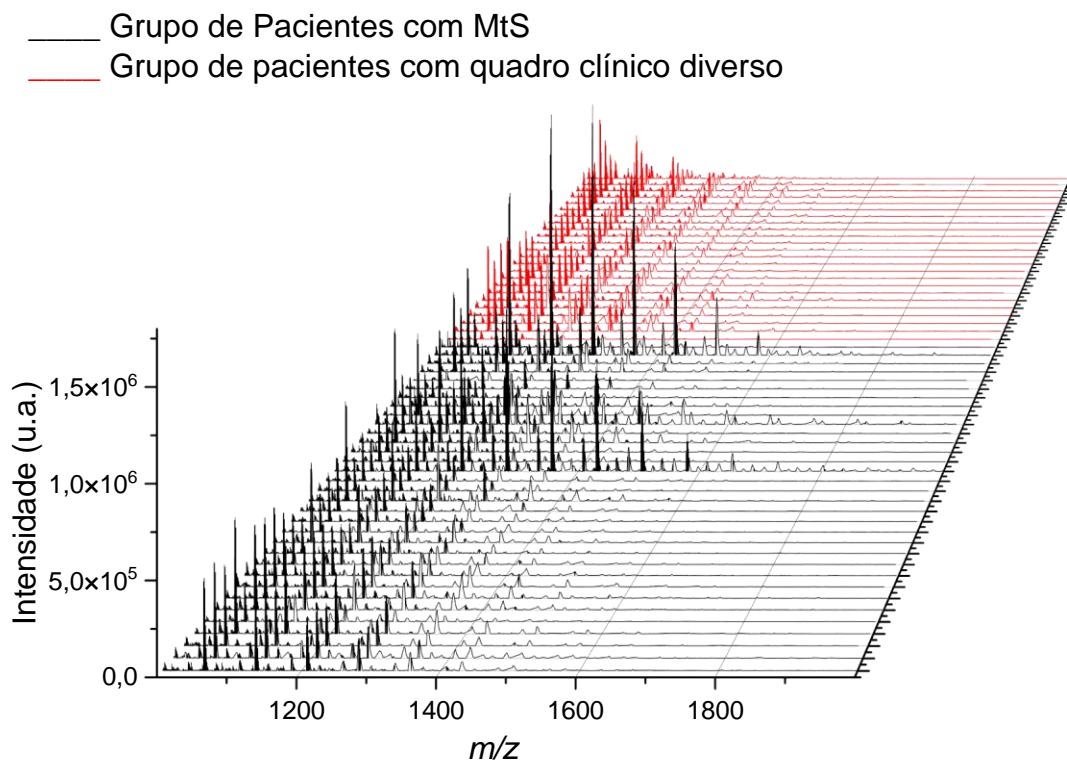
Figura 16 - Espectro de massas na faixa de 700-2000 m/z a partir de amostras de pacientes com MtS e pacientes com quadro clínico diverso



Fonte: Autoria própria.

Na faixa de 1000-2000 m/z , foi possível observar que os sinais dos íons obtidos em amostras de pacientes com MtS (linhas espectrais em preto) são maiores frente aos íons obtidos em amostras de pacientes com quadro clínico diverso – grupo de controle -, (linhas espectrais em vermelho). Os sinais mais intensos para os pacientes com MtS predominam no intervalo de 1100 a 1400 m/z com ordem de grandeza de 10^6 . Os sinais obtidos a partir de amostras do grupo de controle apresentam os sinais mais intensos no intervalo de 1000 a 1150 m/z com ordem de grandeza de 10^5 , conforme apresentado no conjunto de espectros da Figura 17.

Figura 17 - Espectro de massas na faixa de 1000-2000 m/z a partir de amostras de pacientes com MtS e pacientes com quadro clínico diverso



Fonte: Autoria própria.

Para compreender os dados espectrais obtidos a partir das amostras de CSF, é necessário o emprego de técnicas estatísticas para melhor visualização de dimensionalidade dos dados, validação estatística das informações referentes aos dados gerados, além de possibilitar a redução do número de espécies investigadas, ou mesmo, por diferenciação entre perfis de pacientes com determinada doença e pacientes saudáveis. Dessa forma, opta-se nessa investigação em utilizar a Análise de Componentes Principais (do inglês *Principal Component Analysis, PCA*) para verificar a possibilidade de agrupamento dos dados espectrométricos das amostras de CSF de pacientes com MtS e pacientes com quadro clínico diverso (saudáveis ou com outras doenças neurológicas).

4.5 PROCESSAMENTO DE DADOS E ANÁLISE DE COMPONENTES PRINCIPAIS APLICADA A LIPIDÔMICA

Nos domínios da Lipidômica, ou mesmo na análise de outras espécies, a Espectrometria de Massas gera grandes conjuntos de dados. Para compreender as informações que esses dados guardam são necessários técnicas estatísticas cada vez mais refinadas. Algumas plataformas online ou softwares tem como premissa auxiliar os usuários a processar seus dados experimentais.

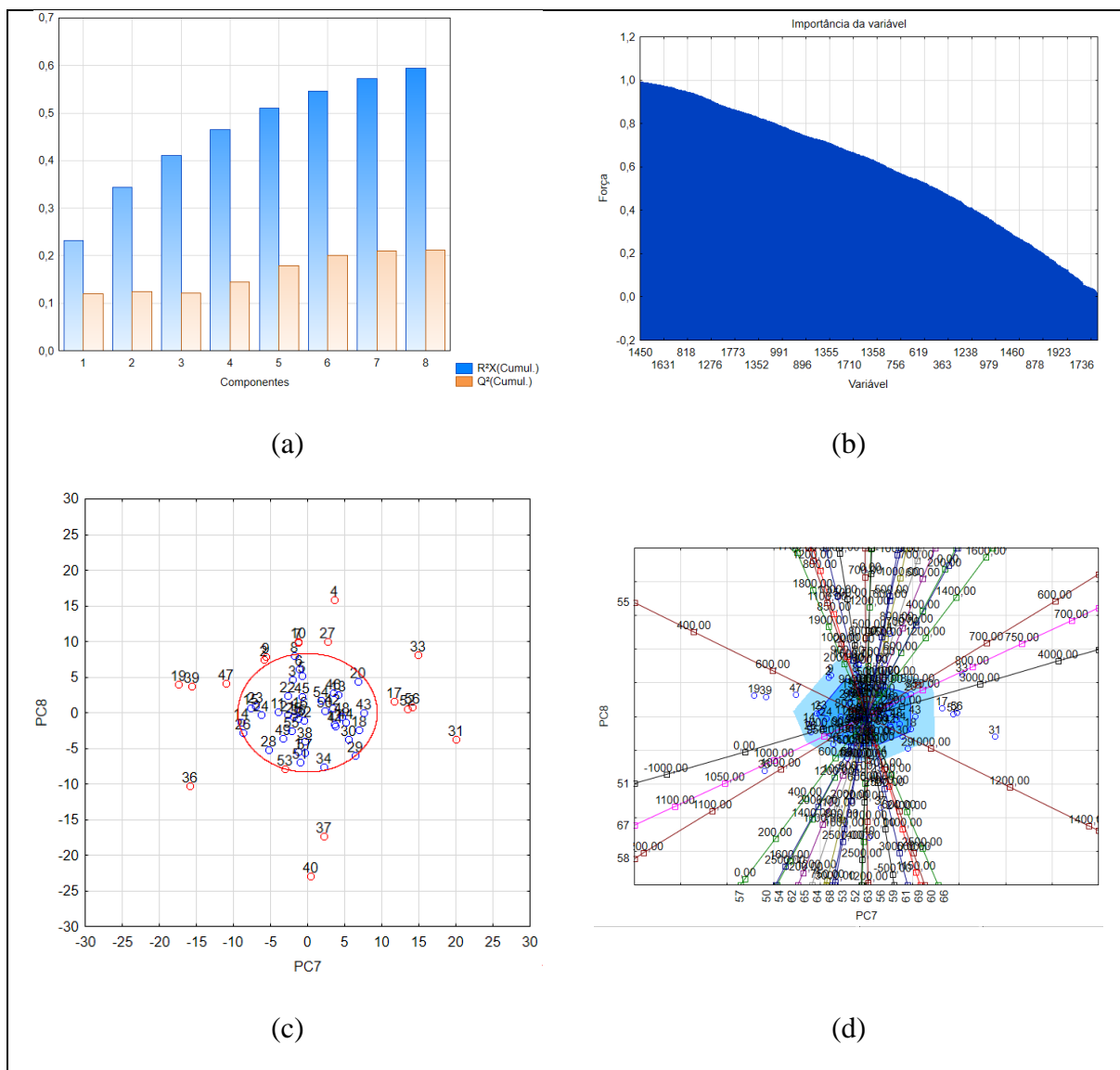
Porém, esse processamento de dados pode tornar-se uma etapa muito difícil para quem procedeu suas análises, especialmente, se houver experimentos de natureza *shotgun* ou por infusão direta (DIMS), ou seja, não possuem uma técnica de separação como cromatografia ou eletroforese, como segunda dimensão analítica, acopladas aos espectrômetros de massas. As plataformas e softwares como *Lipid Data Analyzer (LDA)*, *LipidFinder*, *MS-DIAL*, *XCMS online* e *Lipostar 2.0*, estão em constantes atualizações em suas bases de dados e modificações nas interfaces tendo em vista os usuários desses serviços, porém elas não possibilitam o processamento de dados que não estejam interligados às técnicas de separações.

Alguns softwares (gratuitos ou com licenças comerciais) como *LipidHunter2*, *LipidXplorer* e *MZMine* permitem etapas do processamento de dados (imputação ou preenchimento de valores ausentes) espectrométricos gerados em análises por uma abordagem do tipo *Shotgun*, ou seja, sem o acoplamento com técnicas de separação.

Para prosseguimento do processamento de dados é necessário inicialmente a organização e alinhamento dos dados. Nessa etapa foi utilizando o Excel (Microsoft) para realizar esse alinhamento, gerando cerca de 336.451 células para cada amostra. É uma quantidade expressiva de dados que em um processamento de rotina, pode tornar essa etapa um momento que requeira muita paciência do analista, principalmente com a dificuldade do software de processar tantas informações.

Após o alinhamento e imputação, foi utilizado o software *Statistica v. 64* para realizar a PCA dos dados para averiguar a auto-organização dos dados espectrais, a Análise de Componentes Principais (do inglês *Principal Component Analysis*, PCA) foi realizada. A Figura 18 mostra os principais resultados obtidos, e o Apêndice 1 contém as 28 projeções das oito componentes principais (PCs).

Figura 18 - Análise de Componente Principais para os espectros alinhados, em resolução unitária, de pacientes com e sem esclerose múltipla: (a) Capacidade de explicar variabilidade atribuído a cada uma das oito componentes principais; (b) Contribuição das relações massa/carga na variabilidade dos dados; (c) Score plot para a PC7 vs. PC8; (d) biplot para PC7 vs. PC8



Fonte: Autoria própria.

Destaca-se que para poder realizar a análise de PCA, os dados espectrais foram alinhados e tiveram seu devido *threshold* aplicado. Desse alinhamento, mais de 330 mil colunas foram geradas, o que gera uma demanda de processamento muito superior que as disponíveis para hardware e software de uso pessoal. Para viabilizar essa análise, foi necessário reduzir a resolução espectral a nível unitário, gerando uma matriz de aproximadamente quatro mil e quinhentas colunas, cujo processamento no software *Statistica v. 64* levou cerca de 4 h para essa etapa de cálculo.

Na Figura 18a, tem-se que os espectros com resolução unitária podem ser decompostos em oito componentes principais, cujas contribuições na composição dos dados e potencial em explicar a variabilidade dos dados ocorrem com distribuição crescente ao longo das PCs.

Na Figura 18b, tem-se as contribuições das diferentes relações de m/z no agrupamento das variáveis pelas 8 componentes principais (PCs), em que se nota que não há um padrão claro de faixa de m/z capaz de definir um perfil específico, de forma a não se explicitar uma classe específica de lipídios que leve a decomposição dessas 8 PCs específicas.

A Figura 18c e 18d representam um recorte dos dados apresentados no Apêndice 1. Na Figura 18c nota-se que não há um agrupamento perfeitamente delineado entre os pacientes com esclerose múltipla em relação a pacientes com outras patologias, mas há de fato alguma diferenciação entre esses pacientes em relação ao perfil aglomerado dentro de uma variação de 1,3 desvios-padrão, indicando que uma diferenciação do perfil lipídico dos pacientes de esclerose múltipla, conforme apontado em literatura.⁷⁵

Casos de controle se misturam nessas diferenciações, bem como pacientes de esclerose múltipla não são sempre destacados, o que leva a falsos positivos e falsos negativos.

Nesse sentido, a perfilagem pode variar drasticamente com o grau de avanço da esclerose múltipla e de diversos fatores relacionados ao quadro clínico, levando-se a necessidade de um processamento mais refinado de dados para se possa aplicar qualquer modelo quimiométrico. Nesse sentido, a dimensão cromatográfica é uma alternativa para complementar esses dados e permitir uma obtenção de PCA mais conclusiva, dado que a técnica de separação em questão pode permitir um agrupamento mais eficaz de dados em função das propriedades das classes de compostos a serem separados e posteriormente identificados nesses tipos de amostras biológicas.

Na Figura 18d, tem-se o *biplot* da PCA vs. PCB, em que se nota uma miscelânea de *loadings* atuando sobre a distribuição dos scores. Dessa forma, tem-se que o perfil como um todo influi na distribuição espacial e agrupamento dos pacientes, não se detectando nenhuma relação m/z que atue de forma mais decisiva. Ou seja, não se

tem nenhuma espécie que possa ser discriminada como marcador específico para os quadros clínicos apresentados.

Finalmente, destaca-se que o perfil lipídico dos pacientes 1, 12, 16 e 26, nenhum deles portador de esclerose múltipla, são completamente distintos dos demais perfis dos outros pacientes, conforme pode-se observar nas várias projeções das PCs apresentadas no Apêndice 1. Nesse cenário, investigar mais profundamente o quadro clínico desses pacientes é interessante pois o ensaio proposto nesse trabalho é bastante efetivo em diferenciá-los dos demais quadros patológicos testados.

Após a verificação da auto-organização de dados é possível prosseguir com o tratamento de dados em direção da identificação de possíveis lipídios. Destaca-se que outras etapas para validação de métodos e processos de quantificação envolvendo técnicas de padronização, ou análises espectrométricas em tandem devem ser priorizadas. Porém, para este trabalho as amostras obtidas consistiam em pequenas alíquotas de volumes próximos a 250 μ L (principalmente as amostras de pacientes do grupo de controles), uma vez que o CSF é uma matriz biológica de difícil acesso para investigação tendo em vista os riscos que sua obtenção representa para o paciente.

4.6 PREVISÃO DE LIPÍDIOS NAS AMOSTRAS DE CSF UTILIZANDO O SOFTWARE MZMINE 3

A identificação de íons gerados em MS é uma etapa crucial do processamento da informação química desejada de uma matriz em estudo. Softwares e plataformas auxiliam os analistas nessa tarefa ao fazer o cruzamento dos dados obtidos com bases de dados espectrais.

Porém, para que isso seja feito é empregado o cruzamento de dados espectrais com informações obtidas a partir de técnicas cromatográficas, além de dados referentes a fragmentações de moléculas em íons sucessivamente (espectrometria de massas em tandem - MS/MS ou MS², ou ainda MSⁿ).

No caso da identificação de íons por abordagem *Shotgun* essa tarefa torna-se muito mais difícil sem a dimensão cromatográfica, e no caso deste trabalho, a confiabilidade da informação sobre o dado espectral na identificação de espécies utilizando a primeira fragmentação (MS¹) devido às baixas quantidades de amostras

que foram utilizadas em outras etapas como triagem de níveis e abordagem exploratória dos perfis espectrais das amostras de cada paciente. Em casos de disponibilidade de amostra, recomenda-se fortemente análises do tipo MS/MS para cruzamento de dados com bibliotecas espectrais e identificação confiável de íons.

Mesmo nessa situação de baixa volume disponível de amostras, nas análises espectrométricas do tipo MS1 foram gerados dados espectrais e analisados pelo software *MZMine 3*, o qual fez a previsão de possíveis íons com base nos *m/z* encontrados. Os dados espectrais, bem como o grupo de classificação desses possíveis íons estão compilados no Apêndice 2 deste trabalho.

Na Tabela 22, estão indicados a quantidade de possíveis lipídios com base nos dados de *m/z* das amostras de CSF de pacientes com MtS, com uma média de 17 íons para cada paciente contemplando as faixas investigadas de 50 a 2000 *m/z*. A maior quantidade desses possíveis íons lipídicos indicados pelo *software* está na faixa de 300-800 *m/z*.

Tabela 22 – Quantidade de possíveis íons de espécies lipídicas indicados pelo software *MZMine 3* em amostras de CSF de pacientes com MtS. (continua)

	Faixas de <i>m/z</i>				Total de espécies previstas
	50-600	300-800	700-2000	1000-2000	
MtSPac01	11	30	10	0	51
MtSPac02	7	13	3	0	23
MtSPac03	5	5	1	0	11
MtSPac04	5	0	0	0	5
MtSPac05	5	8	0	0	13
MtSPac06	5	10	0	0	15
MtSPac07	5	10	1	0	16
MtSPac08	5	8	1	0	14
MtSPac09	9	18	1	0	28
MtSPac10	5	13	1	0	19
MtSPac11	4	8	1	0	13
MtSPac12	5	9	1	0	15
MtSPac13	5	7	0	0	12
MtSPac14	7	18	1	0	26
MtSPac15	4	10	1	0	15
MtSPac16	5	9	6	0	20
MtSPac17	5	11	1	0	17
MtSPac18	5	8	2	0	15
MtSPac19	4	11	7	0	22
MtSPac20	5	9	1	0	15
MtSPac21	5	7	2	0	14
MtSPac22	5	12	1	0	18

Tabela 23 – Quantidade de possíveis íons de espécies lipídicas indicados pelo software *MZMine 3* em amostras de CSF de pacientes com MtS. (continuação)

	Faixas de <i>m/z</i>				Total de espécies previstas
	50-600	300-800	700-2000	1000-2000	
MtSPac23	4	13	0	0	17
MtSPac24	5	10	1	0	16
MtSPac25	5	11	1	0	17
MtSPac26	4	11	1	0	16
MtSPac27	2	13	2	0	17
MtSPac28	0	8	0	0	8
MtSPac29	4	14	2	0	20
MtSPac30	0	10	2	0	12
MtSPac31	4	15	2	0	21
MtSPac32	6	13	2	0	21
MtSPac33	4	11	2	0	17

Fonte: Autoria própria.

