



**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS**

**FACULDADE DE EDUCAÇÃO FÍSICA**

**RENATA GARBELLINI DUFT**

**RESPOSTAS METABÓLICAS AGUDAS E CRÔNICAS AO EXERCÍCIO FÍSICO  
EM PESSOAS DE MEIA IDADE EUTRÓFICAS, OBESAS E DIABÉTICAS TIPO 2  
UTILIZANDO A ABORDAGEM LIPIDÔMICA**

**Campinas**

**2022**

RENATA GARBELLINI DUFT

**RESPOSTAS METABÓLICAS AGUDAS E CRÔNICAS AO EXERCÍCIO FÍSICO  
EM PESSOAS DE MEIA IDADE EUTRÓFICAS, OBESAS E DIABÉTICAS TIPO 2  
UTILIZANDO A ABORDAGEM LIPIDÔMICA**

Tese apresentada à Faculdade de Educação Física da Universidade Estadual de Campinas como parte dos requisitos para a obtenção do título de Doutora em Educação Física, área de concentração em Atividade Física Adaptada.

**Orientadora:** Profa. Dra. Cláudia Regina Cavaglieri

Este exemplar corresponde à versão final da tese defendida pela aluna Renata Garbellini Duft e orientada pela Prof<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Cláudia Regina Cavaglieri

Campinas

2022

Agência(s) de fomento: FAPESP  
n° do Proc.: 2017/11033-8

Ficha catalográfica  
Universidade Estadual de Campinas  
Biblioteca da Faculdade de Educação Física  
Andréia da Silva Manzato - CRB 8/7292

D877r Duft, Renata Garbellini, 1990-  
Respostas metabólicas agudas e crônicas ao exercício físico em pessoas de meia idade eutróficas, obesas e diabéticas tipo 2 utilizando a abordagem lipidômica / Renata Garbellini Duft. – Campinas, SP : [s.n.], 2022.

Orientador: Cláudia Regina Cavaglieri.  
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Educação Física.

1. Exercícios físicos. 2. Lipidômica. 3. Obesidade. 4. Diabetes mellitus tipo 2. 5. Resistência à insulina. I. Cavaglieri, Cláudia Regina. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Educação Física. III. Título.

#### Informações Complementares

**Título em outro idioma:** Acute and chronic metabolic responses to physical exercise in normal-weight, obese and type 2 diabetic middle-aged people using the lipidomics approach

**Palavras-chave em inglês:**

Exercises

Lipidomics

Obesity

Diabetes Mellitus, Type 2

Insulin Resistance

**Área de concentração:** Atividade Física Adaptada

**Titulação:** Doutora em Educação Física

**Banca examinadora:**

Cláudia Regina Cavaglieri [Orientador]

Alessandra Sussulini

Fábio Santos de Lira

Álvaro Reischak de Oliveira

Paulo Ivo Homem de Bittencourt

**Data de defesa:** 05-12-2022

**Programa de Pós-Graduação:** Educação Física

Identificação e informações acadêmicas do(a) aluno(a)

- ORCID do autor: <https://orcid.org/0000-0003-0031-6171>

- Currículo Lattes do autor: <http://lattes.cnpq.br/5480792322988063>

## **Agradecimentos**

Agradeço à Fapesp – Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (processo nº 2017/11033-8) pelo financiamento da minha bolsa de doutorado e bolsa BEPE (processo nº 2019/25817-6), sem os quais esse projeto não teria sido desenvolvido.

À minha orientadora Dra. Cláudia Regina Cavaglieri pelos ensinamentos e pela confiança no meu trabalho desde 2013, quando cheguei ao FISEX para realizar a minha primeira iniciação científica, depois mestrado e agora doutorado.

Agradeço aos voluntários que participaram desse projeto, sem os quais nada disso teria sido possível. A todos meus amigos e colegas do Fisex que de alguma forma participaram do projeto, seja ajudando nos treinos, coletas de dados, ou mesmo nas discussões produtivas tomando um cafezinho, as quais contribuíram para minha formação acadêmica.

Agradeço ao Ivan pela parceria ao longo desses anos, sempre me ajudando em tudo que precisei no lab, e por todo o empenho e dedicação para que esse projeto fosse realizado. À Ana, pela amizade e parceria no Fisex, sempre disposta a ajudar, mas também sempre promovendo altas risadas para aliviar o estresse da vida acadêmica.

Ao Laboratório Inovare e ao professor Rodrigo Ramos Catharino por ter aberto as portas e cedido um de seus equipamentos para realização de parte das análises. À professora Alessandra Sussulini por ter me ajudado a conseguir finalizar as análises no Instituto de Química da Unicamp.

Agradeço ao professor Jules Griffin por ter me recebido em seu laboratório no Imperial College London para a realização da minha bolsa sanduíche, e por ter me ensinado muito sobre metabolômica e lipidômica em tão pouco tempo. À Susana que me ensinou tudo sobre cromatografia líquida e preparação de amostras para lipidômica durante meu sanduíche.

Agradeço à Ísis que sempre me socorreu quando eu precisava saber conceitos químicos relacionados às técnicas analíticas para desenvolver esse projeto, ou nos diversos cálculos para as preparações de amostras no laboratório. Além disso, agradeço por todo carinho, companheirismo e por sempre me apoiar e me aconselhar.

Por fim, agradeço meus pais Solange e Roberto, por sempre me apoiarem emocional e financeiramente para que eu pudesse chegar até aqui hoje na finalização desse doutorado.