Na Tabela 22, estão indicados a quantidade de possíveis lipídios com base nos dados de *m/z* das amostras de CSF de pacientes do grupo de controle (quadro clínico diverso), com uma média de 14 íons para cada paciente contemplando as faixas investigadas de 50 a 2000 *m/z*. A maior quantidade desses possíveis íons lipídicos indicados pelo *software* também está na faixa de 300-800 *m/z*.

Tabela 24 - Quantidade de possíveis íons de espécies lipídicas indicados pelo software *MZMine 3* em amostras de CSF de pacientes do grupo de controle (quadro clínico diverso) (continua)

	Faixas de <i>m/z</i>				Total de espécies previstas
	50-600	300-800	700-2000	1000-2000	
CGRP01	3	14	1	0	18
CGRP02	1	7	2	0	10
CGRP03	3	18	1	0	22
CGRP04	1	9	2	0	12
CGRP05	3	9	2	0	14
CGRP06	3	9	2	0	14
CGRP07	4	14	1	0	19
CGRP08	4	10	1	0	15
CGRP09	5	10	2	0	17
CGRP10	5	8	2	0	15
CGRP11	6	8	2	0	16
CGRP12	5	10	2	0	17
CGRP13	7	13	2	0	22
CGRP14	2	13	2	0	17
CGRP15	5	10	1	0	16
CGRP16	1	13	1	0	15

Tabela 25 - Quantidade de possíveis íons de espécies lipídicas indicados pelo software *MZMine 3* em amostras de CSF de pacientes do grupo de controle (quadro clínico diverso) (continuação)

	Faixas de <i>m/z</i>				Total de espécies previstas
	50-600	300-800	700-2000	1000-2000	
CGRP17	2	11	1	0	14
CGRP18	4	8	0	0	12
CGRP19	11	15	1	0	27
CGRP20	2	10	1	0	13
CGRP21	0	2	1	0	3
CGRP22	2	6	1	0	9
CGRP23	0	3	1	0	4
CGRP24	0	1	1	0	2

Fonte: Autoria própria.

É possível observar que tanto na Tabela 22 quanto na Tabela 23 o *software MZMine 3* não identificou qualquer possível íon de lipídio na faixa de 1000-2000 *m/z*, ou identificou poucos íons na faixa de 700-2000 *m/z*. Embora esse *software* seja gratuito e seja capaz de utilizar bibliotecas espectrais, recomenda-se que os dados inseridos nele sejam de natureza MS/MS para uma identificação confiável das espécies de interesse.

Outra sugestão é o uso de técnicas de separação acopladas à espectrometria de massas para cruzamento dos dados de tempos de retenção de substâncias ou classes de compostos com os dados espectrais para processos de identificação de espécies, cobrindo as faixas de *m/z* investigadas de forma mais ampla, como é o caso do *software MS-DIAL*.

Diante de uma proposta exploratória dessas ferramentas para futuros estudos lipidômicos, deve-se registrar que a ferramenta demonstrou potencial e pode ser aplicada em investigações acadêmico-experimentais.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

O Planejamento do tipo Plackett-Burman foi eficiente ao permitir a triagem de variáveis que tivessem efeitos estatisticamente significativos, assegurando a melhor condição de espécies químicas em amostras de CSF, tendo em vista a janela de aquisição de dados espectrométricos de 50-600 m/z , 300-800 m/z , 700-200 m/z e 1000-2000 m/z . Deve-se destacar também que o Planejamento Experimental é uma etapa de crucial para obtenção de bons resultados, além de poupar esforços humanos, instrumentais e recursos materiais.

A técnica de SPME empregando uma fase extratora C18 biocompatível demonstrou grande potencial de aplicações em rotinas laboratoriais devido à alta frequência analítica e baixo consumo de solventes, sobretudo os solventes orgânicos, e quando comparada a uma técnica clássica como a LLE foi capaz de promover a extração de espécies de maior caráter apolar e assim alcançar sinais de alta intensidade nos espectros de massas na ordem de 10^5 a 10^7 .

A estratégia de análise *Shotgun*, embora seja uma realidade em muitos laboratórios, trabalhos e propostas presentes e consolidados na literatura acadêmica tem sua potencialidade restrita diante do processamento dos dados, uma vez que poucas plataformas processam esses dados, sendo comum que as plataformas solicitem mais de uma dimensão analítica como a cromatografia para uma confiabilidade, principalmente em processos de quantificação e/ou identificação de moléculas. As plataformas que processam esses dados apresentam licenças comerciais, indo na contramão da construção de bases de dados estabelecidas por meio dos pesquisadores da área analítica (a exemplo da GNPS), além de possuírem interfaces não-intuitivas e que podem em algum momento requerer do usuário uma certa familiaridade com linguagens de programação. Tendo em vista esse tipo de situação, recomenda-se o uso de técnicas cromatográficas para facilitar o processamento dos dados, além de maior confiabilidade de informações químicas durante o uso de *softwares* ou plataformas *online* para identificação de moléculas.

Deve ser ressaltado aqui que uma abordagem dita “ômica” sobre espécies químicas, como no caso da lipidômica, é um trabalho exaustivo, seja nas buscas por condições adequadas de preparo de amostras, seja da etapa instrumental, sendo acentuado sobretudo na etapa de processamento de dados experimentais em um

cenário crescente de pesquisadores e publicações investigando as mais diversas matrizes.

Por fim, a lipidômica é um domínio de investigação experimental extraordinário intimamente ligada ao avanço de tecnologias que revelam processos bioquímicos e biossintéticos dos ambientes celulares vegetal e humano, auxiliando na compreensão de fenômenos fisiológicos que podem comprometer a qualidade de vida das pessoas, como no caso da Esclerose Múltipla, cujo diagnóstico e tratamento ainda podem avançar significativamente. Portanto, compreender os lipídios e suas rotas metabólicas pode contribuir para a promoção da Vida.

REFERÊNCIAS

- ¹VALCÁRCEL, M. A modern definition of analytical chemistry. **Trends in Analytical Chemistry (TrAC)**, Oxford, v. 16, n. 3, p. 124-131 p. 1997. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165993697000101>. Acesso em: 22 out. 2019
- ²ZÜLLIG, T.; KÖFELER, H. C. High Resolution Mass Spectrometry in lipidomics. **Mass Spectrometry Reviews**. New Jersey, v. 40, n. 3, p. 162-176, 2021. Disponível em: <https://analyticalsciencejournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/mas.21627>. Acesso em: 09 set. 2023
- ³GRIFFITHS, J. A brief history of mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 80, n. 15, p. 5678-5683. 2008. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac8013065>. Acesso em: 26 mar. 2022
- ⁴HU, Q.; NOLL, R. J.; LI, H.; MAKAROV, A.; HARDMAN, M.; GRAHAM COOKS, R. The Orbitrap: a new mass spectrometer. **Journal of Mass Spectrometry**. New Jersey, v. 40, n. 4, p. 430-443, 2005. Disponível em: <https://cdn.ncbi.nlm.nih.gov/corehtml/query/egifs/http:--media.wiley.com-assets-7388-69-wiley-full-text.png>. Acesso em: 24 jan. 2024
- ⁵GHASTE, M.; MISTRİK, R.; SHULAEV, V. Applications of fourier transform ion cyclotron resonance (FT-ICR) and orbitrap based high resolution mass spectrometry in metabolomics and lipidomics. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 17, n. 6, p. 816, 2016. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1422-0067/17/6/816>. Acesso em: 20 ago. 2019
- ⁶MANZONI, C.; KIA, D. A.; VANDROVCOVA, J.; HARDY, J.; WOOD, N. W.; LEWIS, P. A.; FERRARI, R. J. B. I. B. Genome, transcriptome and proteome: the rise of omics data and their integration in biomedical sciences. **Briefings in Bioinformatics**, London, v. 19, n. 2, p. 286-302, 2018. Disponível em: <https://academic.oup.com/bib/article/19/2/286/2562648?login=false>. Acesso em: 22 set. 2021.
- ⁷AWORUNSE, O. S.; ADENIJI, O.; OYESOLA, O. L.; ISEWON, I.; OYELADE, J.; OBEMBE, O. O. Genomic interventions in medicine. **Bioinformatics Biology Insights**, New York, v. 12, p. 12, 2018. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/pdf/10.1177/1177932218816100>. Acesso em: 24 jan. 2024.
- ⁸HAN, X. **Lipidomics: comprehensive mass spectrometry of lipids**. New Jersey: Wiley, 2016. 466 p.
- ⁹CHRISTIE, W.; HAN, X. **Lipid analysis: isolation, separation, identification and lipidomic analysis**. Buckinghamshire: Oily Press, 2010. 448 p.

- ¹⁰LÍSA, M.; CÍFKOVÁ, E.; KHALIKOVA, M.; OVČAČÍKOVÁ, M.; HOLČAPEK, M. Lipidomic analysis of biological samples: comparison of liquid chromatography, supercritical fluid chromatography and direct infusion mass spectrometry methods. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1525, p. 96-108, 2017. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0021967317315066>. Acesso em: 22 jan. 2024.
- ¹¹MORAND, K. L. High-throughput Mass Spectrometry-Flow Injection Analysis. In: KYRANOS, J. (org.). **High throughput analysis for early drug discovery**. London: Academic Press, 2004. p. 57-71.
- ¹²NANITA, S. C.; KALDON, L. G. Emerging flow injection mass spectrometry methods for high-throughput quantitative analysis. **Analytical Bioanalytical Chemistry**, Heidelberg, v. 408, n. 1, p. 23-33 p. 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26670771/>. Acesso em: 12 abr. 2021.
- ¹³BIRJANDI, A. P.; BOJKO, B.; NING, Z.; FIGEYS, D.; PAWLISZYN, J. High throughput solid phase microextraction: a new alternative for analysis of cellular lipidome? **Journal of Chromatography B**, Amsterdam, v. 1043, p. 12-19, 2017. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/27720680/>. Acesso em: 03 mar. 2019.
- ¹⁴DEAN, J. R. Solid phase microextraction - overview. In: POOLE, C. F.; COOKE, M. (org.). **Encyclopedia of separation science**. [S. l.]: Academic Press, 2000. p.4190-4199.
- ¹⁵REYES-GARCÉS, N.; GIONFRIDDO, E. Recent developments and applications of solid phase microextraction as a sample preparation approach for mass-spectrometry-based metabolomics and lipidomics. **Trends in Analytical Chemistry (TrAC)**, Oxford, v. 113, p. 172-181, 2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0165993618306319>. Acesso em: 22 set. 2021.
- ¹⁶TSHEPELEVITSH, S.; HERNITS, K.; JENČO, J.; HAWKINS, J. M.; MUTEKI, K.; SOLICH, P.; LEITO, I. Systematic optimization of liquid-liquid extraction for isolation of unidentified components. **ACS Omega**, Washington, v. 2, n. 11, p. 7772-7776, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6644944/pdf/ao7b01445.pdf>. Acesso em: 02 abr. 2019.
- ¹⁷PLACKETT, R. L.; BURMAN, J. P. The design of optimum multifactorial experiments. **Biometrika**, Oxford, v. 33, n. 4, p. 305-325, 1946. Disponível em: <https://academic.oup.com/biomet/article-abstract/33/4/305/225377>. Acesso em: 07 ago. 2020.
- ¹⁸BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos: pesquisa e desenvolvimento na ciência e na indústria**. 4. ed. Porto Alegre: Bookman Editora, 2010.
- ¹⁹WU, Z.; BAGAROLO, G. I.; THOROEE-BOVELETH, S.; JANKOWSKI, J. "Lipidomics": Mass spectrometric and chemometric analyses of lipids. **Advanced Drug Delivery**

- Reviews**, Amsterdam, v. 159, p. 294-307, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32553782/>. Acesso em: 12 ago. 2022.
- ²⁰OTTO, M. **Chemometrics: statistics and computer application in analytical chemistry**. New Jersey: Wiley, 2016.
- ²¹NUNES, C. A.; FREITAS, M. P.; PINHEIRO, A. C. M.; BASTOS, S. C. Chemoface: a novel free user-friendly interface for chemometrics. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 23, n. 11, p. 2003-2010, 2012. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/jbchs/a/XkQMMnpQZrBHMJr3XDtkwYQ/?lang=en>. Acesso em: 28 jan. 2021
- ²²CAJKA, T.; FIEHN, O. Toward merging untargeted and targeted methods in mass spectrometry-based metabolomics and lipidomics. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 88, n. 1, p. 524-545, 2016. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acs.analchem.5b04491>. Acesso em: 09 set. 2020.
- ²³COMABELLA, M.; MONTALBAN, X. Body fluid biomarkers in multiple sclerosis. **Lancet Neurology**, New York, v. 13, n. 1, p. 113-126, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/24331797/>. Acesso em: 03 mar. 2019.
- ²⁴WOOD, P. L. Mass spectrometry strategies for clinical metabolomics and lipidomics in psychiatry, neurology, and neuro-oncology. **Neuropsychopharmacology**, London, v. 39, n. 1, p. 24. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3857645/pdf/npp2013167a.pdf>. Acesso em: 12 abr. 2019.
- ²⁵FERREIRA, H. B.; NEVES, B.; GUERRA, I. M.; MOREIRA, A.; MELO, T.; PAIVA, A.; DOMINGUES, M. R. An overview of lipidomic analysis in different human matrices of multiple sclerosis. **Multiple Sclerosis and Related Disorders**, Amsterdam, v. 44, n. 1, p. 12, 2020. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32516740/>. Acesso em: 14 out. 2023.
- ²⁶RUPASINGHE, T. W. T. Lipidomics: extraction protocols for biological matrices. *In*: ROESSNER, U.; DIAS, D. A. (org.). **Metabolomics tools for natural product discovery: methods protocols**. New York: Springer, 2013. p.71-80.
- ²⁷DENG, J.; LI, W.; YANG, Q.; LIU, Y.; FANG, L.; GUO, Y.; GUO, P.; LIN, L.; YANG, Y.; LUAN, T. Biocompatible surface-coated probe for in vivo, in situ, and microscale lipidomics of small biological organisms and cells using mass spectrometry. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 90, n. 11, p. 6936-6944, 2018. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acs.analchem.8b01218>. Acesso em: 09 set. 2020.
- ²⁸LITWACK, G. **Human biochemistry**. London: Academic Press, 2018. 778 p.
- ²⁹HARKEWICZ, R.; DENNIS, E. A. Applications of mass spectrometry to lipids and membranes. **Annual Review of Biochemistry**, Palo Alto, v. 80, p. 301-325, 2011. Disponível em: <https://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev-biochem-060409-092612>. Acesso em: 19 abr. 2019.

- ³⁰FAHY, E.; COTTER, D.; SUD, M.; SUBRAMANIAM, S. Lipid classification, structures and tools. **Biochimica et Biophysica Acta: molecular cell biology of lipids**. New York, v. 1811, n. 11, p. 637-647 p. 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3995129/pdf/nihms400814.pdf>. Acesso em: 18 abr. 2019.
- ³¹LI, M.; YANG, L.; BAI, Y.; LIU, H. Analytical methods in lipidomics and their applications. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 86, n. 1, p. 161-175, 2013. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ac403554h>. Acesso em: 09 set. 2020.
- ³²GROSS, R. W. The evolution of lipidomics through space and time. **Biochimica et Biophysica Acta: molecular cell biology of lipids**. New York, v. 1862, n. 8, p. 731-739, 2017. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5501277/pdf/nihms873766.pdf>. Acesso em: 19 abr. 2019.
- ³³ALMEIDA, R.; PAULING, J. K.; SOKOL, E.; HANNIBAL-BACH, H. K.; EJSING, C. S. Comprehensive lipidome analysis by shotgun lipidomics on a hybrid quadrupole-orbitrap-linear ion trap mass spectrometer. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, Washington, DC, v. 26, n. 1, p. 133-148, 2014. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/25391725/>. Acesso em: 23 abr. 2021.
- ³⁴ENRIQUEZ-ALGECIRAS, M.; BHATTACHARYA, S. K. Lipidomic mass spectrometry and its application in neuroscience. **World Journal of Biological Chemistry**, Pleasanton, v. 4, n. 4, p. 102. 2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3856305/pdf/WJBC-4-102.pdf>. Acesso em: 14 fev. 2021.
- ³⁵ADIBHATLA, R. M.; HATCHER, J.; DEMPSEY, R. Lipids and lipidomics in brain injury and diseases. **The American Association of Pharmaceutical Scientists Journal**, New York, v. 8, n. 2, p. E314-E321, 2006. Disponível em: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3231558/pdf/12248_2008_Article_BF02854902.pdf. Acesso em: 12 maio 2019.
- ³⁶CASTELLANOS, D. B.; MARTÍN-JIMÉNEZ, C. A.; ROJAS-RODRÍGUEZ, F.; BARRETO, G.; SANTOS, J. G. Brain lipidomics as a rising field in neurodegenerative contexts: perspectives with machine learning approaches. **Frontiers in Neuroendocrinology**, San Diego, v. 61, p. 100899, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33450200/>. Acesso em: 13 fev. 2023.
- ³⁷O'BRIEN, J. S.; SAMPSON, E. L. Lipid composition of the normal human brain: gray matter, white matter, and myelin. **Journal of Lipid Research**, Amsterdam, v. 6, n. 4, p. 537-544, 1965. Disponível em: <https://www.jlr.org/content/6/4/537.full.pdf>. Acesso em: 19 abr. 2019.
- ³⁸NIER, A. O. A mass spectrometer for isotope and gas analysis. **Review of Scientific Instruments**, Melville, v. 18, n. 6, p. 398-411, 1947. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/0016703785902728/pdf?md5=f36f8b>

5247f75dc07bf870d30559402d&pid=1-s2.0-0016703785902728-main.pdf. Acesso em: 19 abr. 2019.

- ³⁹MUNSON, M. S.; FIELD, F. H. Chemical ionization mass spectrometry. I. General introduction. **Journal of the American Chemical Society**, Washington, n. 12, p. 2621-2630, 1966.
- ⁴⁰LI, L.; HAN, J.; WANG, Z.; LIU, J. A.; WEI, J.; XIONG, S.; ZHAO, Z. Mass spectrometry methodology in lipid analysis. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 15, n. 6, p. 10492-10507, 2014. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4100164/>. Acesso em: 17 abr. 2019.
- ⁴¹HORNING, E.; HORNING, M.; CARROLL, D.; DZIDIC, I.; STILLWELL, R. New picogram detection system based on a mass spectrometer with an external ionization source at atmospheric pressure. **Analytical Chemistry**. Washington, DC, v. 45, n. 6, p. 936-943, 1973. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/ac60328a035>. Acesso em: 19 abr. 2019.
- ⁴²MATSUBARA, T.; HAYASHI, A. FAB/mass spectrometry of lipids. **Progress in Lipid Research**, Oxford, v. 30, n. 4, p. 301-322, 1991. Disponível em: [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4100164/#:~:text=Fast%20atom%20bo mbardment%20\(FAB\)%20has,sphingolipids%20%5B44%2C45%5D](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4100164/#:~:text=Fast%20atom%20bo mbardment%20(FAB)%20has,sphingolipids%20%5B44%2C45%5D). Acesso em: 19 abr. 2019.
- ⁴³FUCHS, B.; SCHILLER, J.; DISEASE. MALDI-TOF MS analysis of lipids from cells, tissues and body fluids. **Lipids in Health and Disease**. London, p. 541-565, 2008. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/18751926/>. Acesso em: 14 fev. 2022.
- ⁴⁴SCHILLER, J.; SUSS, R.; FUCHS, B.; MULLER, M.; ZSCHORNIG, O.; ARNOLD, K. MALDI-TOF MS in Lipidomics. **Frontiers in Bioscience**, Singapore, v. 12, p. 2568-2579, 2007. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/17127263/>. Acesso em: 12 maio 2019.
- ⁴⁵FUCHS, B.; SÜß, R.; SCHILLER, J. An update of MALDI-TOF mass spectrometry in lipid research. **Progress in Lipid Research**, Oxford, v. 49, n. 4, p. 450-475, 2010. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/20643161/>. Acesso em: 19 abr. 2019.
- ⁴⁶DUNCAN, M. W.; NEDELKOV, D.; WALSH, R.; HATTAN, S. J. Applications of MALDI mass spectrometry in clinical chemistry. **Clinical Chemistry**, Cary, v. 62, n. 1, p. 134-143, 2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26585930/>. Acesso em: 18 abr. 2019.
- ⁴⁷COLE, R. B. **Electrospray and MALDI mass spectrometry: fundamentals, instrumentation, practicalities, and biological applications**. New Jersey: Wiley, 2011. 880 p.
- ⁴⁸ALMASOUD, N.; CORREA, E.; TRIVEDI, D. K.; GOODACRE, R. Fractional factorial design of MALDI-TOF-MS sample preparations for the optimized detection of phospholipids and acylglycerols. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 88, n.

- 12,p. 6301-6308, 2016. Disponível em:
<https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acs.analchem.6b00512>. Acesso em: 26 jul. 2022.
- ⁴⁹VAN BELKUM, A.; WELKER, M.; PINCUS, D.; CHARRIER, J.-P.; GIRARD, V. Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry in clinical microbiology: what are the current issues? **Annals of Laboratory Medicine**, Seoul, v. 37, n. 6, p. 475-483, 2017. Disponível em:
<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5587819/pdf/alm-37-475.pdf>. Acesso em: 12 abr. 2019.
- ⁵⁰FENN, J. B.; MANN, M.; MENG, C. K.; WONG, S. F.; WHITEHOUSE, C. M. Electrospray ionization for mass spectrometry of large biomolecules. **Science**, Washington, DC, v. 246, n. 4926, p. 64-71, 1989. Disponível em:
<https://science.sciencemag.org/content/sci/246/4926/64.full.pdf>. Acesso em: 24 jul. 2022.
- ⁵¹HAN, X.; GROSS, R. W. Shotgun lipidomics: electrospray ionization mass spectrometric analysis and quantitation of cellular lipidomes directly from crude extracts of biological samples. **Mass Spectrometry Reviews**, New Jersey, v. 24, n. 3, p. 367-412, 2005. Disponível em:
<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1002/mas.20023?download=true>. Acesso em: 24 jan. 2022.
- ⁵²KEBARLE, P.; VERKERK, U. H. J. R. I. M. I. I. S. A brief overview of the mechanisms involved in electrospray mass spectrometry. *In*: COLE, R. B. (org.). **Electrospray and MALDI mass spectrometry: fundamentals, instrumentation, practicalities, and biological applications**. 2. ed. New Jersey: Wiley, 2010. cap. 1, p. 1-35.
- ⁵³BANERJEE, S.; MAZUMDAR, S. Electrospray ionization mass spectrometry: a technique to access the information beyond the molecular weight of the analyte. **International Journal of Analytical Chemistry**, London, v. 40 p. 2012. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22611397/>. Acesso em: 07 maio 2022.
- ⁵⁴PAWLISZYN, J.; JINNO, K.; DEAN, J. R.; WEBER, S.; MALIK, A.; GORECKI, T.; MANI, V.; NAMIESNIK, J.; AI, J.; MARTOS, P.; ORSCHMANN, J. **Applications of solid phase microextraction**, London: Royal Society of Chemistry, 2007. 674 p.
- ⁵⁵GÓMEZ-RÍOS, G. A.; REYES-GARCÉS, N.; BOJKO, B.; PAWLISZYN, J. Biocompatible solid-phase microextraction nanoelectrospray ionization: an unexploited tool in bioanalysis. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 88, n. 2, p.1259-1265, 2015. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acs.analchem.5b03668>. Acesso em: 09 set. 2020.
- ⁵⁶ZHANG, Z.; PAWLISZYN, J. Headspace solid-phase microextraction. **Analytical Chemistry**, Washington, DC, v. 14, p. 1843-1852, 1993.
- ⁵⁷VUCKOVIC, D. Improving metabolome coverage and data quality: advancing metabolomics and lipidomics for biomarker discovery. **Chemical Communications**, Cambridge, v. 54, n. 50, p. 6728-6749, 2018. Disponível em:

<https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2018/CC/C8CC02592D>. Acesso em: 13 abr. 2019.

- ⁵⁸PATI, S.; NIE, B.; ARNOLD, R. D.; CUMMINGS, B. S. Extraction, chromatographic and mass spectrometric methods for lipid analysis. **Biomedical Chromatography**, New Jersey, v. 30, n. 5, p. 695-709, 2016. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1002/bmc.3683?download=true>. Acesso em: 17 abr. 2019.
- ⁵⁹GARWOLIŃSKA, D.; HEWELT-BELKA, W.; NAMIEŚNIK, J.; KOT-WASIK, A. Rapid characterization of the human breast milk lipidome using a Solid-Phase Microextraction and Liquid Chromatography–Mass Spectrometry-Based Approach. **Journal of Proteome Research**, Washington, DC, v 16, n. 9, p. 3200-3208, 2017. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/acs.jproteome.7b00195>. Acesso em: 22 mar. 2019.
- ⁶⁰WARREN, S., WARREN, KENNETH G. **Multiple sclerosis**. Geneva: WHO Press, 2001.
- ⁶¹IONESCU, R.; BROZA, Y.; SHALTIELI, H.; SADEH, D.; ZILBERMAN, Y.; FENG, X.; GLASS-MARMOR, L.; LEJBKOWICZ, I.; MÜLLEN, K.; MILLER, A. Detection of multiple sclerosis from exhaled breath using bilayers of polycyclic aromatic hydrocarbons and single-wall carbon nanotubes. **ACS Chemical Neuroscience**, Washington, DC, v. 2, n. 12, p. 687-693, 2011. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3369719/pdf/cn2000603.pdf>. Acesso em: 19 abr. 2019.
- ⁶²BROZA, Y. Y.; HAR-SHAI, L.; JERIES, R.; CANCELLA, J. C.; GLASS-MARMOR, L.; LEJBKOWICZ, I.; TORRECILLA, J. S.; YAO, X.; FENG, X.; NARITA, A. Exhaled breath markers for nonimaging and noninvasive measures for detection of multiple sclerosis. **ACS Chemical Neuroscience**, Washington, DC, v. 8, n. 11, p. 2402-2413, 2017. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acschemneuro.7b00181>. Acesso em: 12 maio 2023.
- ⁶³TARUN DUA, P. R. **Atlas: multiple sclerosis resources in the world 2008**. Geneva: WHO Press, 2008. 51 p.
- ⁶⁴CASSIANO, D. P.; DOS SANTOS, A. H. R.; DE CRISTO ESTEVES, D.; DE ARAÚJO, G. N.; CAVALCANTI, I. C.; DE ROSSI, M.; SENA, M. S.; DE OLIVEIRA SOUZA, R. Estudo epidemiológico sobre internações por esclerose múltipla no Brasil comparando sexo, faixa etária e região entre janeiro de 2008 a junho de 2019. **Brazilian Journal of Health Review**, Curitiba, v. 3, n. 6, p. 19850-19861, 2020. Disponível em: <https://ojs.brazilianjournals.com.br/ojs/index.php/BJHR/article/view/22370/17904>. Acesso em: 03 mar. 2022.
- ⁶⁵DOMINGUES, R. B.; FERNANDES, G. B. P.; LEITE, F. B. V. D. M.; TILBERY, C. P.; THOMAZ, R. B.; SILVA, G. S.; MANGUEIRA, C. L. P.; SOARES, C. A. S. O líquido cefalorraquidiano na esclerose múltipla: muito além das bandas. **Einstein**, São Paulo, v. 15, n. 1, p. 100-104, 2017. Disponível em:

<https://www.scielo.br/j/eins/a/tWPz8KGzVVvBfT4NkNZZytN/?lang=pt&format=pdf>.
Acesso em: 14 mar. 2019.

- ⁶⁶CARUSO, D.; MELIS, M.; FENU, G.; GIATTI, S.; ROMANO, S.; GRIMOLDI, M.; CRIPPA, D.; MARROSU, M. G.; CAVALETTI, G.; MELCANGI, R. C. Neuroactive steroid levels in plasma and cerebrospinal fluid of male multiple sclerosis patients. **Journal of Neurochemistry**. New Jersey, v. 130, n. 4, p. 591-597, 2014. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1111/jnc.12745?download=true>. Acesso em: 13 abr. 2019.
- ⁶⁷BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry Physiology**, Ottawa, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13671378/>. Acesso em: 22 mar. 2019.
- ⁶⁸CAJKA, T.; FIEHN, O. Toward merging untargeted and targeted methods in mass spectrometry-based metabolomics and lipidomics. **Analytical Chemistry**, n. 1, p. 524-545, 2016. Disponível em: <https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/acs.analchem.5b04491>. Acesso em: 25 abr. 2020.
- ⁶⁹IVERSON, S. J.; LANG, S. L.; COOPER, M. H. Comparison of the Bligh and Dyer and Folch methods for total lipid determination in a broad range of marine tissue. **Lipids**, New Jersey, v. 36, n. 11, 1283-1287 p. 2001. 0024-4201. Disponível em: <https://aocs.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdfdirect/10.1007/s11745-001-0843-0?download=true>. Acesso em: 19 abr. 2019.
- ⁷⁰GÓMEZ-RÍOS, G. A.; REYES-GARCÉS, N.; BOJKO, B.; PAWLISZYN, J. Biocompatible solid-phase microextraction nanoelectrospray ionization: an unexploited tool in bioanalysis. **Analytical Chemistry**, n. 2, p. 1259-1265, 2015.
- ⁷¹MADSEN, R.; LUNDSTEDT, T.; TRYGG, J. Chemometrics in metabolomics - a review in human disease diagnosis. **Analytica Chimica Acta**, n. 1-2, p. 23-33, 2010.
- ⁷²LOUKAS, Y. L. A Plackett–Burnam screening design directs the efficient formulation of multicomponent DRV liposomes. **Journal of Pharmaceutical Biomedical Analysis**, Amsterdam, v. 26, n. 2, p. 255-263, 2001.
- ⁷³NEVES, A. C.; MORAIS, C. L.; MENDES, T. P.; VAZ, B. G.; LIMA, K. M. Mass Spectrometry and Multivariate Analysis to classify cervical Intraepithelial Neoplasia from blood plasma: an untargeted lipidomic study. **Scientific Reports**, Berlin, v. 8, n.1, p. 1-10, 2018. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-018-22317-6>. Acesso em: 12 abr. 2019.
- ⁷⁴FAHY, E.; SUBRAMANIAM, S.; BROWN, H. A.; GLASS, C. K.; MERRILL JUNIOR, A. H.; MURPHY, R. C.; RAETZ, C. R.; RUSSELL, D. W.; SEYAMA, Y.; SHAW, W. A comprehensive classification system for lipids. **European Journal of Lipid Science Technology**, New Jersey, v. 107, n. 5, p. 337-364, 2005. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/15722563/>. Acesso em: 18 abr. 2019.

⁷⁵FERREIRA, H. B.; MELO, T.; MONTEIRO, A.; PAIVA, A.; DOMINGUES, P.; DOMINGUES, M. R. Serum phospholipidomics reveals altered lipid profile and promising biomarkers in multiple sclerosis. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, New York, v. 697, p. 108672, 2021. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33189653/>. Acesso em: 07 maio 2023.

APÊNDICE

APÊNDICE 1 – PROJEÇÕES DA ANÁLISE DOS COMPONENTES PRINCIPAIS (PCA)

Figura A1: Projeções da Análise de Componentes Principais com agrupamento elipsoide de 1,3 desvios-padrão : (1) PC1 vs. PC2; (2) PC1 vs. PC3; (3) PC1 vs. PC4; (4) PC1 vs. PC5; (5) PC1 vs. PC6; (6) PC1 vs. PC7; (7) PC1 vs. PC8; (8) PC2 vs. PC3; (9) PC2 vs. PC4; (10) PC2 vs. PC5; (11) PC2 vs. PC6; (12) PC2 vs. PC7; (13) PC2 vs. PC8; (14) PC3 vs. PC4; (15) PC3 vs. PC5; (16) PC3 vs. PC6; (17) PC3 vs. PC7; (18) PC3 vs. PC8; (19) PC4 vs. PC5; (20) PC4 vs. PC6; (21) PC4 vs. PC7; (22) PC4 vs. PC8; (23) PC5 vs. PC6; (24) PC5 vs. PC7; (25) PC5 vs. PC8; (26) PC6 vs. PC7; (27) PC6 vs. PC8; (28) PC7 vs. PC8 (continua)

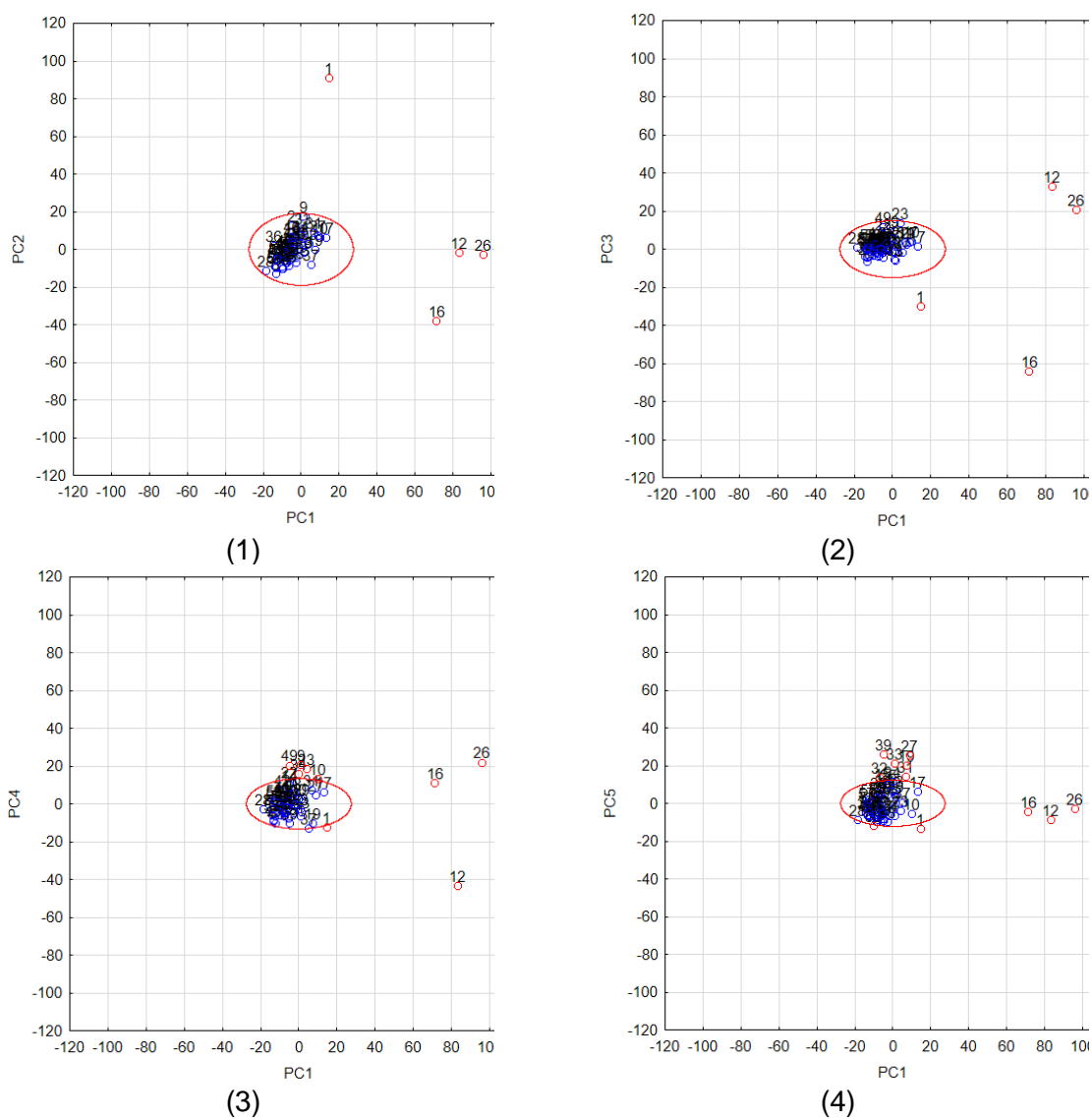
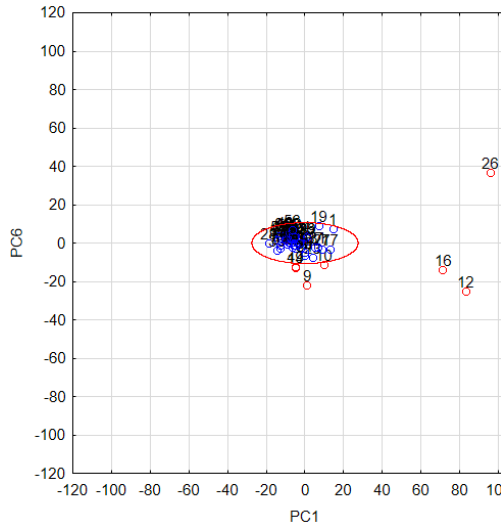
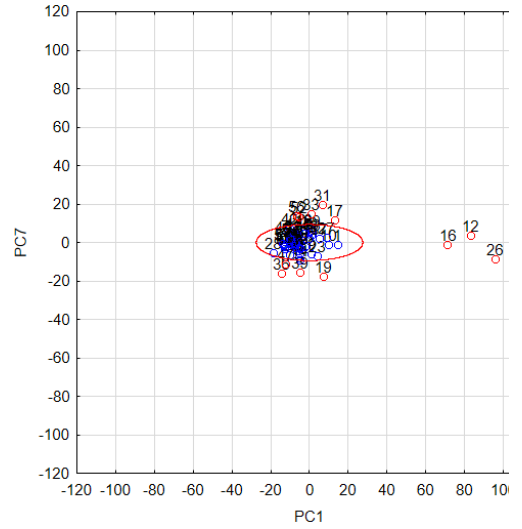