## RESUMO

A lipidômica clínica tem sido amplamente utilizada no estudo do metabolismo lipídico, o qual pode ser alterado por doenças crônicas não transmissíveis (DCNT), como obesidade e diabetes tipo 2 (DM2). A prática regular de exercício físico, principalmente o treinamento combinado (TC), que associa os benefícios fisiológicos do treinamento aeróbico (TA) e do treinamento de força (TF) é um excelente tratamento não farmacológico para essas doenças metabólicas. No entanto, não está claro se o exercício físico de intensidade moderada consegue alterar o perfil lipidômico de indivíduos com e sem doenças, em intervenções agudas e crônicas. O objetivo desse estudo foi analisar as respostas agudas do TA, TF e TC, e as respostas crônicas ao TC utilizando a lipidômica, em indivíduos eutróficos, obesos e com DM2, sem intervenção de dieta. Foram selecionados 127 voluntários na meia-idade (40 a 60 anos), de ambos os sexos, com índice de massa corporal (IMC) entre 18 e 34,9 kg/m<sup>2</sup>. Foram realizadas análises funcionais (força máxima (1RM) e aptidão aeróbia (VO<sub>2</sub>máx)), composição corporal (*Pletismografia - BODPOD*), antropometria (peso, altura e circunferências), coletas de sangue em jejum nos momentos pré e pós-controle, e pós-treino. As sessões agudas foram realizadas ao final do período controle. A intervenção de TC foi composta pelo TF (3 séries de 10 a 12 repetições (50 a 75% de 1RM)) seguido de TA (35 min em 50 - 70% do VO<sub>2</sub>máx) na mesma sessão, 3 vezes por semana, durante 16 semanas. Foram realizadas análises lipidômicas por infusão direta no espectrômetro de massas. As sessões agudas promoveram diferentes respostas de aumento e diminuição de espécies de lipídios como ceramidas (Cer), ceramida fosfoetanolamina (CerPE), esfingomiéline (SM), triacilglicerol (TAG), diacilglicerol (DAG), gangliosídeos (GM3), ácidos graxos (FA), fosfaditilcolina (PC), fosfaditiletanolamina (PE), lisofosfaditilcolina (LPC), lisofosfaditiletanolamina (LPE) e cardiolipina (CL). Os grupos eutrófico e DM2 apresentaram efeitos metabólicos combinados de TA e TF na sessão de TC, enquanto o grupo obeso apresentou concorrência entre os treinos. A sessão aguda de TC e agudas crônicas (TCC) apresentaram mudanças nas espécies lipídicas mobilizadas, confirmando que o treinamento crônico altera a resposta aguda ao exercício. O TC crônico reduziu espécies de Cer, hexosilceramidas (HexCer), SM, ceramida fosfato (CerP), CerPE, GM3, FA, TAG, DAG, PC e aumentou as espécies de dihexosilceramida (Hex2Cer), LPC, PE, LPE e CL. Essas alterações lipídicas estão relacionadas aos mecanismos pelos quais o exercício promoveu aumento do VO<sub>2</sub>máx, força, massa magra, sensibilidade à insulina, além da redução de circunferências, massa gorda, glicemia, insulina, resistência à insulina (RI), os quais são essenciais para reduzir o risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (DCV) e relacionadas à obesidade e diabetes, melhorando a saúde dos voluntários, sem intervenção dietética.

**Palavras chave:** exercício físico, obesidade, diabetes tipo 2, resistência à insulina, lipidômica, metabolismo, treinamento combinado.

## **Abstract**

Clinical lipidomics has been widely used in the study of lipid metabolism, which can be altered by chronic non-communicable diseases (NCDs), such as obesity and type 2 diabetes (T2D). The regular practice of physical exercise, especially combined training (CT), which combines the physiological benefits of aerobic training (AT) and resistance training (RT) is an excellent non-pharmacological treatment for these metabolic diseases. However, it is not clear whether moderate-intensity physical exercise can alter the lipidomic profile of individuals with and without diseases, in acute and chronic interventions. This study aimed to analyse the acute responses to AT, RT, and CT, and the chronic metabolic responses to CT using lipidomics in normal-weight, obese and T2D individuals, without dietary intervention. A total of 127 middle-aged volunteers (40 to 60 years), of both sexes, with body mass index (BMI) between 18 and 34.9 kg/m<sup>2</sup> were selected. Functional analyses (strength (1RM) and cardiorespiratory fitness (VO<sub>2</sub>max)), body composition (Plethysmography – BOD POD), anthropometry (weight, height, and circumferences), fasting blood samples were performed pre- and post-control and post-training moments. Acute sessions were performed at the end of the control period. The CT intervention consisted of RT (3 sets of 10-12 repetitions (50-75% of 1RM)) followed by AT (35 min at 50 - 70% of VO<sub>2</sub>max) in the same session, 3 times a week for 16 weeks. Lipidomic analyses were performed by direct injection into a mass spectrometer. The acute sessions promoted different metabolic responses, increasing and decreasing lipid species such as ceramides (Cer), ceramide phosphoethanolamine (CerPE), sphingomyelin (SM), triacylglycerol (TAG), diacylglycerol (DAG), gangliosides (GM3), fatty acids (FA), phosphatidylcholine (PC), phosphatidylethanolamine (PE), lysophosphatidylcholine (LPC), lysophosphatidylethanolamine (LPE) and cardiolipin (CL). The normal-weight and T2D groups presented combined metabolic effects of AT and RT in the CT session, while the obese group presented concurrence between training sessions. The acute session of CT and acute chronic (CTC) showed changes in the lipid species mobilized, confirming that chronic training alters the acute response to exercise. Chronic CT reduced species of Cer, hexosylceramides (HexCer), SM, ceramide phosphate (CerP), CerPE, GM3, FA, TAG, DAG, PC, and increased species of dihexosylceramide (Hex2Cer), LPC, PE, LPE, and CL. These lipid changes are related to the mechanisms by which exercise promoted an increase in VO<sub>2</sub>max, strength, free fat mass, and insulin sensitivity, in addition to a reduction in circumference, fat mass, blood glucose, insulin, insulin resistance (IR), which are essential to reduce the risk of developing cardiovascular (CVD) and related diseases to obesity and diabetes, improving the health of volunteers, without dietary intervention.