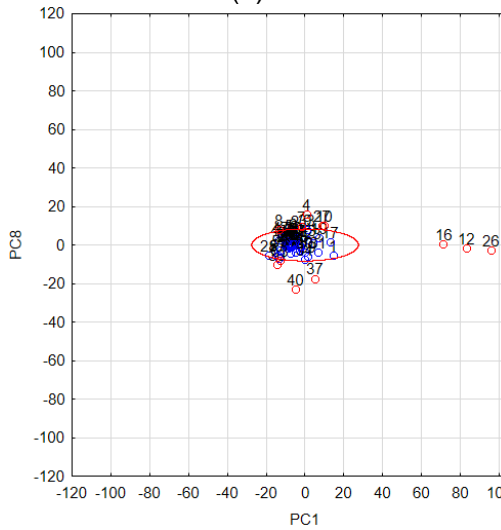
Figura A1: Projeções da Análise de Componentes Principais com agrupamento elipsoide de 1,3 desvios-padrão : (1) PC1 vs. PC2; (2) PC1 vs. PC3; (3) PC1 vs. PC4; (4) PC1 vs. PC5; (5) PC1 vs. PC6; (6) PC1 vs. PC7; (7) PC1 vs. PC8; (8) PC2 vs. PC3; (9) PC2 vs. PC4; (10) PC2 vs. PC5; (11) PC2 vs. PC6; (12) PC2 vs. PC7; (13) PC2 vs. PC8; (14) PC3 vs. PC4; (15) PC3 vs. PC5; (16) PC3 vs. PC6; (17) PC3 vs. PC7; (18) PC3 vs. PC8; (19) PC4 vs. PC5; (20) PC4 vs. PC6; (21) PC4 vs. PC7; (22) PC4 vs. PC8; (23) PC5 vs. PC6; (24) PC5 vs. PC7; (25) PC5 vs. PC8; (26) PC6 vs. PC7; (27) PC6 vs. PC8; (28) PC7 vs. PC8 (continua)



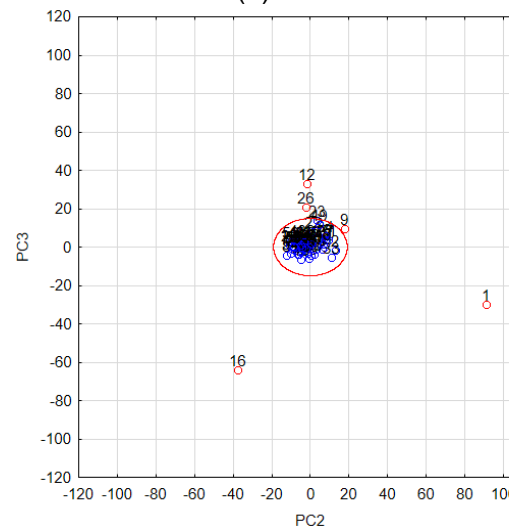
(5)



(6)

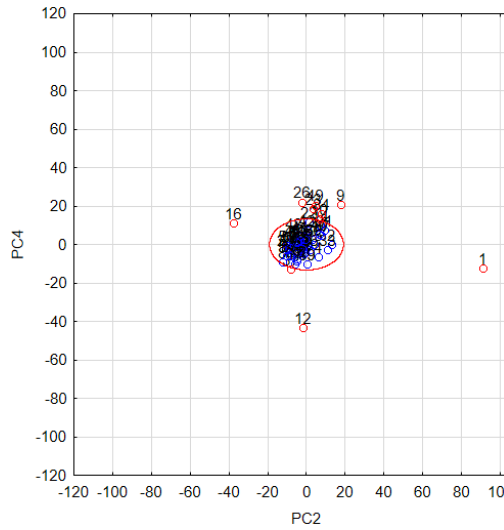


(7)

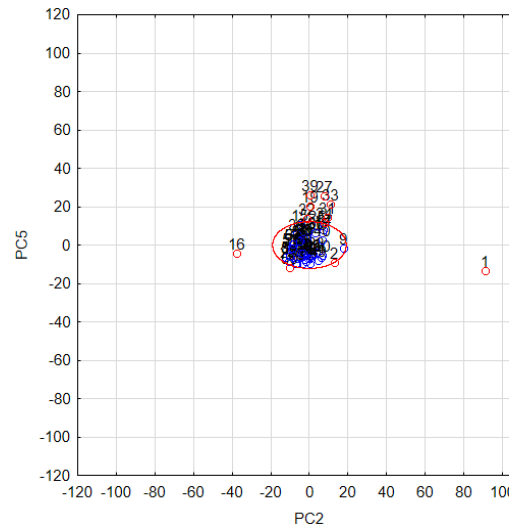


(8)

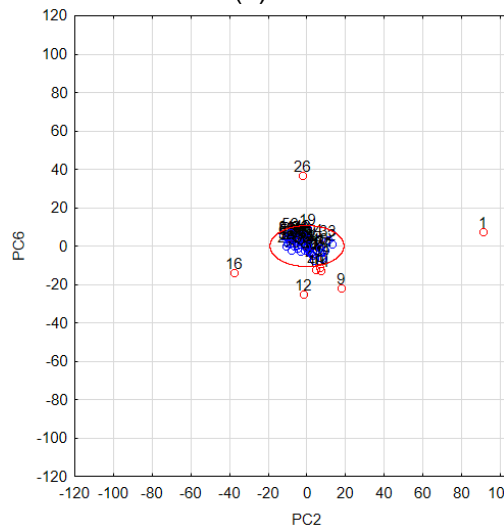
Figura A1: Projeções da Análise de Componentes Principais com agrupamento elipsoide de 1,3 desvios-padrão : (1) PC1 vs. PC2; (2) PC1 vs. PC3; (3) PC1 vs. PC4; (4) PC1 vs. PC5; (5) PC1 vs. PC6; (6) PC1 vs. PC7; (7) PC1 vs. PC8; (8) PC2 vs. PC3; (9) PC2 vs. PC4; (10) PC2 vs. PC5; (11) PC2 vs. PC6; (12) PC2 vs. PC7; (13) PC2 vs. PC8; (14) PC3 vs. PC4; (15) PC3 vs. PC5; (16) PC3 vs. PC6; (17) PC3 vs. PC7; (18) PC3 vs. PC8; (19) PC4 vs. PC5; (20) PC4 vs. PC6; (21) PC4 vs. PC7; (22) PC4 vs. PC8; (23) PC5 vs. PC6; (24) PC5 vs. PC7; (25) PC5 vs. PC8; (26) PC6 vs. PC7; (27) PC6 vs. PC8; (28) PC7 vs. PC8 (continua)



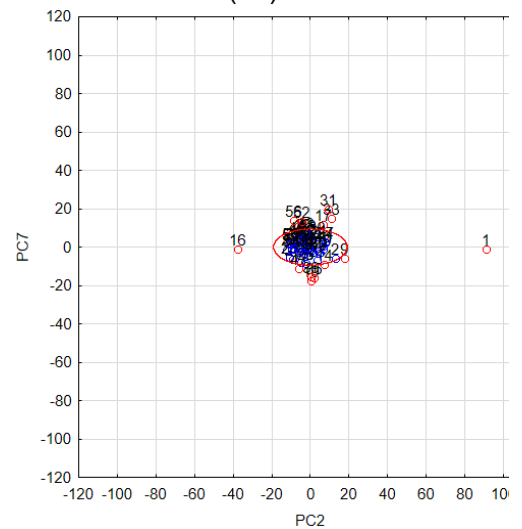
(9)



(10)

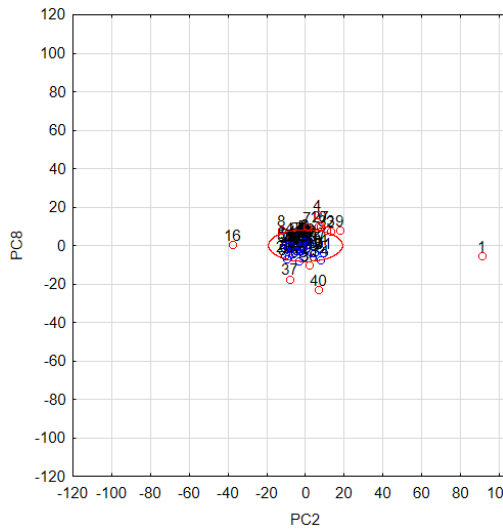


(11)

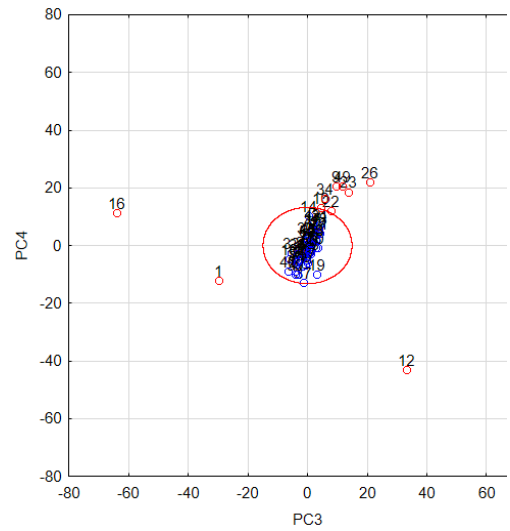


(12)

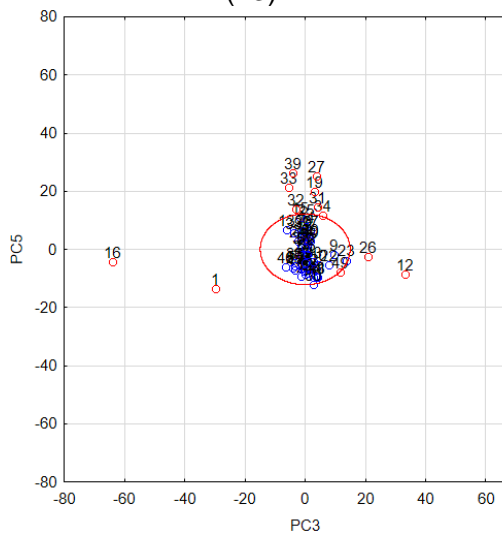
Figura A1: Projeções da Análise de Componentes Principais com agrupamento elipsoide de 1,3 desvios-padrão : (1) PC1 vs. PC2; (2) PC1 vs. PC3; (3) PC1 vs. PC4; (4) PC1 vs. PC5; (5) PC1 vs. PC6; (6) PC1 vs. PC7; (7) PC1 vs. PC8; (8) PC2 vs. PC3; (9) PC2 vs. PC4; (10) PC2 vs. PC5; (11) PC2 vs. PC6; (12) PC2 vs. PC7; (13) PC2 vs. PC8; (14) PC3 vs. PC4; (15) PC3 vs. PC5; (16) PC3 vs. PC6; (17) PC3 vs. PC7; (18) PC3 vs. PC8; (19) PC4 vs. PC5; (20) PC4 vs. PC6; (21) PC4 vs. PC7; (22) PC4 vs. PC8; (23) PC5 vs. PC6; (24) PC5 vs. PC7; (25) PC5 vs. PC8; (26) PC6 vs. PC7; (27) PC6 vs. PC8; (28) PC7 vs. PC8 (continua)



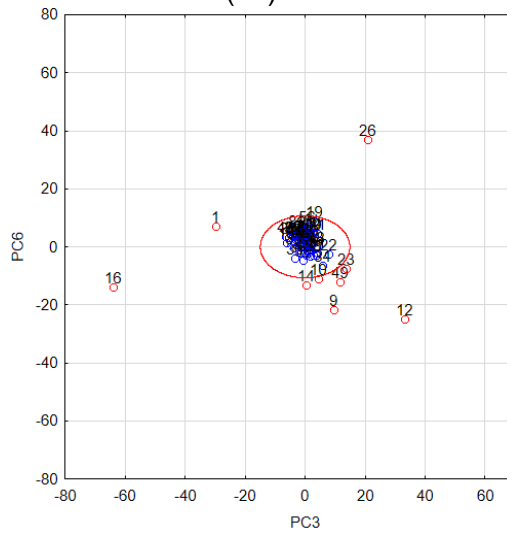
(13)



(14)

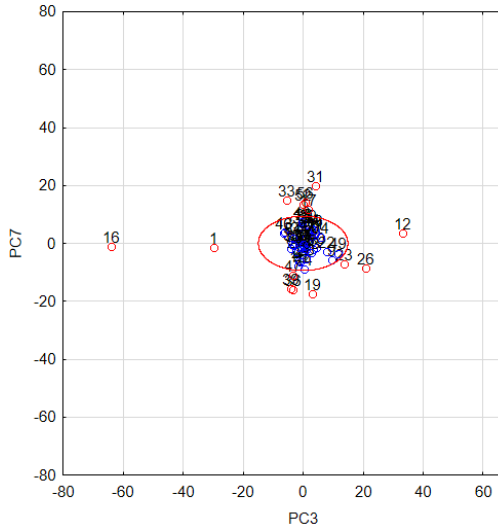


(15)

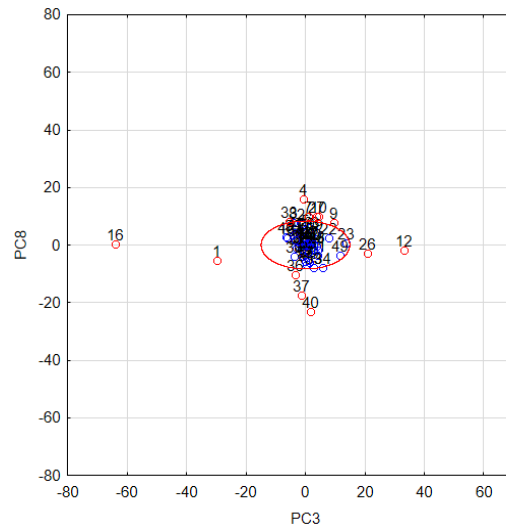


(16)

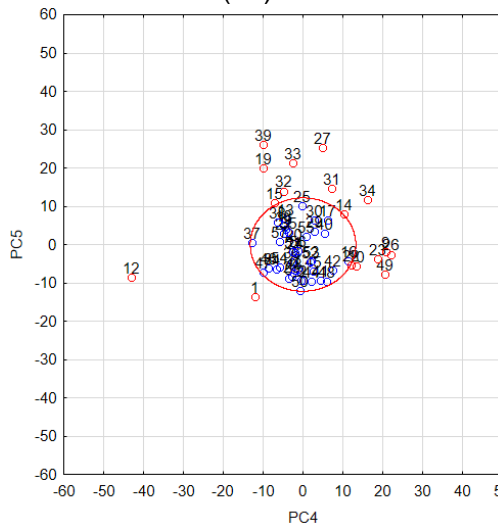
Figura A1: Projeções da Análise de Componentes Principais com agrupamento elipsoide de 1,3 desvios-padrão : (1) PC1 vs. PC2; (2) PC1 vs. PC3; (3) PC1 vs. PC4; (4) PC1 vs. PC5; (5) PC1 vs. PC6; (6) PC1 vs. PC7; (7) PC1 vs. PC8; (8) PC2 vs. PC3; (9) PC2 vs. PC4; (10) PC2 vs. PC5; (11) PC2 vs. PC6; (12) PC2 vs. PC7; (13) PC2 vs. PC8; (14) PC3 vs. PC4; (15) PC3 vs. PC5; (16) PC3 vs. PC6; (17) PC3 vs. PC7; (18) PC3 vs. PC8; (19) PC4 vs. PC5; (20) PC4 vs. PC6; (21) PC4 vs. PC7; (22) PC4 vs. PC8; (23) PC5 vs. PC6; (24) PC5 vs. PC7; (25) PC5 vs. PC8; (26) PC6 vs. PC7; (27) PC6 vs. PC8; (28) PC7 vs. PC8 (continua)



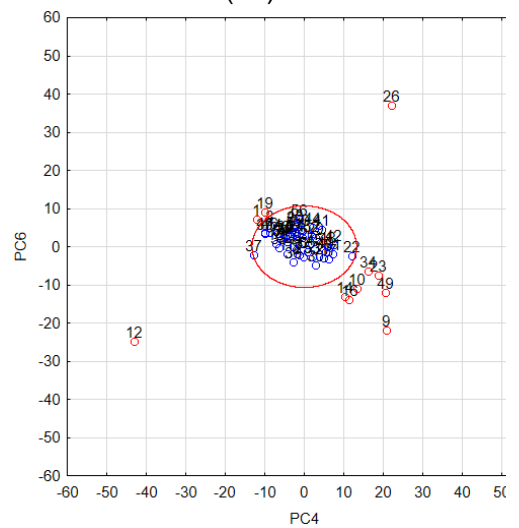
(17)



(18)