**Keywords:** exercise, obesity, type 2 diabetes, insulin resistance, lipidomics, metabolism, combined training.

## Lista de Figuras

- Figura 1. Representação das vias metabólicas interconectadas. As linhas simples representam vias metabólicas comuns a quase todas as formas de vida, já as linhas duplas não ocorrem em humanos. Nós laranjas: metabolismo de carboidratos, violetas: fotossíntese, vermelho: respiração celular, rosa: sinalização celular, azul: metabolismo de amino ácidos, cinza: metabolismo de vitaminas e cofatores, marrom: metabolismo de nucleotídeos e proteínas, verde: metabolismo de lipídios. Fonte: [https://commons.wikimedia.org/wiki/Category:Metabolic\\_pathways](https://commons.wikimedia.org/wiki/Category:Metabolic_pathways)..... 22
- Figura 2. Principais classes e subclasses de lipídios de acordo com o consórcio *LIPID MAPS (Lipids Metabolites and Pathways Strategy)*..... 25
- Figura 3. Fluxograma de análise lipidômica. Figura criada utilizando BioRender. .... 31
- Figura 4. Principais áreas de utilização das abordagens metabolômica e/ou lipidômica. Figura criada utilizando o Canva. .... 33
- Figura 5. Fluxograma de seleção de voluntários. .... 38
- Figura 6. Desenho experimental das sessões agudas de treino aeróbio (TA), treino de força (TF) e treino combinado (TC). A – Representação das 3 sessões de treino com seus protocolos e durações. A ordem das sessões foi obtida por sorteio. B – Protocolo de coleta de sangue durante as sessões agudas nos momentos pré, pós, 30 min e 60 min. Os voluntários ingeriram um café da manhã padronizado 1h30min antes das sessões. C – Representação de todos os momentos de coletas em todos os grupos e sessões. .... 41
- Figura 7. Desenho Experimental do protocolo de treinamento combinado crônico. .... 42
- Figura 8. Comparação entre o perfil lipidômico dos 3 grupos no momento basal. A – Gráfico de scores de PCA (análise de componentes principais) com todas as amostras do estudo. B – Análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA) entre os grupos eutrófico, obeso e diabéticos tipo 2 (DM2). C – VIP score com os principais metabólitos responsáveis pela segregação da PLS-DA. D – Validação do modelo PLS-DA - teste de permutação. E – Lista com os principais metabólitos selecionados pelo VIPscore. .... 50
- Figura 9. Comparação entre os momentos pré e pós-controle dos 3 grupos. As figuras A, C e E mostram as análises ortogonais discriminantes por mínimos quadrados parciais (OPLS-DA) dos grupos eutrófico, obesos e diabéticos tipo 2, respectivamente. Já as Figuras B, D e F mostram as respectivas validações dos modelos com os testes de permutação. .... 52
- Figura 10. Comparação entre os grupos controle e treino eutrófico. A figura A mostra o gráfico de scores do modelo OPLS-DA com a segregação entre grupos, já a figura B representa o teste de permutações e validação do modelo. A figura C mostra o gráfico S-plot com as principais variáveis discriminantes entre grupos destacadas em vermelho, e a tabela D mostra todas as massas das principais variáveis selecionadas no gráfico S-Plot. .... 53
- Figura 11. Comparação entre os grupos controle e treino obesos. A figura A mostra o gráfico de scores da análise ortogonal discriminante por mínimos quadrados parciais (OPLS-DA), já a figura B representa o teste de permutações e validação do modelo. A figura C mostra o gráfico S-plot com as principais variáveis discriminantes entre grupos, e a tabela D mostra todas as principais variáveis selecionadas no gráfico S-Plot. .... 55
- Figura 12. Comparação entre os grupos controle e treino DM2. A figura A mostra o gráfico de scores da análise ortogonal discriminante por mínimos quadrados parciais (OPLS-DA), já a figura B representa o teste de permutações e validação do modelo. A figura C mostra o gráfico S-plot com as principais variáveis discriminantes entre grupos e a tabela D mostra todas as principais variáveis selecionadas no gráfico S-Plot. .... 57
- Figura 13. Comparações entre os momentos de coleta pré, pós, 30 min e 60 min após a sessão aguda de treino aeróbio do grupo eutrófico. A – Pré x Pós, B – Pós x 30 min, C – Pré

x 30 min, D – Pós x 60 min, E – Pré x 60 min, F – 30 min x 60 min. Todos os modelos foram validados apresentando  $R^2Y > 0,9$ ,  $Q^2 \geq 0,5$  e  $p < 0,0001$ . O símbolo ' representa minutos.

..... 59

Figura 14. Comparações entre os momentos de coleta pré, pós, 30 min e 60 min após a sessão aguda de treino aeróbio do grupo obeso. A – Pré x Pós, B – Pós x 30 min, C – Pré x 30 min, D – Pós x 60 min, E – Pré x 60 min, F – 30 min x 60 min. Todos os modelos foram validados apresentando  $R^2Y > 0,9$ ,  $Q^2 \geq 0,5$  e  $p < 0,0001$ . O símbolo ' representa minutos.

..... 60

Figura 15. Comparações entre os momentos de coleta pré, pós, 30 min e 60 min após a sessão aguda de treino aeróbio do grupo DM2. A – Pré x Pós, B – Pós x 30 min, C – Pré x 30 min, D – Pós x 60 min, E – Pré x 60 min, F – 30 min x 60 min. Todos os modelos foram validados apresentando  $R^2Y > 0,9$ ,  $Q^2 \geq 0,5$  e  $p < 0,0001$ . O símbolo ' representa minutos.

..... 61

Figura 16. Comparações entre os momentos de coleta pré, pós, 30 min e 60 min após a sessão aguda de treino de força do grupo eutrófico. A – Pré x Pós, B – Pós x 30 min, C – Pré x 30 min, D – Pós x 60 min, E – Pré x 60 min, F – 30 min x 60 min. Todos os modelos foram validados apresentando  $R^2Y > 0,9$ ,  $Q^2 \geq 0,5$  e  $p < 0,0001$ . O símbolo ' representa minutos.

..... 62

Figura 17. Comparações entre os momentos de coleta pré, pós, 30 min e 60 min após a sessão aguda de treino de força do grupo obeso. A – Pré x Pós, B – Pós x 30 min, C – Pré x 30 min, D – Pós x 60 min, E – Pré x 60 min, F – 30 min x 60 min. Todos os modelos foram validados apresentando  $R^2Y > 0,9$ ,  $Q^2 \geq 0,47$  e  $p < 0,0001$ . O símbolo ' representa minutos.

..... 63

Figura 18. Comparações entre os momentos de coleta pré, pós, 30 min e 60 min após a sessão aguda de treino de força do grupo DM2. A – Pré x Pós, B – Pós x 30 min, C – Pré x 30 min, D – Pós x 60 min, E – Pré x 60 min, F – 30 min x 60 min. Todos os modelos foram validados apresentando  $R^2Y > 0,9$ ,  $Q^2 \geq 0,5$  e  $p < 0,0001$ . O símbolo ' representa minutos.

..... 64

Figura 19. Comparações entre os momentos de coleta pré, pós, 30 min e 60 min após a sessão aguda de treino combinado do grupo eutrófico. A – Pré x Pós, B – Pós x 30 min, C – Pré x 30 min, D – Pós x 60 min, E – Pré x 60 min, F – 30 min x 60 min. Todos os modelos foram validados apresentando  $R^2Y > 0,9$ ,  $Q^2 \geq 0,5$  e  $p < 0,0001$ , exceto o modelo B que apresentou  $Q^2 = 0,35$  e  $p < 0,0001$ . O símbolo ' representa minutos.

..... 65

Figura 20. Comparações entre os momentos de coleta pré, pós, 30 min e 60 min após a sessão aguda de treino combinado do grupo obeso. A – Pré x Pós, B – Pós x 30 min, C – Pré x 30 min, D – Pós x 60 min, E – Pré x 60 min, F – 30 min x 60 min. Todos os modelos foram validados apresentando  $R^2Y > 0,9$ ,  $Q^2 \geq 0,5$  e  $p < 0,0001$ . O símbolo ' representa minutos.

..... 66

Figura 21. Comparações entre os momentos de coleta pré, pós, 30 min e 60 min após a sessão aguda de treino combinado do grupo DM2. A – Pré x Pós, B – Pós x 30 min, C – Pré x 30 min, D – Pós x 60 min, E – Pré x 60 min, F – 30 min x 60 min. Todos os modelos foram validados apresentando  $R^2Y > 0,9$ ,  $Q^2 \geq 0,5$  e  $p < 0,0001$ . O símbolo ' representa minutos.

..... 67

Figura 22. Comparações entre os momentos de coleta pré, pós, 30 min e 60 min após a sessão aguda de treino combinado crônico do grupo eutrófico. A – Pré x Pós, B – Pós x 30 min, C – Pré x 30 min, D – Pós x 60 min, E – Pré x 60 min, F – 30 min x 60 min. Todos os modelos foram validados apresentando  $R^2Y > 0,9$ ,  $Q^2 \geq 0,5$  e  $p < 0,0001$ , exceto o modelo F que apresentou  $Q^2 = 0,42$  e  $p < 0,0001$ . O símbolo ' representa minutos.

..... 68

Figura 23. Comparações entre os momentos de coleta pré, pós, 30 min e 60 min após a sessão aguda de treino combinado crônico do grupo obeso. A – Pré x Pós, B – Pós x 30 min,

C – Pré x 30 min, D – Pós x 60 min, E – Pré x 60 min, F – 30 min x 60 min. Todos os modelos foram validados apresentando  $R^2Y > 0,9$ ,  $Q^2 \geq 0,5$  e  $p < 0,0001$ , exceto o modelo D que apresentou  $Q^2 = 0,41$  e  $p < 0,0001$ . O símbolo ' representa minutos. .... 69

Figura 24. Comparações entre os momentos de coleta pré, pós, 30 min e 60 min após a sessão aguda de treino combinado crônico do grupo DM2. A – Pré x Pós, B – Pós x 30 min, C – Pré x 30 min, D – Pós x 60 min, E – Pré x 60 min, F – 30 min x 60 min. Todos os modelos foram validados apresentando  $R^2Y > 0,9$ ,  $Q^2 \geq 0,5$  e  $p < 0,0001$ , exceto o modelo E que apresentou  $Q^2 = 0,42$  e  $p < 0,0001$ . O símbolo ' representa minutos. .... 70

Figura 25. Diagramas de Venn representando os metabólitos em comum ou únicos nas 6 comparações entre os tempos pré, pós, 30 min e 60 min do grupo eutrófico, nos 4 treinos. A – treino aeróbio (TA), B – treino de força (TF), C – treino combinado (TC), D – treino combinado crônico (TCC). Os números representam o número de metabólitos em cada comparação, sendo eles únicos ou compartilhados com os outros momentos. O símbolo ' representa minutos. .... 72

Figura 26. Diagramas de Venn representando os metabólitos em comum ou únicos nas 6 comparações entre os tempos pré, pós, 30 min e 60 min do grupo obeso, nos 4 treinos. A – treino aeróbio (TA), B – treino de força (TF), C – treino combinado (TC), D – treino combinado crônico (TCC). Os números representam o número de metabólitos em cada comparação, sendo eles únicos ou compartilhados com os outros momentos. O símbolo ' representa minutos. .... 77

Figura 27. Diagramas de Venn representando os metabólitos em comum ou únicos nas 6 comparações entre os tempos pré, pós, 30 min e 60 min do grupo diabéticos tipo 2 (DM2), nos 4 treinos. A – Treino aeróbio (TA), B – treino de força (TF), C – treino combinado (TC), D – treino combinado crônico (TCC). Os números representam o número de metabólitos em cada comparação, sendo eles únicos ou compartilhados com os outros momentos. O símbolo ' representa minutos. .... 82

Figura 28. Representação das classes de lipídios e espécies na comparação basal dos 3 grupos. A - Distribuição em porcentagem das classes de lipídios. B – Representação das principais espécies de lipídios dentro das classes. .... 88

Figura 29. Resumo de alguns mecanismos envolvendo as espécies lipídicas relacionadas à obesidade e diabetes tipo 2 encontradas na comparação entre os 3 grupos. As espécies de lipídios em azul representam glicerolipídios e ácidos graxos, os vermelhos são esfingolipídios. Criada utilizando o *BioRender*. .... 91

Figura 30. Representação das classes de lipídios e espécies na comparação controle x treino dos 3 grupos. A, B e C - Distribuição em porcentagem das classes de lipídios. D, E e F – Representação das principais espécies de lipídios dentro das classes. A e D – grupo eutrófico, B e E – grupo obeso, C e F – grupo DM2. .... 92