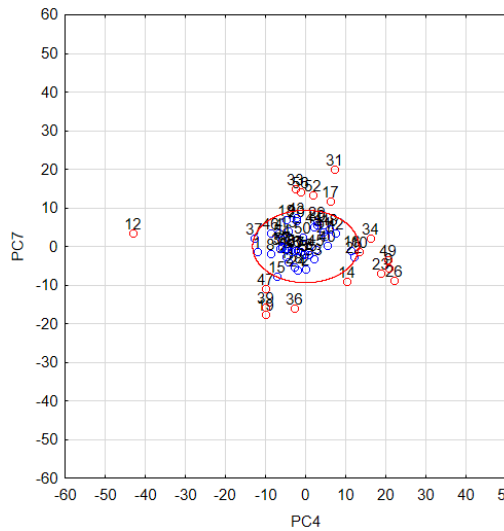


(19)

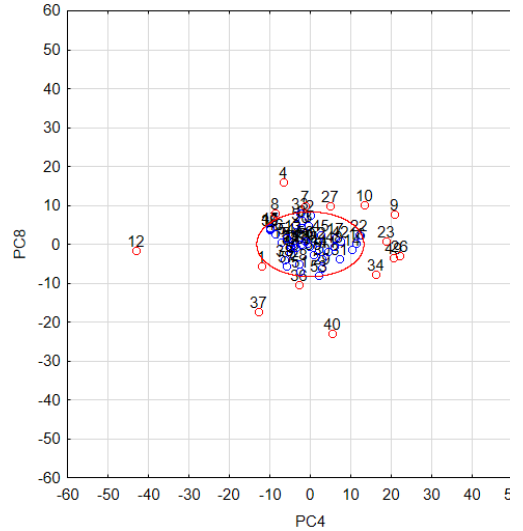


(20)

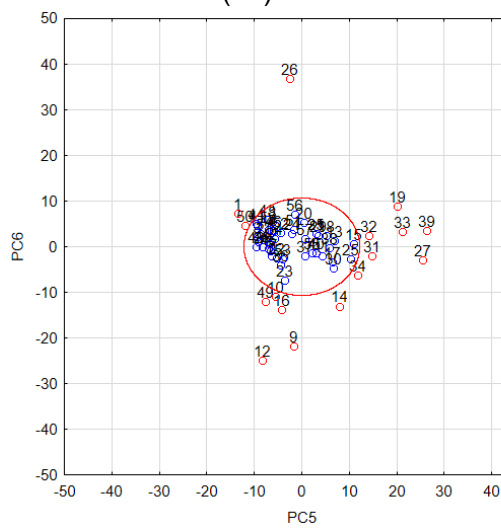
Figura A1: Projeções da Análise de Componentes Principais com agrupamento elipsoide de 1,3 desvios-padrão : (1) PC1 vs. PC2; (2) PC1 vs. PC3; (3) PC1 vs. PC4; (4) PC1 vs. PC5; (5) PC1 vs. PC6; (6) PC1 vs. PC7; (7) PC1 vs. PC8; (8) PC2 vs. PC3; (9) PC2 vs. PC4; (10) PC2 vs. PC5; (11) PC2 vs. PC6; (12) PC2 vs. PC7; (13) PC2 vs. PC8; (14) PC3 vs. PC4; (15) PC3 vs. PC5; (16) PC3 vs. PC6; (17) PC3 vs. PC7; (18) PC3 vs. PC8; (19) PC4 vs. PC5; (20) PC4 vs. PC6; (21) PC4 vs. PC7; (22) PC4 vs. PC8; (23) PC5 vs. PC6; (24) PC5 vs. PC7; (25) PC5 vs. PC8; (26) PC6 vs. PC7; (27) PC6 vs. PC8; (28) PC7 vs. PC8 (continua)



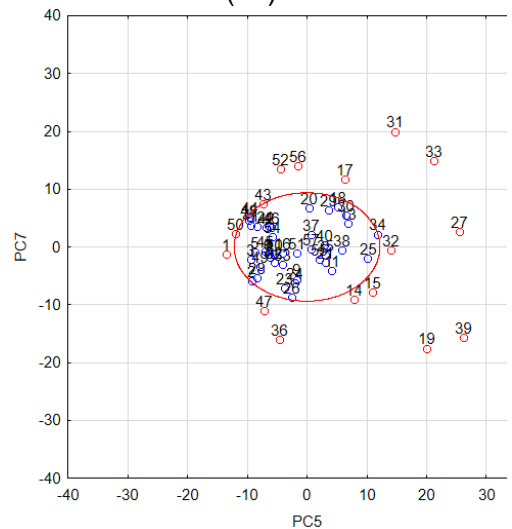
(21)



(22)

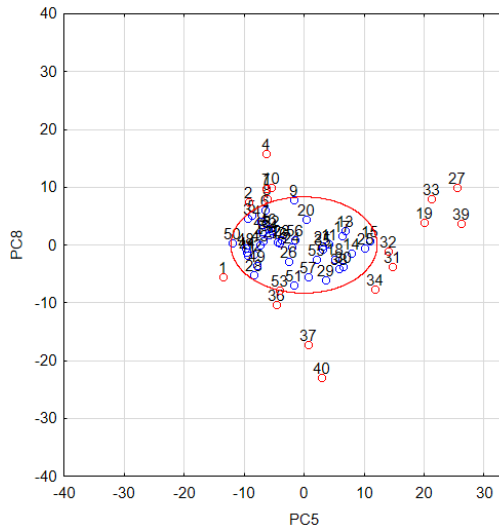


(23)

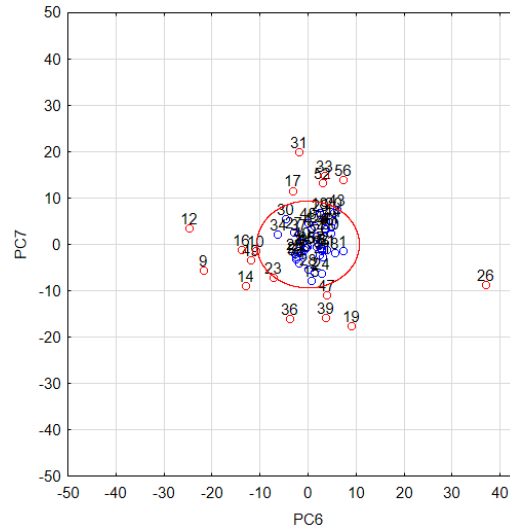


(24)

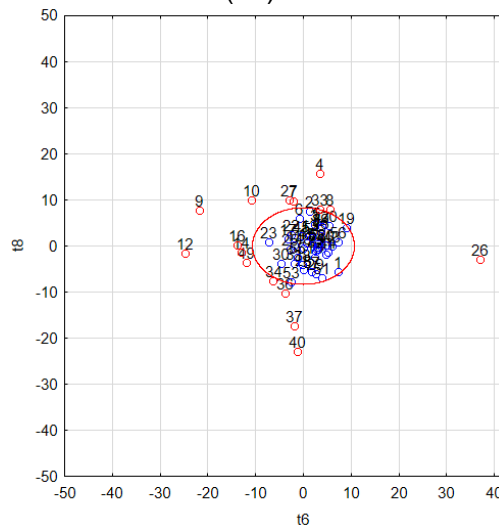
Figura A1: Projeções da Análise de Componentes Principais com agrupamento elipsoide de 1,3 desvios-padrão : (1) PC1 vs. PC2; (2) PC1 vs. PC3; (3) PC1 vs. PC4; (4) PC1 vs. PC5; (5) PC1 vs. PC6; (6) PC1 vs. PC7; (7) PC1 vs. PC8; (8) PC2 vs. PC3; (9) PC2 vs. PC4; (10) PC2 vs. PC5; (11) PC2 vs. PC6; (12) PC2 vs. PC7; (13) PC2 vs. PC8; (14) PC3 vs. PC4; (15) PC3 vs. PC5; (16) PC3 vs. PC6; (17) PC3 vs. PC7; (18) PC3 vs. PC8; (19) PC4 vs. PC5; (20) PC4 vs. PC6; (21) PC4 vs. PC7; (22) PC4 vs. PC8; (23) PC5 vs. PC6; (24) PC5 vs. PC7; (25) PC5 vs. PC8; (26) PC6 vs. PC7; (27) PC6 vs. PC8; (28) PC7 vs. PC8 (continuação)



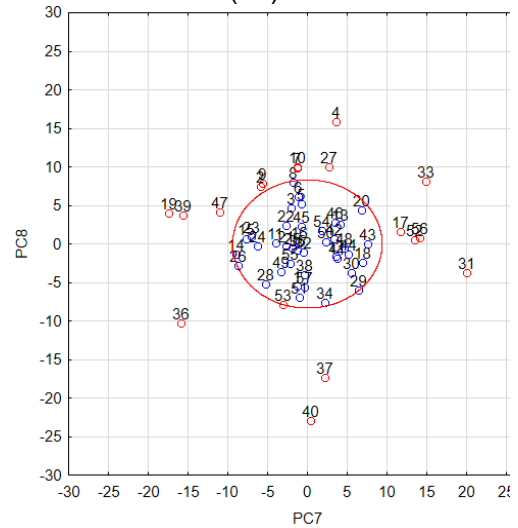
(25)



(26)



(27)



(28)

Fonte: Autoria própria.

APÊNDICE 2 – PREVISÃO DE LIPÍDIOS UTILIZANDO O *MZMINE 3* DE PACIENTES COM ESCLEROSE MÚLTIPLA E PACIENTES DO GRUPO DE CONTROLE (QUADRO CLÍNICO DIVERSO)

Tabela A1 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac01 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac01	50-600	239,0881	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
MtSPac01	50-600	451,3379	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
MtSPac01	50-600	437,3223	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac01	50-600	419,2757	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac01	50-600	423,3069	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac01	50-600	397,1974	TG O-19:6	[M+Na] ⁺	C22H30O5
MtSPac01	50-600	451,3014	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
MtSPac01	50-600	437,286	TG 20:0	[M+Na] ⁺	C23H42O6
MtSPac01	50-600	381,2237	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac01	50-600	376,2683	TG 16:0	[M+NH4] ⁺	C19H34O6
MtSPac01	50-600	400,3412	MG 20:2	[M+NH4] ⁺	C23H42O4
MtSPac01	300-800	479,3687	TG O-24:0	[M+Na] ⁺	C27H52O5
MtSPac01	300-800	451,338	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
MtSPac01	300-800	433,2908	TG O-21:2	[M+Na] ⁺	C24H42O5
MtSPac01	300-800	437,3224	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac01	300-800	419,2756	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac01	300-800	421,2906	TG O-20:1	[M+Na] ⁺	C23H42O5
MtSPac01	300-800	423,3069	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac01	300-800	397,1976	TG O-19:6	[M+Na] ⁺	C22H30O5
MtSPac01	300-800	405,2632	TG O-19:2	[M+Na] ⁺	C22H38O5
MtSPac01	300-800	367,2442	TG O-16:0	[M+Na] ⁺	C19H36O5
MtSPac01	300-800	690,5701	TG 39:4	[M+NH4] ⁺	C42H72O6
MtSPac01	300-800	689,567	TG 38:0	[M+Na] ⁺	C41H78O6
MtSPac01	300-800	661,5358	TG 36:0	[M+Na] ⁺	C39H74O6

Tabela A1 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac01
(continuação)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac01	300-800	521,3797	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
MtSPac01	300-800	477,3167	TG 23:1	[M+Na] ⁺	C26H46O6
MtSPac01	300-800	463,3014	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
MtSPac01	300-800	465,317	TG 22:0	[M+Na] ⁺	C25H46O6
MtSPac01	300-800	451,3016	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
MtSPac01	300-800	437,2861	TG 20:0	[M+Na] ⁺	C23H42O6
MtSPac01	300-800	381,2239	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac01	300-800	309,1299	TG 11:1	[M+Na] ⁺	C14H22O6
MtSPac01	300-800	658,3684	PS 25:1	[M+Na] ⁺	C31H58NO10P
MtSPac01	300-800	610,1822	PS 23:11	[M+Na] ⁺	C29H34NO10P
MtSPac01	300-800	536,1635	PS 17:6	[M+Na] ⁺	C23H32NO10P
MtSPac01	300-800	570,3164	PC 19:2	[M+Na] ⁺	C27H50NO8P
MtSPac01	300-800	400,3412	MG 20:2	[M+NH4] ⁺	C23H42O4
MtSPac01	300-800	526,29	LPC 17:3	[M+Na] ⁺	C25H46NO7P
MtSPac01	300-800	384,2029	DGTS 9:3	[M+H] ⁺	C19H29NO7
MtSPac01	300-800	704,5494	DGTS 32:4	[M+H] ⁺	C42H73NO7
MtSPac01	300-800	510,3403	DGTS 18:3	[M+H] ⁺	C28H47NO7
MtSPac01	700-2000	941,704	TG O-59:14	[M+Na] ⁺	C62H94O5
MtSPac01	700-2000	789,4451	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5
MtSPac01	700-2000	955,6832	TG 59:14	[M+Na] ⁺	C62H92O6
MtSPac01	700-2000	959,714	TG 59:12	[M+Na] ⁺	C62H96O6

Tabela A1 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac01 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac01	700-2000	984,7177	SQMG 46:5	[M+NH ₄] ⁺	C55H98O11S
MtSPac01	700-2000	956,6859	SQMG 44:5	[M+NH ₄] ⁺	C53H94O11S
MtSPac01	700-2000	998,6968	SQDG 46:5	[M+NH ₄] ⁺	C55H96O12S
MtSPac01	700-2000	1012,6758	PC 52:12	[M+Na] ⁺	C60H96NO8P
MtSPac01	700-2000	970,7385	MGDG 49:8	[M+NH ₄] ⁺	C58H96O10
MtSPac01	700-2000	942,7074	MGDG 47:8	[M+NH ₄] ⁺	C56H92O10

Fonte: Autoria própria.

Tabela A2 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac02 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac02	50-600	239,0884	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
MtSPac02	50-600	437,3235	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac02	50-600	419,2764	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac02	50-600	423,3078	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac02	50-600	381,2246	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac02	50-600	420,2133	PC O-11:3	[M+H] ⁺	C19H34NO7P
MtSPac02	50-600	398,2316	MG 21:10	[M+NH ₄] ⁺	C24H28O4
MtSPac02	300-800	451,3382	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
MtSPac02	300-800	433,2907	TG O-21:2	[M+Na] ⁺	C24H42O5
MtSPac02	300-800	437,3227	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac02	300-800	419,2756	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac02	300-800	423,3071	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac02	300-800	521,38	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
MtSPac02	300-800	477,3166	TG 23:1	[M+Na] ⁺	C26H46O6
MtSPac02	300-800	463,3014	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
MtSPac02	300-800	381,2241	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac02	300-800	628,3723	SQMG 20:1	[M+NH ₄] ⁺	C29H54O11S

Tabela A2 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac02 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac02	300-800	610,182	PS 23:11	[M+Na] ⁺	C29H34NO10P
MtSPac02	300-800	420,213	PC O-11:3	[M+H] ⁺	C19H34NO7P
MtSPac02	300-800	398,2313	MG 21:10	[M+NH ₄] ⁺	C24H28O4
MtSPac02	700-2000	789,4453	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5
MtSPac02	700-2000	984,7185	SQMG 46:5	[M+NH ₄] ⁺	C55H98O11S
MtSPac02	700-2000	998,6976	SQDG 46:5	[M+NH ₄] ⁺	C55H96O12S

Fonte: Autoria própria.

Tabela A3 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac03

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac03	50-600	239,0886	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
MtSPac03	50-600	437,324	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac03	50-600	419,2768	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac03	50-600	423,3082	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac03	50-600	381,2249	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac03	300-800	451,3387	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
MtSPac03	300-800	433,2911	TG O-21:2	[M+Na] ⁺	C24H42O5
MtSPac03	300-800	437,3233	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac03	300-800	419,2762	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac03	300-800	423,3076	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac03	700-2000	998,6979	SQDG 46:5	[M+NH ₄] ⁺	C55H96O12S

Tabela A4 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac04

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac04	50-600	239,0885	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
MtSPac04	50-600	437,3236	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac04	50-600	419,2767	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac04	50-600	423,3081	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac04	50-600	381,2248	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6

Fonte: Autoria própria.

Tabela A5 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac05

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac05	50-600	239,0887	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
MtSPac05	50-600	437,3238	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac05	50-600	419,2768	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac05	50-600	423,3082	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac05	50-600	381,2249	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac05	300-800	451,3378	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
MtSPac05	300-800	437,3231	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac05	300-800	419,2762	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac05	300-800	423,3075	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac05	300-800	521,3805	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
MtSPac05	300-800	463,3014	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
MtSPac05	300-800	451,3025	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
MtSPac05	300-800	381,2244	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6

Fonte: Autoria própria.

Tabela A6 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac06

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac06	50-600	239,0886	TG O-7:1	[M+Na]+	C10H16O5
MtSPac06	50-600	437,3238	TG O-21:0	[M+Na]+	C24H46O5
MtSPac06	50-600	419,2768	TG O-20:2	[M+Na]+	C23H40O5
MtSPac06	50-600	423,3081	TG O-20:0	[M+Na]+	C23H44O5
MtSPac06	50-600	381,2249	TG 16:0	[M+Na]+	C19H34O6
MtSPac06	300-800	451,3379	TG O-22:0	[M+Na]+	C25H48O5
MtSPac06	300-800	433,2909	TG O-21:2	[M+Na]+	C24H42O5
MtSPac06	300-800	437,3232	TG O-21:0	[M+Na]+	C24H46O5
MtSPac06	300-800	419,2761	TG O-20:2	[M+Na]+	C23H40O5
MtSPac06	300-800	423,3076	TG O-20:0	[M+Na]+	C23H44O5
MtSPac06	300-800	521,3807	TG 26:0	[M+Na]+	C29H54O6
MtSPac06	300-800	477,3169	TG 23:1	[M+Na]+	C26H46O6
MtSPac06	300-800	463,3019	TG 22:1	[M+Na]+	C25H44O6
MtSPac06	300-800	451,3027	TG 21:0	[M+Na]+	C24H44O6
MtSPac06	300-800	381,2246	TG 16:0	[M+Na]+	C19H34O6

Fonte: Autoria própria.