Figura 31. Diagrama de Venn mostrando as principais classes e espécies lipídicas em comum entre as comparações controle x treino dos três grupos. A – Espécies de lipídios em comum, B – metabólitos específicos em comum. .... 96

Figura 32. Resumo das principais alterações metabólicas causadas pelo TC. As setas em vermelho representam as direções e as relações entre os eventos. Já as setas em preto significam aumento (↑) ou diminuição (↓). As espécies de lipídios em azul representam glicerolipídios, em amarelo os ácidos graxos, os vermelhos são esfingolipídios e os roxos glicerofosfolipídios. Criada utilizando o *BioRender*. .... 97

Figura 33. Distribuição em porcentagem das classes de lipídios alteradas nas diferentes sessões agudas nos grupos eutrófico, obesos e DM2. A, B, C e D – Sessões aeróbio, força, combinado e combinado crônico, respectivamente, do grupo eutrófico. E, F, G e H – mesma ordem das sessões agudas no grupo obeso. I, J, K, L – mesma ordem das sessões agudas no grupo DM2. .... 98

Figura 34. Resumo das principais alterações metabólicas agudas do treino aeróbio (TA), treino de força (TF), e treino combinado (TC), no grupo eutrófico (Eu). Criada utilizando o <i>BioRender</i> . .....	101
Figura 35. Resumo das principais alterações metabólicas agudas do treino aeróbio (TA), treino de força (TF), e treino combinado (TC), no grupo obeso (OB). Criada utilizando o <i>BioRender</i> . .....	105
Figura 36. Resumo das principais alterações metabólicas agudas do treino aeróbio (TA), treino de força (TF), e treino combinado (TC), no grupo diabético tipo 2 (DM2). Criada utilizando o <i>BioRender</i> . .....	109
Figura 37. Diagrama de Venn representando a quantidade de espécies de lipídios em comum entre as sessões de TA, TF e TC (A, C, E) nos grupos, e também a quantidade de lipídios específicos em comum entre as sessões (B, D, F). ....	109
Figura 38. Diagramas de Venn representando o número de espécies de lipídios em comum entre grupos em cada treino (A,C,E,G) e o número de lipídios específicos comuns entre grupos em cada treino (B, D, F, H). ....	111
Figura 39. Diagrama de Venn representando o número de espécies de lipídios em comum entre as sessões agudas de treinamento combinado (TC) e treinamento combinado crônico (TCC) (A, C, E) e o número de lipídios específicos em comum (B, D, F), em cada grupo. .	112
Figura 40. Resumo das alterações metabólicas promovidas pelo exercício crônico e seu impacto na sessão aguda crônica de treinamento combinado (TCC). Criada utilizando o <i>BioRender</i> . .....	114

## Lista de Tabelas

Tabela 1. Dados Antropométricos e de Composição Corporal dos Grupos Eutrófico, Obeso e DM2.....	47
Tabela 2. Variáveis Bioquímicas e Hemodinâmicas dos Grupos Eutrófico, Obeso e DM2.....	48
Tabela 3. Distribuição de Macronutrientes entre os grupos e momentos. ....	49
Tabela 4. Dados de Aptidão Aeróbia e Força Muscular dos Grupos Eutrófico, Obeso e DM2.....	49
Tabela 5. Anotação dos marcadores significativos na diferenciação dos 3 grupos, de acordo com as <i>m/z</i> selecionadas no gráfico S-Plot.....	51
Tabela 6. Anotação dos marcadores significativos na comparação entre os grupos controle e treino do grupo eutrófico, de acordo com as <i>m/z</i> selecionadas no gráfico S-Plot.....	54
Tabela 7. Anotação dos marcadores significativos na comparação entre os grupos controle e treino do grupo obesos, de acordo com as <i>m/z</i> selecionadas no gráfico S-Plot.....	55
Tabela 8. Anotação dos marcadores significativos na comparação entre os grupos controle e treino do grupo diabéticos tipo 2. ....	57
Tabela 9. Principais metabólitos responsáveis pela segregação dos momentos (pré, pós, 30 min e 60 min) nos gráficos S-Plot, nos quatro treinos (TA, TF, TC e TCC) do grupo eutrófico. ....	71
Tabela 10. Metabólitos em comum entre as comparações de tempos intra e entre treinos no grupo eutrófico.....	73
Tabela 11. Anotação dos marcadores selecionados nas três sessões de treino agudas (aeróbio, força, combinado) e na sessão aguda crônica de combinado do grupo eutrófico. ....	74
Tabela 12. Principais metabólitos responsáveis pela segregação dos momentos (pré, pós, 30 min e 60 min) nos gráficos S-Plot, nos quatro treinos (TA, TF, TC e TCC) do grupo obesos. ....	76
Tabela 13. Metabólitos em comum entre as comparações de tempos intra e entre treinos no grupo obesos. Os números coloridos representam metabólitos comum entre os treinos.....	78
Tabela 14. Anotação dos marcadores selecionados nas três sessões de treino agudas (aeróbio, força, combinado) e na sessão aguda crônica de combinado do grupo obeso. ....	79
Tabela 15. Principais metabólitos responsáveis pela segregação dos momentos (pré, pós, 30 min e 60 min) nos gráficos S-Plot, nos quatro treinos (TA, TF, TC e TCC) do grupo diabético tipo 2 (DM2).....	81
Tabela 16. Metabólitos em comum entre as comparações de tempos intra e entre treinos no grupo DM2. Os números coloridos representam metabólitos comum entre os treinos. ....	83
Tabela 17. Anotação dos marcadores selecionados nas três sessões de treino agudas (aeróbio, força, combinado) e na sessão aguda crônica de combinado do grupo DM2.....	84

## Lista de Abreviaturas

' = minutos

AA = aminoácidos

ADP = adenosina difosfato

AGL = ácidos graxos livres

AMP cíclico = adenosina 3',5'-monofosfato cíclico

ATGL = lipase triglicéridica adiposa

ATP = adenosina trifosfato

BCAA = *branched-chain amino acids* – aminoácidos de cadeia ramificada

Car = carnitina

Cer = *ceramide* - ceramida

CerPe = *ceramide phosphoethanolamine* - ceramida fosfoetanolamina

CerP = *ceramide phosphate* - ceramida fosfato

CDP-DG = *cytidine diphosphate diacylglycerol* - Citidina difosfato diacilglicerol

CL = cardiolipina

DCV = doença cardiovascular

DCNT = doença crônica não-transmissível

DM2 = diabetes *mellitus* tipo 2

FA = *fatty acids* - ácidos graxos

FADH<sub>2</sub> = dinucleótido de flavina e adenina

DAG = diacilglicerol

GA2 = gangliosídeo GA2

GL = glicerolipídios

Glut 4 = transportador de glicose 4

GM3 = gangliosídeo GM3

GP = *glycerophospholipids* – glicerofosfolipídios

GTP = guanosina trifosfato

G3P = glicerol-3-fosfato

HDL = lipoproteína de alta densidade

HexCer = *hexosylceramide* - hexosilceramida

Hex2Cer = *dihexosylceramide* – dihexosilceramida

HOMA-IR = Homeostatic Model Assessment-Insulin Resistance

HSL = lipase hormônio-sensível

IkK = *Ikappa kinase*

IL-6 = interleucina 6

IL-10 = interleucina 10

IL1- $\beta$  = interleucina 1- $\beta$

IMC = índice de massa corpórea

IRS-1 = substrato 1 do receptor de insulina

JNK = *c-jun N-terminal kinase* - Proteína Cinase c-Jun Amino-Terminal

LC-MS = cromatografia líquida acoplada à espectrometria de massas

LDL = Lipoproteína de baixa intensidade

LPC = *lysophosphatidylcholine* - lisofosfatidilcolina

LPE = *lysophosphatidylethanolamine* – lisofosfatidiletalona

MGL = lipase de monoglicerídeos

MS = *mass spectrometry* - espectrometria de massas

MUFA = ácidos graxos monoinsaturados

M/z = massa/carga

NADH = nicotinamida Adenina Dinucleotídeo

NADPH = fosfato de dinucleotídeo de adenina e nicotinamida

NF- $\kappa\beta$  = fator Nuclear  $\kappa\beta$

NMR = *nuclear magnetic resonance*

OPLS-DA = análise ortogonal discriminante por mínimos quadrados parciais

PC = *phosphatidylcholine* – fosfatidilcolina

PCA = análise de componentes principais

PLS-DA = análise discriminante por mínimos quadrados parciais

PE = phosphatidylethanolamine - fosfatidiletalona

PG = *phosphatidylglycerol* – fosfatidilglicerol

PI = *phosphatidylinositol* - fosfatidilinositol

PI3K = fosfatidilinositol 3-quinase.

PUFA = ácidos graxos poliinsaturados

RI = resistência à insulina

RM = repetição máxima

ROS = espécies reativas de oxigênio

SM = *sphingomyelin* – esfingomielinas

SP = *sphingolipids* – esfingolípídios

S1P = esfingosina 1-fosfato

ST = *sterol lipids* – lípídios esteróis

TA = treinamento aeróbio

TF = treinamento de força

TC = treinamento combinado

TCC = treinamento combinado crônico

TLR = *toll-like receptors*

TNF- $\alpha$  = fator de necrose tumoral alfa

VLDL = lipoproteína de muito baixa densidade

VO<sub>2</sub>máx = consumo máximo de oxigênio

Un = *unknown* – desconhecido

## Sumário

1. INTRODUÇÃO.....	17
1.1. Hipótese.....	20
2. REVISÃO DE LITERATURA.....	20
2.1. Metabolismo.....	20
2.2. Resistência à insulina, obesidade e diabetes tipo 2.....	23
2.3. Lipídios.....	24
2.3.1. Ácidos Graxos.....	24
2.3.2. Glicerolipídios.....	27
2.3.3. Glicerofosfolipídios.....	28
2.3.4. Esfingolipídios.....	28
2.3.5. Lipídios Esteróis.....	29
2.3.6. Lipídios Prenóis.....	29
2.4. Lipidômica.....	30
2.5. Exercício físico, obesidade, diabetes e lipidômica.....	32
3. OBJETIVOS.....	35
3.1. Objetivo geral.....	35
3.2. Objetivos específicos.....	35
4. MÉTODOS.....	36
4.1. Seleção dos Voluntários.....	36
4.2. Avaliações.....	37
4.2.1. Avaliação Clínica Inicial.....	37
4.2.2. Questionários de Atividade Física.....	37
4.2.3. Antropometria e composição corporal.....	38
4.2.4. Coletas Sanguíneas.....	39
4.2.5. Análises Bioquímicas.....	39
4.2.6. Recordatório Alimentar.....	39
4.2.7. Avaliação da Força Muscular e Cardiorrespiratória.....	40
4.3. Protocolos de Treinamento.....	40
4.3.1. Protocolos Agudos.....	40
4.3.2. Protocolo Crônico TC.....	41
4.4. LIPIDÔMICA.....	43
4.4.1. Preparação da Amostra.....	43
4.4.2. Aquisição dos Espectros.....	43
4.4.3. Pré processamento dos dados.....	44
4.4.4. Anotação dos Marcadores.....	44

4.5. Análises Estatísticas .....	44
5. RESULTADOS.....	45
5.1. Questionários De Atividade Física.....	45
5.2. Antropometria e Composição Corporal.....	45
5.3. Variáveis Bioquímicas .....	45
5.4. Avaliação Alimentar.....	46
5.5. Consumo Máximo de Oxigênio (VO <sub>2</sub> máx) e Força Muscular (1RM).....	46
5.6. Alterações Metabólicas Crônicas – Comparação Basal dos 3 grupos .....	50
5.7. Alterações Metabólicas Crônicas Nos Grupos Controle .....	52
5.8. Alterações Metabólicas Crônicas no Grupo Eutrófico .....	53
5.9. Alterações Metabólicas Crônicas No Grupo Obeso .....	54
5.10. Alterações Metabólicas Crônicas no Grupo DM2.....	56
5.11. Alterações Metabólicas Agudas .....	58
6. DISCUSSÃO .....	86
6.1. Comparação metabólica basal dos 3 grupos.....	88
6.2. Alterações Lipídicas Crônicas Promovidas pelo Treinamento Combinado .....	91
6.3. Alterações Lipídicas Agudas .....	97
6.3.1. Alterações lipídicas agudas TA, TF e TC em cada grupo.....	98
6.3.2. Alterações lipídicas Concorrentes ou Combinadas entre sessões e grupos .....	107
6.3.3. Alterações Metabólicas Agudas – Crônicas ao TC entre Grupos.....	111
6.5. Limitações.....	115
7. CONCLUSÃO .....	116
Referências Bibliográficas.....	118
ANEXO 1 – Comitê de Ética.....	132
ANEXO 2 – Emenda Comitê de Ética.....	133
ANEXO 3 – Clinical Trial .....	134