Tabela A7 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac07 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac07	50-600	239,0887	TG O-7:1	[M+Na]+	C10H16O5
MtSPac07	50-600	437,3238	TG O-21:0	[M+Na]+	C24H46O5
MtSPac07	50-600	419,2769	TG O-20:2	[M+Na]+	C23H40O5
MtSPac07	50-600	423,3082	TG O-20:0	[M+Na]+	C23H44O5
MtSPac07	50-600	381,2249	TG 16:0	[M+Na]+	C19H34O6
MtSPac07	300-800	433,2909	TG O-21:2	[M+Na]+	C24H42O5
MtSPac07	300-800	437,3232	TG O-21:0	[M+Na]+	C24H46O5
MtSPac07	300-800	419,2761	TG O-20:2	[M+Na]+	C23H40O5
MtSPac07	300-800	423,3076	TG O-20:0	[M+Na]+	C23H44O5
MtSPac07	300-800	521,3807	TG 26:0	[M+Na]+	C29H54O6

Tabela A7 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac07
(continuação)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	Lipid Annotation	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac07	300-800	493,3484	TG 24:0	[M+Na] ⁺	C27H50O6
MtSPac07	300-800	477,3169	TG 23:1	[M+Na] ⁺	C26H46O6
MtSPac07	300-800	463,302	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
MtSPac07	300-800	451,3025	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
MtSPac07	300-800	381,2246	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac07	700-2000	789,4456	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5

Fonte: Autoria própria.

Tabela A8 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac08

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	Lipid Annotation	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac08	50-600	239,0886	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
MtSPac08	50-600	437,3238	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac08	50-600	419,2769	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac08	50-600	423,3083	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac08	50-600	381,2249	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac08	300-800	451,338	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
MtSPac08	300-800	437,3233	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac08	300-800	419,2764	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac08	300-800	423,3077	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac08	300-800	521,3808	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
MtSPac08	300-800	463,3019	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
MtSPac08	300-800	451,3026	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
MtSPac08	300-800	381,2247	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac08	700-2000	789,4456	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5

Fonte: Autoria própria.

Tabela A9 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac09

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac09	50-600	239,0886	TG O-7:1	[M+Na]+	C10H16O5
MtSPac09	50-600	437,3237	TG O-21:0	[M+Na]+	C24H46O5
MtSPac09	50-600	419,2765	TG O-20:2	[M+Na]+	C23H40O5
MtSPac09	50-600	423,3081	TG O-20:0	[M+Na]+	C23H44O5
MtSPac09	50-600	463,3021	TG 22:1	[M+Na]+	C25H44O6
MtSPac09	50-600	381,2248	TG 16:0	[M+Na]+	C19H34O6
MtSPac09	50-600	318,2996	MG O-15:1	[M+NH4]+	C18H36O3
MtSPac09	50-600	290,2681	MG O-13:1	[M+NH4]+	C16H32O3
MtSPac09	50-600	362,3256	MG 17:0	[M+NH4]+	C20H40O4
MtSPac09	300-800	545,4153	TG O-29:2	[M+Na]+	C32H58O5
MtSPac09	300-800	433,2906	TG O-21:2	[M+Na]+	C24H42O5
MtSPac09	300-800	437,3231	TG O-21:0	[M+Na]+	C24H46O5
MtSPac09	300-800	419,2757	TG O-20:2	[M+Na]+	C23H40O5
MtSPac09	300-800	423,3075	TG O-20:0	[M+Na]+	C23H44O5
MtSPac09	300-800	405,2598	TG O-19:2	[M+Na]+	C22H38O5
MtSPac09	300-800	589,4416	TG 31:1	[M+Na]+	C34H62O6
MtSPac09	300-800	521,3806	TG 26:0	[M+Na]+	C29H54O6
MtSPac09	300-800	477,3165	TG 23:1	[M+Na]+	C26H46O6
MtSPac09	300-800	463,3016	TG 22:1	[M+Na]+	C25H44O6
MtSPac09	300-800	437,1916	TG 21:7	[M+Na]+	C24H30O6
MtSPac09	300-800	451,3026	TG 21:0	[M+Na]+	C24H44O6
MtSPac09	300-800	381,2245	TG 16:0	[M+Na]+	C19H34O6
MtSPac09	300-800	610,182	PS 23:11	[M+Na]+	C29H34NO10P
MtSPac09	300-800	536,1633	PS 17:6	[M+Na]+	C23H32NO10P
MtSPac09	300-800	346,3303	MG O-17:1	[M+NH4]+	C20H40O3
MtSPac09	300-800	318,2992	MG O-15:1	[M+NH4]+	C18H36O3
MtSPac09	300-800	362,3252	MG 17:0	[M+NH4]+	C20H40O4
MtSPac09	700-2000	789,4456	TG O-49:20	[M+Na]+	C52H62O5

Fonte: Autoria própria.

Tabela A10 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac10

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac10	50-600	239,0886	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
MtSPac10	50-600	437,3238	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac10	50-600	419,2765	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac10	50-600	423,3083	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac10	50-600	463,3022	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
MtSPac10	300-800	451,3383	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
MtSPac10	300-800	433,2913	TG O-21:2	[M+Na] ⁺	C24H42O5
MtSPac10	300-800	437,3233	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac10	300-800	419,2762	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac10	300-800	423,3077	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac10	300-800	405,2604	TG O-19:2	[M+Na] ⁺	C22H38O5
MtSPac10	300-800	521,3808	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
MtSPac10	300-800	477,3174	TG 23:1	[M+Na] ⁺	C26H46O6
MtSPac10	300-800	463,3022	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
MtSPac10	300-800	451,3027	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
MtSPac10	300-800	381,2247	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac10	300-800	610,1831	PS 23:11	[M+Na] ⁺	C29H34NO10P
MtSPac10	300-800	536,1642	PS 17:6	[M+Na] ⁺	C23H32NO10P
MtSPac10	700-2000	789,4457	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5

Fonte: Autoria própria.

Tabela A11 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac11 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac11	50-600	437,3237	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac11	50-600	419,2769	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac11	50-600	423,3081	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac11	50-600	381,225	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac11	300-800	437,3232	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5

Tabela A11 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac11 (continuação)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac11	300-800	419,2763	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac11	300-800	423,3076	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac11	300-800	664,4554	TG 38:10	[M+NH ₄] ⁺	C41H58O6
MtSPac11	300-800	521,3807	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
MtSPac11	300-800	451,3026	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
MtSPac11	300-800	381,2246	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac11	300-800	451,3381	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
MtSPac11	700-2000	789,4457	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5

Fonte: Autoria própria.

Tabela A12 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac12 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac12	50-600	239,0882	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
MtSPac12	50-600	437,3239	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac12	50-600	419,2769	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac12	50-600	423,3083	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac12	50-600	381,225	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac12	300-800	451,3377	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
MtSPac12	300-800	437,3232	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac12	300-800	419,2763	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac12	300-800	423,3076	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac12	300-800	664,4551	TG 38:10	[M+NH ₄] ⁺	C41H58O6
MtSPac12	300-800	521,3808	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
MtSPac12	300-800	451,3025	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
MtSPac12	300-800	381,2246	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac12	300-800	412,306	DG 20:3	[M+NH ₄] ⁺	C23H38O5

Tabela A12 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac12 (continuação)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac12	700-2000	789,4458	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5

Fonte: Autoria própria.

Tabela A13 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac13

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac13	50-600	239,0886	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
MtSPac13	50-600	437,3237	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac13	50-600	419,2769	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac13	50-600	423,3081	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac13	50-600	381,225	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac13	300-800	451,3384	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
MtSPac13	300-800	437,3233	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac13	300-800	419,2764	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac13	300-800	423,3077	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac13	300-800	521,3808	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
MtSPac13	300-800	451,3027	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
MtSPac13	300-800	381,2246	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6

Fonte: Autoria própria.

Tabela A14 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac14 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac14	50-600	437,3237	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac14	50-600	419,2768	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac14	50-600	423,3081	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac14	50-600	381,2249	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac14	50-600	318,2998	MG O-15:1	[M+NH4] ⁺	C18H36O3
MtSPac14	50-600	290,2685	MG O-13:1	[M+NH4] ⁺	C16H32O3
MtSPac14	50-600	362,326	MG 17:0	[M+NH4] ⁺	C20H40O4
MtSPac14	300-800	451,3413	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5

Tabela A14 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac14
(continuação)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac14	300-800	521,3834	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
MtSPac14	300-800	477,3194	TG 23:1	[M+Na] ⁺	C26H46O6
MtSPac14	300-800	463,3045	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
MtSPac14	300-800	451,3049	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
MtSPac14	300-800	381,2265	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac14	300-800	536,1667	PS 17:6	[M+Na] ⁺	C23H32NO10P
MtSPac14	300-800	468,1032	PS 12:5	[M+Na] ⁺	C18H24NO10P
MtSPac14	300-800	685,2046	PI 23:11	[M+Na] ⁺	C32H39O13P
MtSPac14	300-800	611,1856	PI 17:6	[M+Na] ⁺	C26H37O13P
MtSPac14	300-800	318,301	MG O-15:1	[M+NH ₄] ⁺	C18H36O3
MtSPac14	300-800	362,3273	MG 17:0	[M+NH ₄] ⁺	C20H40O4
MtSPac14	700-2000	789,4472	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5
MtSPac14	300-800	433,2934	TG O-21:2	[M+Na] ⁺	C24H42O5
MtSPac14	300-800	437,3255	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac14	300-800	419,2783	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac14	300-800	423,3099	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac14	300-800	405,2621	TG O-19:2	[M+Na] ⁺	C22H38O5
MtSPac14	300-800	664,4586	TG 38:10	[M+NH ₄] ⁺	C41H58O6

Fonte: Autoria própria.

Tabela A15 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac15

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac15	50-600	437,3247	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac15	50-600	419,2776	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac15	50-600	423,309	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac15	50-600	381,2255	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac15	300-800	451,339	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
MtSPac15	300-800	437,324	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac15	300-800	419,2771	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac15	300-800	423,3084	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac15	300-800	686,4387	TG 40:13	[M+NH4] ⁺	C43H56O6
MtSPac15	300-800	664,4568	TG 38:10	[M+NH4] ⁺	C41H58O6
MtSPac15	300-800	521,3817	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
MtSPac15	300-800	463,3027	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
MtSPac15	300-800	451,3034	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
MtSPac15	300-800	381,2253	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac15	700-2000	789,447	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5

Fonte: Autoria própria.

Tabela A16 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac16 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac16	50-600	239,0892	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
MtSPac16	50-600	437,3248	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac16	50-600	419,2778	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac16	50-600	423,3092	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac16	50-600	381,2257	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac16	300-800	451,3397	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
MtSPac16	300-800	437,3246	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac16	300-800	419,2776	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac16	300-800	423,309	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5

Tabela A16 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-2000 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac16 (continuação)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac16	300-800	521,3823	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
MtSPac16	300-800	451,304	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
MtSPac16	300-800	381,2257	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac16	300-800	780,6902	MG 48:8	[M+NH ₄] ⁺	C51H86O4
MtSPac16	300-800	772,6833	DG 46:5	[M+NH ₄] ⁺	C49H86O5
MtSPac16	700-2000	883,7118	TG O-54:8	[M+Na] ⁺	C57H96O5
MtSPac16	700-2000	789,4482	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5
MtSPac16	700-2000	920,7213	MGDG 45:5	[M+NH ₄] ⁺	C54H94O10
MtSPac16	700-2000	846,7025	MGDG 39:0	[M+NH ₄] ⁺	C48H92O10
MtSPac16	700-2000	884,7115	DG 55:12	[M+NH ₄] ⁺	C58H90O5
MtSPac16	700-2000	772,6834	DG 46:5	[M+NH ₄] ⁺	C49H86O5

Fonte: Autoria própria.

Tabela A17 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-2000 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac17 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac17	50-600	239,0894	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
MtSPac17	50-600	437,3253	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac17	50-600	419,2783	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac17	50-600	423,3097	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac17	50-600	381,2262	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac17	300-800	451,3399	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
MtSPac17	300-800	433,2922	TG O-21:2	[M+Na] ⁺	C24H42O5
MtSPac17	300-800	437,3247	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac17	300-800	419,2774	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac17	300-800	423,3091	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5

Tabela A17 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac17 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac17	300-800	521,3824	TG 26:0	[M+Na]+	C29H54O6
MtSPac17	300-800	477,3184	TG 23:1	[M+Na]+	C26H46O6
MtSPac17	300-800	463,3032	TG 22:1	[M+Na]+	C25H44O6
MtSPac17	300-800	451,3042	TG 21:0	[M+Na]+	C24H44O6
MtSPac17	300-800	381,2258	TG 16:0	[M+Na]+	C19H34O6
MtSPac17	300-800	468,1008	PS 12:5	[M+Na]+	C18H24NO10P
MtSPac17	700-2000	789,4477	TG O-49:20	[M+Na]+	C52H62O5

Fonte: Autoria própria.

Tabela A18 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac18

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac18	50-600	239,0894	TG O-7:1	[M+Na]+	C10H16O5
MtSPac18	50-600	437,3249	TG O-21:0	[M+Na]+	C24H46O5
MtSPac18	50-600	419,2781	TG O-20:2	[M+Na]+	C23H40O5
MtSPac18	50-600	423,3093	TG O-20:0	[M+Na]+	C23H44O5
MtSPac18	50-600	381,2261	TG 16:0	[M+Na]+	C19H34O6
MtSPac18	300-800	451,3401	TG O-22:0	[M+Na]+	C25H48O5
MtSPac18	300-800	437,3247	TG O-21:0	[M+Na]+	C24H46O5
MtSPac18	300-800	419,2777	TG O-20:2	[M+Na]+	C23H40O5
MtSPac18	300-800	423,3091	TG O-20:0	[M+Na]+	C23H44O5
MtSPac18	300-800	521,3824	TG 26:0	[M+Na]+	C29H54O6
MtSPac18	300-800	463,3032	TG 22:1	[M+Na]+	C25H44O6
MtSPac18	300-800	451,3042	TG 21:0	[M+Na]+	C24H44O6
MtSPac18	300-800	381,2259	TG 16:0	[M+Na]+	C19H34O6
MtSPac18	700-2000	789,448	TG O-49:20	[M+Na]+	C52H62O5
MtSPac18	700-2000	708,4544	PC 29:3	[M+Na]+	C37H68NO8P

Fonte: Autoria própria

Tabela A19 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac19

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac19	50-600	437,3254	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac19	50-600	419,2784	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac19	50-600	423,3098	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac19	50-600	381,2264	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac19	300-800	451,3405	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
MtSPac19	300-800	437,325	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac19	300-800	419,2781	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac19	300-800	423,3094	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac19	300-800	686,4398	TG 40:13	[M+NH4] ⁺	C43H56O6
MtSPac19	300-800	664,4583	TG 38:10	[M+NH4] ⁺	C41H58O6
MtSPac19	300-800	521,3828	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
MtSPac19	300-800	463,3037	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
MtSPac19	300-800	451,3043	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
MtSPac19	300-800	381,2261	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac19	300-800	778,574	MG 49:16	[M+NH4] ⁺	C52H72O4
MtSPac19	700-2000	789,4479	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5
MtSPac19	700-2000	866,6287	TG 53:14	[M+NH4] ⁺	C56H80O6
MtSPac19	700-2000	1041,7308	PI 47:1	[M+Na] ⁺	C56H107O13P
MtSPac19	700-2000	734,5496	MG O-47:17	[M+NH4] ⁺	C50H68O3
MtSPac19	700-2000	778,5759	MG 49:16	[M+NH4] ⁺	C52H72O4
MtSPac19	700-2000	910,6552	DGTS 48:13	[M+H] ⁺	C58H87NO7
MtSPac19	700-2000	822,6023	DG 51:15	[M+NH4] ⁺	C54H76O5

Fonte: Autoria própria.

Tabela A20 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac20 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac20	50-600	239,0895	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
MtSPac20	50-600	437,3251	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac20	50-600	419,2782	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac20	50-600	423,3095	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac20	50-600	381,2262	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac20	300-800	451,3403	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
MtSPac20	300-800	433,2922	TG O-21:2	[M+Na] ⁺	C24H42O5
MtSPac20	300-800	437,3248	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac20	300-800	419,2776	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac20	300-800	423,3091	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac20	300-800	521,3825	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
MtSPac20	300-800	463,3033	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
MtSPac20	300-800	451,3042	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
MtSPac20	300-800	381,2259	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac20	700-2000	789,4485	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5

Fonte: Autoria própria.

Tabela A21 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac21 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac21	50-600	239,0895	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
MtSPac21	50-600	437,3253	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac21	50-600	419,2783	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac21	50-600	423,3096	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac21	50-600	381,2262	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac21	300-800	451,3405	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5

Tabela A21 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac21 (continuação)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac21	300-800	437,3249	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac21	300-800	419,2779	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac21	300-800	423,3093	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac21	300-800	521,3826	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
MtSPac21	300-800	451,3044	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
MtSPac21	300-800	381,226	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac21	700-2000	789,4484	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5
MtSPac21	700-2000	708,4542	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P

Fonte: Autoria própria.

Tabela A22 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac22 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac22	50-600	239,0898	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
MtSPac22	50-600	437,3255	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac22	50-600	419,2783	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac22	50-600	423,3098	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac22	50-600	381,2263	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac22	300-800	451,3409	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
MtSPac22	300-800	433,2928	TG O-21:2	[M+Na] ⁺	C24H42O5
MtSPac22	300-800	437,3253	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac22	300-800	419,2779	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac22	300-800	423,3096	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5

Tabela A22 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac22 (continuação)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac22	300-800	521,3831	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
MtSPac22	300-800	477,319	TG 23:1	[M+Na] ⁺	C26H46O6
MtSPac22	300-800	463,3039	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
MtSPac22	300-800	451,3048	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
MtSPac22	300-800	381,2263	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac22	300-800	536,166	PS 17:6	[M+Na] ⁺	C23H32NO10P
MtSPac22	300-800	468,1015	PS 12:5	[M+Na] ⁺	C18H24NO10P
MtSPac22	700-2000	789,449	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5

Fonte: Autoria própria.

Tabela A23 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac23 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac23	50-600	437,3255	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac23	50-600	419,2785	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac23	50-600	423,3099	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac23	50-600	381,2265	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac23	300-800	451,3407	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
MtSPac23	300-800	433,2928	TG O-21:2	[M+Na] ⁺	C24H42O5
MtSPac23	300-800	437,325	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac23	300-800	419,2778	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac23	300-800	423,3094	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac23	300-800	664,4579	TG 38:10	[M+NH4] ⁺	C41H58O6
MtSPac23	300-800	521,3828	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
MtSPac23	300-800	477,3189	TG 23:1	[M+Na] ⁺	C26H46O6

Tabela A23 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac23
(continuação)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	Lipid Annotation	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac23	300-800	463,3039	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
MtSPac23	300-800	451,3044	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
MtSPac23	300-800	381,2261	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac23	300-800	536,1658	PS 17:6	[M+Na] ⁺	C23H32NO10P
MtSPac23	300-800	468,1012	PS 12:5	[M+Na] ⁺	C18H24NO10P

Fonte: Autoria própria.

Tabela A24 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac24

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	Lipid Annotation	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac24	50-600	239,0898	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
MtSPac24	50-600	437,3256	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac24	50-600	419,2786	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac24	50-600	423,3099	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac24	50-600	381,2265	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac24	300-800	451,3408	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
MtSPac24	300-800	437,3252	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac24	300-800	419,2782	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac24	300-800	423,3095	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac24	300-800	686,4414	TG 40:13	[M+NH4] ⁺	C43H56O6
MtSPac24	300-800	664,4595	TG 38:10	[M+NH4] ⁺	C41H58O6
MtSPac24	300-800	521,3829	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
MtSPac24	300-800	451,3045	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
MtSPac24	300-800	381,2263	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac24	300-800	361,1635	TG 15:3	[M+Na] ⁺	C18H26O6
MtSPac24	700-2000	789,4484	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5

Fonte: Autoria própria.

Tabela A24 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac24

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac24	50-600	239,0898	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
MtSPac24	50-600	437,3256	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac24	50-600	419,2786	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac24	50-600	423,3099	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac24	50-600	381,2265	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac24	300-800	451,3408	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
MtSPac24	300-800	437,3252	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac24	300-800	419,2782	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac24	300-800	423,3095	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac24	300-800	686,4414	TG 40:13	[M+NH4] ⁺	C43H56O6
MtSPac24	300-800	664,4595	TG 38:10	[M+NH4] ⁺	C41H58O6
MtSPac24	300-800	521,3829	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
MtSPac24	300-800	451,3045	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
MtSPac24	300-800	381,2263	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac24	300-800	361,1635	TG 15:3	[M+Na] ⁺	C18H26O6
MtSPac24	700-2000	789,4484	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5

Fonte: Autoria própria.

Tabela A25 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac25 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac25	50-600	239,0897	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
MtSPac25	50-600	437,3253	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac25	50-600	419,2784	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac25	50-600	423,3097	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac25	50-600	381,2264	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac25	300-800	451,3406	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
MtSPac25	300-800	433,2924	TG O-21:2	[M+Na] ⁺	C24H42O5
MtSPac25	300-800	437,3249	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5

Tabela A25 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac25 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac25	300-800	419,2776	TG O-20:2	[M+Na]+	C23H40O5
MtSPac25	300-800	423,3093	TG O-20:0	[M+Na]+	C23H44O5
MtSPac25	300-800	521,3828	TG 26:0	[M+Na]+	C29H54O6
MtSPac25	300-800	477,3186	TG 23:1	[M+Na]+	C26H46O6
MtSPac25	300-800	463,3035	TG 22:1	[M+Na]+	C25H44O6
MtSPac25	300-800	451,3044	TG 21:0	[M+Na]+	C24H44O6
MtSPac25	300-800	381,2261	TG 16:0	[M+Na]+	C19H34O6
MtSPac25	300-800	468,1007	PS 12:5	[M+Na]+	C18H24NO10P
MtSPac25	700-2000	789,4486	TG O-49:20	[M+Na]+	C52H62O5

Fonte: Autoria própria.

Tabela A26 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac26 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac26	50-600	437,3256	TG O-21:0	[M+Na]+	C24H46O5
MtSPac26	50-600	419,2786	TG O-20:2	[M+Na]+	C23H40O5
MtSPac26	50-600	423,3099	TG O-20:0	[M+Na]+	C23H44O5
MtSPac26	50-600	381,2265	TG 16:0	[M+Na]+	C19H34O6
MtSPac26	300-800	451,3410	TG O-22:0	[M+Na]+	C25H48O5
MtSPac26	300-800	433,2929	TG O-21:2	[M+Na]+	C24H42O5
MtSPac26	300-800	437,3253	TG O-21:0	[M+Na]+	C24H46O5
MtSPac26	300-800	419,2779	TG O-20:2	[M+Na]+	C23H40O5
MtSPac26	300-800	423,3097	TG O-20:0	[M+Na]+	C23H44O5
MtSPac26	300-800	521,3831	TG 26:0	[M+Na]+	C29H54O6
MtSPac26	300-800	477,3191	TG 23:1	[M+Na]+	C26H46O6
MtSPac26	300-800	463,3040	TG 22:1	[M+Na]+	C25H44O6

Tabela A26 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac26 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac26	300-800	451,3047	TG 21:0	[M+Na]+	C24H44O6
MtSPac26	300-800	381,2263	TG 16:0	[M+Na]+	C19H34O6
MtSPac26	300-800	430,0881	PS 9:3	[M+Na]+	C15H22NO10P
MtSPac26	700-2000	789,4487	TG O-49:20	[M+Na]+	C52H62O5

Fonte: Autoria própria.

Tabela A27 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac27

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac27	50-600	239,0898	TG O-7:1	[M+Na]+	C10H16O5
MtSPac27	50-600	437,3259	TG O-21:0	[M+Na]+	C24H46O5
MtSPac27	300-800	451,3410	TG O-22:0	[M+Na]+	C25H48O5
MtSPac27	300-800	433,2932	TG O-21:2	[M+Na]+	C24H42O5
MtSPac27	300-800	437,3253	TG O-21:0	[M+Na]+	C24H46O5
MtSPac27	300-800	419,2781	TG O-20:2	[M+Na]+	C23H40O5
MtSPac27	300-800	423,3096	TG O-20:0	[M+Na]+	C23H44O5
MtSPac27	300-800	686,4406	TG 40:13	[M+NH4]+	C43H56O6
MtSPac27	300-800	664,4587	TG 38:10	[M+NH4]+	C41H58O6
MtSPac27	300-800	521,3831	TG 26:0	[M+Na]+	C29H54O6
MtSPac27	300-800	477,3194	TG 23:1	[M+Na]+	C26H46O6
MtSPac27	300-800	463,3042	TG 22:1	[M+Na]+	C25H44O6
MtSPac27	300-800	451,3046	TG 21:0	[M+Na]+	C24H44O6
MtSPac27	300-800	381,2264	TG 16:0	[M+Na]+	C19H34O6
MtSPac27	300-800	468,1018	PS 12:5	[M+Na]+	C18H24NO10P
MtSPac27	700-2000	789,4491	TG O-49:20	[M+Na]+	C52H62O5
MtSPac27	700-2000	708,4540	PC 29:3	[M+Na]+	C37H68NO8P

Fonte: Autoria própria

Tabela A28 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac28

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac28	300-800	451,3412	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
MtSPac28	300-800	437,3254	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac28	300-800	419,2786	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac28	300-800	423,3099	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac28	300-800	521,3833	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
MtSPac28	300-800	463,3048	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
MtSPac28	300-800	451,3047	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
MtSPac28	300-800	381,2265	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6

Fonte: Autoria própria.

Tabela A29 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac29 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac29	50-600	239,0899	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
MtSPac29	50-600	318,3016	MG O-15:1	[M+NH4] ⁺	C18H36O3
MtSPac29	50-600	290,2701	MG O-13:1	[M+NH4] ⁺	C16H32O3
MtSPac29	50-600	362,3280	MG 17:0	[M+NH4] ⁺	C20H40O4
MtSPac29	300-800	451,3413	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
MtSPac29	300-800	437,3256	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac29	300-800	419,2786	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac29	300-800	423,3100	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac29	300-800	521,3835	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
MtSPac29	300-800	463,3044	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
MtSPac29	300-800	437,1948	TG 21:7	[M+Na] ⁺	C24H30O6
MtSPac29	300-800	451,3050	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
MtSPac29	300-800	381,2267	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac29	300-800	708,4539	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P

Tabela A29 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac29 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac29	300-800	346,3326	MG O-17:1	[M+NH ₄] ⁺	C ₂₀ H ₄₀ O ₃
MtSPac29	300-800	318,3015	MG O-15:1	[M+NH ₄] ⁺	C ₁₈ H ₃₆ O ₃
MtSPac29	300-800	362,3278	MG 17:0	[M+NH ₄] ⁺	C ₂₀ H ₄₀ O ₄
MtSPac29	300-800	334,2961	MG 15:0	[M+NH ₄] ⁺	C ₁₈ H ₃₆ O ₄
MtSPac29	700-2000	789,4498	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C ₅₂ H ₆₂ O ₅
MtSPac29	700-2000	708,4548	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C ₃₇ H ₆₈ NO ₈ P

Fonte: Autoria própria.

Tabela A30 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac30

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac30	300-800	451,3413	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C ₂₅ H ₄₈ O ₅
MtSPac30	300-800	433,2933	TG O-21:2	[M+Na] ⁺	C ₂₄ H ₄₂ O ₅
MtSPac30	300-800	437,3256	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C ₂₄ H ₄₆ O ₅
MtSPac30	300-800	419,2784	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C ₂₃ H ₄₀ O ₅
MtSPac30	300-800	423,3099	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C ₂₃ H ₄₄ O ₅
MtSPac30	300-800	521,3835	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C ₂₉ H ₅₄ O ₆
MtSPac30	300-800	477,3196	TG 23:1	[M+Na] ⁺	C ₂₆ H ₄₆ O ₆
MtSPac30	300-800	463,3044	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C ₂₅ H ₄₄ O ₆
MtSPac30	300-800	451,3050	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C ₂₄ H ₄₄ O ₆
MtSPac30	300-800	381,2266	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C ₁₉ H ₃₄ O ₆
MtSPac30	700-2000	789,4496	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C ₅₂ H ₆₂ O ₅
MtSPac30	700-2000	708,4548	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C ₃₇ H ₆₈ NO ₈ P

Fonte: Autoria própria.

Tabela A31 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac31

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac31	50-600	463,3048	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
MtSPac31	50-600	318,3015	MG O-15:1	[M+NH4] ⁺	C18H36O3
MtSPac31	50-600	290,2698	MG O-13:1	[M+NH4] ⁺	C16H32O3
MtSPac31	50-600	362,3278	MG 17:0	[M+NH4] ⁺	C20H40O4
MtSPac31	300-800	451,3412	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
MtSPac31	300-800	433,2932	TG O-21:2	[M+Na] ⁺	C24H42O5
MtSPac31	300-800	437,3255	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac31	300-800	419,2782	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac31	300-800	423,3099	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac31	300-800	521,3834	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
MtSPac31	300-800	477,3194	TG 23:1	[M+Na] ⁺	C26H46O6
MtSPac31	300-800	463,3043	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
MtSPac31	300-800	437,1943	TG 21:7	[M+Na] ⁺	C24H30O6
MtSPac31	300-800	451,3049	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
MtSPac31	300-800	381,2265	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac31	300-800	468,1019	PS 12:5	[M+Na] ⁺	C18H24NO10P
MtSPac31	300-800	346,3323	MG O-17:1	[M+NH4] ⁺	C20H40O3
MtSPac31	300-800	318,3011	MG O-15:1	[M+NH4] ⁺	C18H36O3
MtSPac31	300-800	362,3275	MG 17:0	[M+NH4] ⁺	C20H40O4
MtSPac31	700-2000	789,4493	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5
MtSPac31	700-2000	708,4547	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P

Fonte: Autoria própria.

Tabela A32 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac32

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac32	50-600	239,0899	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
MtSPac32	50-600	437,3258	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac32	50-600	419,2788	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac32	50-600	423,3102	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac32	50-600	318,3014	MG O-15:1	[M+NH4] ⁺	C18H36O3
MtSPac32	50-600	362,3278	MG 17:0	[M+NH4] ⁺	C20H40O4
MtSPac32	300-800	451,3410	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
MtSPac32	300-800	437,3253	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac32	300-800	419,2784	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac32	300-800	423,3097	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac32	300-800	686,4407	TG 40:13	[M+NH4] ⁺	C43H56O6
MtSPac32	300-800	664,4589	TG 38:10	[M+NH4] ⁺	C41H58O6
MtSPac32	300-800	521,3832	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
MtSPac32	300-800	463,3039	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
MtSPac32	300-800	437,1943	TG 21:7	[M+Na] ⁺	C24H30O6
MtSPac32	300-800	451,3047	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
MtSPac32	300-800	381,2264	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac32	300-800	318,3011	MG O-15:1	[M+NH4] ⁺	C18H36O3
MtSPac32	300-800	362,3274	MG 17:0	[M+NH4] ⁺	C20H40O4
MtSPac32	700-2000	789,4492	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5
MtSPac32	700-2000	708,4545	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P

Fonte: Autoria própria.

Tabela A33 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente MtSPac33

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
MtSPac33	50-600	239,0898	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
MtSPac33	50-600	437,3259	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac33	50-600	419,2788	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac33	50-600	463,3047	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
MtSPac33	300-800	451,3409	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
MtSPac33	300-800	433,2927	TG O-21:2	[M+Na] ⁺	C24H42O5
MtSPac33	300-800	437,3253	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
MtSPac33	300-800	419,2780	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
MtSPac33	300-800	423,3097	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
MtSPac33	300-800	686,4400	TG 40:13	[M+NH4] ⁺	C43H56O6
MtSPac33	300-800	664,4581	TG 38:10	[M+NH4] ⁺	C41H58O6
MtSPac33	300-800	521,3831	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
MtSPac33	300-800	463,3038	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
MtSPac33	300-800	451,3047	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
MtSPac33	300-800	381,2264	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
MtSPac33	700-2000	789,4488	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5
MtSPac33	700-2000	708,4546	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P

Fonte: Autoria própria.

Tabela A34 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP01

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP01	50-600	239,0898	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
CGRP01	50-600	437,3259	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP01	50-600	419,3259	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP01	300-800	545,4183	TG O-29:2	[M+Na] ⁺	C32H58O5
CGRP01	300-800	451,3412	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
CGRP01	300-800	433,2931	TG O-21:2	[M+Na] ⁺	C24H42O5
CGRP01	300-800	437,3255	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP01	300-800	419,2780	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP01	300-800	423,3099	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP01	300-800	405,2621	TG O-19:2	[M+Na] ⁺	C22H38O5
CGRP01	300-800	589,4447	TG 31:1	[M+Na] ⁺	C34H62O6
CGRP01	300-800	521,3834	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
CGRP01	300-800	477,3192	TG 23:1	[M+Na] ⁺	C26H46O6
CGRP01	300-800	463,3041	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
CGRP01	300-800	451,3050	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
CGRP01	300-800	381,2265	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
CGRP01	300-800	468,1012	PS 12:5	[M+Na] ⁺	C18H24NO10P
CGRP01	700-2000	789,4494	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5

Fonte: Autoria própria.

Tabela A35 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP02 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP02	50-600	239,0901	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
CGRP02	300-800	451,3412	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
CGRP02	300-800	437,3255	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP02	300-800	419,2785	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5

Tabela A35 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP02 (continuação)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP02	300-800	423,3099	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP02	300-800	521,3834	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
CGRP02	300-800	451,3049	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
CGRP02	300-800	381,2266	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
CGRP02	700-2000	789,4492	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5
CGRP02	700-2000	708,4549	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P

Fonte: Autoria própria.

Tabela A36 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP03 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP03	50-600	420,2163	PC O-11:3	[M+H] ⁺	C19H34NO7P
CGRP03	50-600	318,3016	MG O-15:1	[M+NH4] ⁺	C18H36O3
CGRP03	50-600	398,2344	MG 21:10	[M+NH4] ⁺	C24H28O4
CGRP03	300-800	513,3564	TG O-27:4	[M+Na] ⁺	C30H50O5
CGRP03	300-800	451,3413	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
CGRP03	300-800	433,2934	TG O-21:2	[M+Na] ⁺	C24H42O5
CGRP03	300-800	437,3256	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP03	300-800	419,2785	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP03	300-800	423,3100	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP03	300-800	629,3798	TG 35:9	[M+Na] ⁺	C38H54O6
CGRP03	300-800	529,3514	TG 27:3	[M+Na] ⁺	C30H50O6
CGRP03	300-800	521,3835	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
CGRP03	300-800	477,3196	TG 23:1	[M+Na] ⁺	C26H46O6
CGRP03	300-800	463,3045	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6

Tabela A36 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP03 (continuação)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP03	300-800	451,3050	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
CGRP03	300-800	381,2266	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
CGRP03	300-800	420,2159	PC O-11:3	[M+H] ⁺	C19H34NO7P
CGRP03	300-800	318,3013	MG O-15:1	[M+NH4] ⁺	C18H36O3
CGRP03	300-800	398,2340	MG 21:10	[M+NH4] ⁺	C24H28O4
CGRP03	300-800	362,3276	MG 17:0	[M+NH4] ⁺	C20H40O4
CGRP03	300-800	628,3766	LPC O-28:11	[M+H] ⁺	C36H54NO6P
CGRP03	700-2000	789,4493	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5

Fonte: Autoria própria.

Tabela A37 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP04 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP04	50-600	239,0898	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
CGRP04	300-800	451,3411	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
CGRP04	300-800	437,3254	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP04	300-800	419,2784	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP04	300-800	423,3098	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP04	300-800	521,3833	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
CGRP04	300-800	451,3049	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
CGRP04	300-800	381,2265	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
CGRP04	300-800	526,2927	PC O-19:6	[M+H] ⁺	C27H44NO7P
CGRP04	300-800	482,2666	LPC O-17:7	[M+H] ⁺	C25H40NO6P
CGRP04	700-2000	789,4490	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5

Tabela A37 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP04
(continuação)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP04	700-2000	708,4551	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P

Fonte: Autoria própria.