## 1. INTRODUÇÃO

A ciência tem avançado cada dia mais na área de biologia celular e molecular. Desde o Projeto Genoma Humano os cientistas tiveram uma nova visão de biologia, o que é chamado Biologia de Sistemas. Ao contrário da biologia tradicional que estuda genes ou proteínas individualmente, a Biologia de Sistemas busca uma visão ampla e integrada dos sistemas, das vias metabólicas e suas conexões. Trata-se de uma abordagem holística para desvendar a complexidade dos sistemas biológicos, partindo da ideia de que o todo é maior que a soma das partes. É uma área de estudos interdisciplinar, a qual integra conhecimento da biologia, química, física, matemática, ciência da computação, bioinformática, entre outras. Pode-se dizer que a biologia de sistemas tem o potencial de explorar novos caminhos, através da utilização da tecnologia e das ciências ômicas (PINU *et al.*, 2019).

A partir desse avanço com a biologia dos sistemas, uma nova porta foi aberta para entender a interação entre as ciências “ômicas” (genômica, proteômica, transcriptômica e metabolômica), utilizando técnicas analíticas, como espectrometria de massas acoplada à outras técnicas como cromatografia líquida (LC-MS), gasosa (GC-MS), eletroforese capilar (CE-MS) e a ressonância magnética nuclear (NMR) (MISRA *et al.*, 2019). A metabolômica, em especial, faz a identificação e quantificação de metabólitos, os quais são pequenas moléculas que podem ser quimicamente transformadas e reproduzir uma leitura funcional do estado fisiológico do organismo (JOHNSON; IVANISEVIC; SIUZDAK, 2016; PATTI; YANES; SIUZDAK, 2012). Dentro do campo de estudo da metabolômica, há uma subárea chamada lipidômica, que direciona o estudo apenas à classe dos lipídios.

O conjunto de metabólitos presentes no organismo sob uma condição fisiológica em um determinado momento é chamado de metaboloma (FIEHN, 2002; PSYCHOGIOS *et al.*, 2011). Já o conjunto dos lipídios é chamado lipidoma e esses variam com o sexo, idade, nutrição, estilo de vida e doença (OREŠIČ; HÄNNINEN; VIDAL-PUIG, 2008; QUEHENBERGER; DENNIS, 2011). Os metabólitos são substratos e produtos finais do metabolismo celular que possuem funções essenciais como produção de energia, estocagem, transdução de sinais e apoptose (JOHNSON; IVANISEVIC; SIUZDAK, 2016).

Além de fazer a caracterização bioquímica de lipídios, a lipidômica também permite uma compreensão mais abrangente da influência de lipídios em um sistema biológico e os mecanismos envolvidos na manutenção da homeostase lipídica (SWINNEN; DEHAIRS, 2022). A lipidômica clínica vem crescendo e ganhando destaque constantemente, principalmente porque um desequilíbrio no metabolismo lipídico está ligado a diversas doenças crônicas e metabólicas, como obesidade e diabetes tipo 2 (LYDIC; GOO, 2018). Por meio dessas abordagens, é possível ter uma análise ao longo do tempo para observar as

mudanças no metabolismo pelas alterações das concentrações dos metabólitos (OLIVER A. H. JONES, 2014), caracterizar perfis metabólicos (KRUMSIEK *et al.*, 2015; ZHANG, Shucha *et al.*, 2012) e encontrar possíveis biomarcadores com importante papel como ferramenta de diagnóstico de doenças em pacientes (GRIFFIN; NICHOLLS, 2006; MAMAS *et al.*, 2011; YANG, Li *et al.*, 2016).

A obesidade é uma doença endócrina metabólica multifatorial considerada uma doença crônica não transmissível (DCNT) que mais se destacou negativamente nos últimos anos (CHOOI; DING; MAGKOS, 2019; GONZÁLEZ-MUNIESA *et al.*, 2017). No Brasil, dados mostram que cerca de 57,2% da população está com excesso de peso, sendo maior em homens (59,9%) do que em mulheres (55,0%). Além disso, cerca de 22,4% da população brasileira é obesa, mantendo um equilíbrio entre mulheres (22,6%) e homens (22%) (SAÚDE *et al.*, 2022). Um atlas da obesidade publicado em 2022 pela Federação Mundial de Obesidade fez uma projeção de que em 2030, um bilhão de pessoas no mundo, sendo 1 em cada 5 mulheres, e 1 em cada 7 homens, viverão com obesidade (THE WORLD OBESITY FEDERATION, 2022).

O maior acúmulo de tecido adiposo é localizado principalmente nos compartimentos subcutâneo-visceral, dividido de acordo com sua localização e especificidade celular em tecido adiposo branco (TAB) e tecido adiposo marrom (TAM) (SEALE, 2013). O TAB é um tecido conjuntivo composto por adipócitos, vasos, fibroblastos e infiltrados de células do sistema imunológico, que tem características de um órgão endócrino e pode secretar moléculas (citocinas e adipocinas) mediadoras e moduladoras da inflamação (fator de necrose tumoral alfa (TNF alfa), interleucina 6 (IL6)) além de estimular em função disso, a produção das mesmas por outros tecidos e células (CHOE *et al.*, 2016). A desregulação na produção dessas citocinas, em relação ao excesso de peso, acarreta em disfunções metabólicas, causando um estado de inflamação de baixo grau propício ao desenvolvimento de DCNTs, como a resistência à insulina (RI), Diabetes *Mellitus* tipo 2 (DM2), entre outras (SHOELSON, 2006).