Tabela A38 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP05

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP05	50-600	239,0900	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
CGRP05	50-600	437,3259	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP05	50-600	463,3049	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
CGRP05	300-800	451,3412	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
CGRP05	300-800	437,3255	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP05	300-800	419,2785	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP05	300-800	423,3100	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP05	300-800	521,3834	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
CGRP05	300-800	463,3046	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
CGRP05	300-800	451,3050	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
CGRP05	300-800	381,2266	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
CGRP05	300-800	708,4541	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P
CGRP05	700-2000	789,4495	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5
CGRP05	700-2000	708,4553	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P

Fonte: Autoria própria.

Tabela A39 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP06

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP06	50-600	437,3258	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP06	50-600	419,2789	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP06	50-600	423,3102	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP06	300-800	451,3411	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
CGRP06	300-800	437,3254	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP06	300-800	419,2785	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP06	300-800	423,3098	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP06	300-800	686,4410	TG 40:13	[M+NH4] ⁺	C43H56O6
CGRP06	300-800	664,4592	TG 38:10	[M+NH4] ⁺	C41H58O6
CGRP06	300-800	521,3833	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
CGRP06	300-800	451,3048	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
CGRP06	300-800	381,2265	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
CGRP06	700-2000	789,4496	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5
CGRP06	700-2000	1041,7321	PI 47:1	[M+Na] ⁺	C56H107O13P

Fonte: Autoria própria.

Tabela A40 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP07 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP07	50-600	437,3289	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP07	50-600	419,2788	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP07	50-600	423,3102	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP07	50-600	381,2266	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
CGRP07	300-800	451,3410	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
CGRP07	300-800	433,2932	TG O-21:2	[M+Na] ⁺	C24H42O5
CGRP07	300-800	437,3253	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP07	300-800	419,2781	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP07	300-800	423,3097	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5

Tabela A40 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP07 (continuação)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP07	300-800	614,3450	TG 35:14	[M+NH ₄] ⁺	C ₃₈ H ₄₄ O ₆
CGRP07	300-800	521,3831	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C ₂₉ H ₅₄ O ₆
CGRP07	300-800	477,3193	TG 23:1	[M+Na] ⁺	C ₂₆ H ₄₆ O ₆
CGRP07	300-800	463,3042	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C ₂₅ H ₄₄ O ₆
CGRP07	300-800	451,3046	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C ₂₄ H ₄₄ O ₆
CGRP07	300-800	381,2264	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C ₁₉ H ₃₄ O ₆
CGRP07	300-800	526,2925	PC O-19:6	[M+H] ⁺	C ₂₇ H ₄₄ NO ₇ P
CGRP07	300-800	482,2662	LPC O-17:7	[M+H] ⁺	C ₂₅ H ₄₀ NO ₆ P
CGRP07	300-800	570,3188	DG 33:15	[M+NH ₄] ⁺	C ₃₆ H ₄₀ O ₅
CGRP07	700-2000	789,4492	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C ₅₂ H ₆₂ O ₅

Fonte: Autoria própria.

Tabela A41 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP08 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP08	50-600	239,0901	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C ₁₀ H ₁₆ O ₅
CGRP08	50-600	437,3258	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C ₂₄ H ₄₆ O ₅
CGRP08	50-600	419,2788	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C ₂₃ H ₄₀ O ₅
CGRP08	50-600	423,3102	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C ₂₃ H ₄₄ O ₅
CGRP08	300-800	451,3408	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C ₂₅ H ₄₈ O ₅
CGRP08	300-800	433,2934	TG O-21:2	[M+Na] ⁺	C ₂₄ H ₄₂ O ₅
CGRP08	300-800	437,3251	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C ₂₄ H ₄₆ O ₅
CGRP08	300-800	419,2781	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C ₂₃ H ₄₀ O ₅
CGRP08	300-800	423,3095	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C ₂₃ H ₄₄ O ₅
CGRP08	300-800	521,3829	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C ₂₉ H ₅₄ O ₆

Tabela A41 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP08 (continuação)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP08	300-800	477,3197	TG 23:1	[M+Na] ⁺	C26H46O6
CGRP08	300-800	463,3043	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
CGRP08	300-800	451,3044	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
CGRP08	300-800	381,2263	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
CGRP08	700-2000	789,4481	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5

Fonte: Autoria própria.

Tabela A42 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP09 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP09	50-600	239,0897	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
CGRP09	50-600	437,3254	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP09	50-600	419,2784	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP09	50-600	423,3097	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP09	50-600	381,2263	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
CGRP09	300-800	451,3406	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
CGRP09	300-800	433,2927	TG O-21:2	[M+Na] ⁺	C24H42O5
CGRP09	300-800	437,3250	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP09	300-800	419,2777	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP09	300-800	423,3094	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP09	300-800	521,3827	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
CGRP09	300-800	477,3189	TG 23:1	[M+Na] ⁺	C26H46O6
CGRP09	300-800	463,3038	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
CGRP09	300-800	451,3045	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
CGRP09	300-800	381,2261	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
CGRP09	700-2000	789,4490	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5

Tabela A42 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-2000 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP09 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP09	700-2000	708,4544	PC 29:3	[M+Na]⁺	C37H68NO8P

Fonte: Autorial própria.

Tabela A43 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-2000 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP10

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP10	50-600	239,0898	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
CGRP10	50-600	437,3258	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP10	50-600	419,2788	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP10	50-600	423,3102	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP10	50-600	381,2267	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
CGRP10	300-800	451,3410	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
CGRP10	300-800	437,3253	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP10	300-800	419,2784	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP10	300-800	423,3097	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP10	300-800	521,3831	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
CGRP10	300-800	463,3043	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
CGRP10	300-800	451,3047	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
CGRP10	300-800	381,2264	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
CGRP10	700-2000	789,4487	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5
CGRP10	700-2000	708,4548	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P

Fonte: Autorial própria.

Tabela A44 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP11

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP11	50-600	239,0899	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
CGRP11	50-600	437,3257	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP11	50-600	419,2787	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP11	50-600	423,3101	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP11	50-600	463,3047	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
CGRP11	50-600	381,2266	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
CGRP11	300-800	451,3410	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
CGRP11	300-800	437,3253	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP11	300-800	419,2783	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP11	300-800	423,3098	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP11	300-800	521,3832	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
CGRP11	300-800	463,3044	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
CGRP11	300-800	451,3047	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
CGRP11	300-800	381,2264	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
CGRP11	700-2000	789,4491	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5
CGRP11	700-2000	708,4545	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P

Fonte: Autoria própria.

Tabela A45 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP12 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP12	50-600	239,0898	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
CGRP12	50-600	437,3257	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP12	50-600	419,2787	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP12	50-600	423,3101	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP12	50-600	381,2266	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
CGRP12	300-800	451,3409	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
CGRP12	300-800	433,2929	TG O-21:2	[M+Na] ⁺	C24H42O5
CGRP12	300-800	437,3252	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP12	300-800	419,2780	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5

CGRP12	300-800	423,3096	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP12	300-800	521,3831	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
CGRP12	300-800	477,3190	TG 23:1	[M+Na] ⁺	C26H46O6
CGRP12	300-800	463,3040	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
CGRP12	300-800	451,3046	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
CGRP12	300-800	381,2263	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
CGRP12	700-2000	789,4488	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5
CGRP12	700-2000	708,4546	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P

Fonte: Autoria própria.

Tabela A45 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-2000 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP12 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP12	300-800	423,3096	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP12	300-800	521,3831	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
CGRP12	300-800	477,3190	TG 23:1	[M+Na] ⁺	C26H46O6
CGRP12	300-800	463,3040	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
CGRP12	300-800	451,3046	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
CGRP12	300-800	381,2263	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
CGRP12	700-2000	789,4488	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5
CGRP12	700-2000	708,4546	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P

Fonte: Autoria própria.

Tabela A46 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP13

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP13	50-600	239,0899	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
CGRP13	50-600	437,3258	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP13	50-600	419,2788	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP13	50-600	423,3102	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP13	50-600	318,3014	MG O-15:1	[M+NH4] ⁺	C18H36O3
CGRP13	50-600	290,2698	MG O-13:1	[M+NH4] ⁺	C16H32O3
CGRP13	50-600	362,3277	MG 17:0	[M+NH4] ⁺	C20H40O4
CGRP13	300-800	451,3409	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
CGRP13	300-800	437,3252	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP13	300-800	419,2783	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP13	300-800	423,3097	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP13	300-800	521,3831	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
CGRP13	300-800	463,3044	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
CGRP13	300-800	437,1948	TG 21:7	[M+Na] ⁺	C24H30O6
CGRP13	300-800	451,3046	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
CGRP13	300-800	381,2264	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
CGRP13	300-800	708,4540	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P
CGRP13	300-800	318,3014	MG O-15:1	[M+NH4] ⁺	C18H36O3
CGRP13	300-800	384,3095	MG 19:3	[M+NH4] ⁺	C22H38O4
CGRP13	300-800	362,3278	MG 17:0	[M+NH4] ⁺	C20H40O4
CGRP13	700-2000	789,4490	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5
CGRP13	700-2000	708,4549	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P

Fonte: Autoria própria.

Tabela A47 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP14

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP14	50-600	239,0901	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
CGRP14	50-600	428,4118	MG O-23:2	[M+NH ₄] ⁺	C26H50O3
CGRP14	300-800	451,3413	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
CGRP14	300-800	437,3256	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP14	300-800	419,2786	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP14	300-800	423,3100	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP14	300-800	521,3835	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
CGRP14	300-800	451,3050	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
CGRP14	300-800	381,2266	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
CGRP14	300-800	686,4718	PC 27:0	[M+Na] ⁺	C35H70NO8P
CGRP14	300-800	428,4109	MG O-23:2	[M+NH ₄] ⁺	C26H50O3
CGRP14	300-800	400,3799	MG O-21:2	[M+NH ₄] ⁺	C24H46O3
CGRP14	300-800	694,6728	MG 41:2	[M+NH ₄] ⁺	C44H84O4
CGRP14	300-800	666,6416	MG 39:2	[M+NH ₄] ⁺	C42H80O4
CGRP14	300-800	638,6101	MG 37:2	[M+NH ₄] ⁺	C40H76O4
CGRP14	700-2000	789,4492	TG O-49:20	[M+Na] ⁺	C52H62O5
CGRP14	700-2000	708,4553	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P

Fonte: Autoria própria.

Tabela A48 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP15 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP15	50-600	239,0902	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
CGRP15	50-600	437,3257	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP15	50-600	419,2788	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP15	50-600	423,3101	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP15	50-600	381,2267	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
CGRP15	300-800	451,3413	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5

Tabela A48 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP15 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP15	300-800	433,2932	TG O-21:2	[M+Na] ⁺	C24H42O5
CGRP15	300-800	437,3256	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP15	300-800	419,2783	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP15	300-800	423,3099	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP15	300-800	521,3835	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
CGRP15	300-800	477,3193	TG 23:1	[M+Na] ⁺	C26H46O6
CGRP15	300-800	463,3044	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
CGRP15	300-800	451,3049	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
CGRP15	300-800	381,2265	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
CGRP15	700-2000	708,4552	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P

Fonte: Autoria própria.

Tabela A49 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP16 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP16	50-600	437,3259	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP16	300-800	545,4185	TG O-29:2	[M+Na] ⁺	C32H58O5
CGRP16	300-800	451,3415	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
CGRP16	300-800	433,2934	TG O-21:2	[M+Na] ⁺	C24H42O5
CGRP16	300-800	437,3258	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP16	300-800	419,2783	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP16	300-800	423,3101	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP16	300-800	405,2622	TG O-19:2	[M+Na] ⁺	C22H38O5
CGRP16	300-800	589,4451	TG 31:1	[M+Na] ⁺	C34H62O6
CGRP16	300-800	521,3837	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6

Tabela A49 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP16
(continuação)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP16	300-800	477,3196	TG 23:1	[M+Na] ⁺	C26H46O6
CGRP16	300-800	463,3045	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
CGRP16	300-800	451,3051	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
CGRP16	300-800	468,1015	PS 12:5	[M+Na] ⁺	C18H24NO10P
CGRP16	700-2000	708,4550	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P

Fonte: Autoria própria.

Tabela A50 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP17

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP17	50-600	239,0902	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
CGRP17	50-600	437,3259	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP17	300-800	451,3414	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
CGRP17	300-800	437,3256	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP17	300-800	419,2786	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP17	300-800	423,3100	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP17	300-800	521,3835	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
CGRP17	300-800	463,3045	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
CGRP17	300-800	451,3050	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
CGRP17	300-800	409,1634	TG 19:7	[M+Na] ⁺	C22H26O6
CGRP17	300-800	381,2266	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
CGRP17	300-800	708,4541	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P
CGRP17	300-800	686,4717	PC 27:0	[M+Na] ⁺	C35H70NO8P
CGRP17	700-2000	708,4551	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P

Fonte: Autoria própria.

Tabela A51 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP18

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP18	50-600	437,3257	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP18	50-600	419,2788	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP18	50-600	423,3101	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP18	50-600	381,2266	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
CGRP18	300-800	451,3412	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
CGRP18	300-800	437,3255	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP18	300-800	419,2785	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP18	300-800	423,3099	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP18	300-800	521,3833	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
CGRP18	300-800	463,3046	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
CGRP18	300-800	451,3048	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
CGRP18	300-800	381,2265	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6

Fonte: Autoria própria.

Tabela A52 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP19 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP19	50-600	239,0900	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
CGRP19	50-600	437,3257	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP19	50-600	419,2788	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP19	50-600	423,3101	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP19	50-600	437,1952	TG 21:7	[M+Na] ⁺	C24H30O6
CGRP19	50-600	381,2267	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
CGRP19	50-600	318,3016	MG O-15:1	[M+NH4] ⁺	C18H36O3
CGRP19	50-600	290,2701	MG O-13:1	[M+NH4] ⁺	C16H32O3
CGRP19	50-600	262,2386	MG O-11:1	[M+NH4] ⁺	C14H28O3
CGRP19	50-600	362,3280	MG 17:0	[M+NH4] ⁺	C20H40O4
CGRP19	50-600	334,2964	MG 15:0	[M+NH4] ⁺	C18H36O4
CGRP19	300-800	451,3413	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
CGRP19	300-800	437,3256	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP19	300-800	419,2786	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP19	300-800	423,3100	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5

Tabela A52 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP19 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP19	300-800	521,3835	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6
CGRP19	300-800	463,3042	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
CGRP19	300-800	437,1947	TG 21:7	[M+Na] ⁺	C24H30O6
CGRP19	300-800	451,3051	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
CGRP19	300-800	381,2266	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
CGRP19	300-800	340,2831	MG O-17:4	[M+NH4] ⁺	C20H34O3
CGRP19	300-800	346,3324	MG O-17:1	[M+NH4] ⁺	C20H40O3
CGRP19	300-800	318,3013	MG O-15:1	[M+NH4] ⁺	C18H36O3
CGRP19	300-800	384,3094	MG 19:3	[M+NH4] ⁺	C22H38O4
CGRP19	300-800	362,3277	MG 17:0	[M+NH4] ⁺	C20H40O4
CGRP19	300-800	334,2961	MG 15:0	[M+NH4] ⁺	C18H36O4
CGRP19	700-2000	708,4549	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P

Fonte: Autoria própria.

Tabela A53 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP20 (continua)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP20	50-600	239,0901	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
CGRP20	50-600	437,3259	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP20	300-800	451,3413	TG O-22:0	[M+Na] ⁺	C25H48O5
CGRP20	300-800	433,2933	TG O-21:2	[M+Na] ⁺	C24H42O5
CGRP20	300-800	437,3255	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP20	300-800	419,2783	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP20	300-800	423,3100	TG O-20:0	[M+Na] ⁺	C23H44O5
CGRP20	300-800	521,3834	TG 26:0	[M+Na] ⁺	C29H54O6

Tabela A53 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP20
(continuação)

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP20	300-800	477,3195	TG 23:1	[M+Na] ⁺	C26H46O6
CGRP20	300-800	463,3045	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
CGRP20	300-800	451,3049	TG 21:0	[M+Na] ⁺	C24H44O6
CGRP20	300-800	381,2265	TG 16:0	[M+Na] ⁺	C19H34O6
CGRP20	700-2000	708,4553	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P

Fonte: Autoria própria.

Tabela A54 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 1000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP21

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP21	300-800	463,3052	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
CGRP21	300-800	708,4551	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P
CGRP21	700-2000	708,4558	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P

Fonte: Autoria própria.

Tabela A55 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 21000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP22

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP22	50-600	239,0899	TG O-7:1	[M+Na] ⁺	C10H16O5
CGRP22	50-600	463,3050	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
CGRP22	300-800	433,2936	TG O-21:2	[M+Na] ⁺	C24H42O5
CGRP22	300-800	419,2788	TG O-20:2	[M+Na] ⁺	C23H40O5
CGRP22	300-800	477,3198	TG 23:1	[M+Na] ⁺	C26H46O6
CGRP22	300-800	463,3050	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
CGRP22	300-800	468,1033	PS 12:5	[M+Na] ⁺	C18H24NO10P
CGRP22	300-800	708,4541	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P
CGRP22	700-2000	708,4558	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P

Fonte: Autoria própria.

Tabela A56 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 21000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP23

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP23	300-800	437,3259	TG O-21:0	[M+Na] ⁺	C24H46O5
CGRP23	300-800	463,3047	TG 22:1	[M+Na] ⁺	C25H44O6
CGRP23	300-800	708,4546	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P
CGRP23	700-2000	708,4554	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P

Fonte: Autoria própria.

Tabela A57 - Dados espectrais nas faixas de 50-600 *m/z*, 300-800 *m/z*, 700-200 *m/z* e de 21000-2000 *m/z* e indicação primária de possíveis lipídios do paciente CGRP24

PACIENTE / GRUPO DE CONTROLE	FAIXA	<i>m/z</i>	<i>Lipid Annotation</i>	Aduto	Fórmula molecular
CGRP24	300-800	708,4546	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P
CGRP24	700-2000	708,4552	PC 29:3	[M+Na] ⁺	C37H68NO8P

Fonte: Autoria própria.