A inflamação decorrente da obesidade altera etapas da sinalização da insulina devido ao aumento das concentrações de citocinas e adipocinas pró-inflamatórias como TNF $\alpha$ , resistina, IL1- $\beta$ , entre outras. Ocorre uma redução da concentração e atividade do receptor de insulina IRS-1, conseqüentemente reduzindo a atividade da enzima PI3K (fosfatidilinositol 3-quinase). Os ácidos graxos livres (AGL) influenciam no desenvolvimento da RI pois ativam os receptores tipo Toll-like 2 e 4 (TLR) na membrana, desencadeando uma cascata de ativações de JNK (c-jun N-terminal kinase), I $\kappa$ K (I $\kappa$  kappa kinase) e NF- $\kappa$ B. A fosforilação dos resíduos de IRS-1 em resíduos de tirosina são alvos das moléculas pró-inflamatórias, prejudicando a translocação do GLUT4, levando à RI (FENG *et al.*, 2020;

FREITAS; CESCHINI; RAMALLO, 2014). Além disso, algumas acilcarnitinas elevadas no plasma de indivíduos com DM2 podem desencadear a expressão gênica de NF- $\kappa$ B, sugerindo que esses metabólitos também possam exercer atividade pró-inflamatória (FIEHN *et al.*, 2010).

Várias classes de lipídios estão sendo relacionadas à RI (CAO *et al.*, 2008). As ceramidas, geradas a partir da hidrólise de esfingomielina, são catalisadas pela enzima esfingomielinase. A ativação dessa enzima e a geração das ceramidas estão envolvidas no mecanismo de ação do TNF- $\alpha$  e da inflamação, tendo papel crucial na RI (ADAMS *et al.*, 2003). As ceramidas (Cer) são consideradas intermediárias, ligando-se aos receptores tipo Toll 4 (TLR4) na indução da RI (HOLLAND *et al.*, 2011). Já foram encontradas fortes correlações entre ceramidas plasmáticas, citocinas pró-inflamatórias circulantes e RI (SOKOLOWSKA; BLACHNIO-ZABIELSKA, 2019)

As concentrações elevadas de Cer plasmáticas também já foram correlacionados com doença arterial coronariana (RAI; BHATNAGAR, 2017; YEBOAH *et al.*, 2010). O aumento das Cer circulantes também foi observado em indivíduos obesos e diabéticos tipo 1 (HAUS *et al.*, 2009), além de observarem correlações entre RI e elevadas concentrações de TNF- $\alpha$ . Assim, a elevação das Cer plasmáticas pode ser considerada um marcador de RI, risco de aterosclerose e inflamação induzida pela obesidade. Além das Cer, outras classes de lipídios estão sendo bastante investigadas na relação com a RI, entre elas os ácidos graxos saturados, esfingolipídios (SP) e glicerofosfolipídios (GPs) (RAI; BHATNAGAR, 2017).

Por outro lado, a prática regular de exercícios físicos traz benefícios importantes à saúde como a melhora na RI (WHILLIER, 2020), na saúde cardiovascular (PINCKARD; BASKIN; STANFORD, 2019), além de promover aumento da secreção de citocinas anti-inflamatórias, revertendo esse quadro de inflamação subclínica (PEDERSEN, 2017). Já foi demonstrado na literatura que o TC possui melhores efeitos para a melhora da saúde do que o TA e TF isolados em indivíduos de meia idade (LIBARDI *et al.*, 2012), obesos e/ou idosos (VILLAREAL *et al.*, 2017), adolescentes (DÂMASO *et al.*, 2014) e diabéticos tipo 2 (AGUIAR *et al.*, 2014; MAIORANA *et al.*, 2002), uma vez que ocorre uma soma dos benefícios de ambas as práticas. O TC realizado por indivíduos com sobrepeso e obesidade da meia idade, e na adolescência, apresentou uma melhora na composição corporal, melhora metabólica, redução da inflamação, aumento da aptidão cardiovascular-respiratória, aumento da força e da massa muscular, redução da circunferência de cintura, melhora na sensibilidade à insulina e na captação de glicose pelo músculo, mobilização de gordura visceral e subcutânea, consequentemente melhorando a RI (BONFANTE *et al.*, 2017; BRUNELLI *et al.*, 2015; LOPES *et al.*, 2016) Além desses benefícios, também já foi demonstrado que o TC é melhor do que

o TA e TF isolados para a melhora da saúde e controle glicêmico em DM2 (CHURCH et al., 2010a, 2010b; COLBERG et al., 2010; MAIORANA et al., 2002; SIGAL et al., 2007).

Sabendo das alterações metabólicas que a obesidade, RI e diabetes podem provocar no organismo, e os benefícios que o exercício físico promove, utilizar a lipidômica para investigar as perturbações causadas no metabolismo lipídico é uma excelente estratégia para estudar a dinâmica que ocorrem nos sistemas biológicos (GRIFFIN; NICHOLLS, 2006; ZAMBONI; SAGHATELIAN; PATTI, 2015). O TC também já foi visto como uma importante ferramenta para alterar o perfil metabolômico em obesos de meia-idade e adolescentes (DUFT, R.G. *et al.*, 2020; DUFT, Renata G. *et al.*, 2017), porém ainda há uma lacuna na literatura em entender as respostas lipídicas decorrentes do TC em diferentes populações, com e sem comorbidade, além de diferenças entre sessões agudas isoladas de exercício aeróbio, força ou combinados, com volumes igualados, em populações diferentes.

### 1.1. Hipótese

Entre as principais hipóteses deste estudo estão:

- As sessões agudas de exercício aeróbio, força e combinado, mesmo em intensidade moderada, irão alterar o lipidoma dos 3 grupos;
- Diferentes espécies lipídicas serão alteradas agudamente entre treinos e entre grupo;
- A resposta aguda e aguda-crônica ao TC serão diferentes;
- As sessões de TA e TF terão um efeito metabólico combinado no TC, assim como os efeitos funcionais e marcadores clínicos já explorados na literatura.
- Cronicamente o TC irá promover os benefícios já conhecidos, além de proporcionar uma mudança no lipidoma desses indivíduos, trazendo novos candidatos a biomarcadores para entender melhor os mecanismos e vias metabólicas e contribuir para a medicina personalizada.

## 2. REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1. Metabolismo

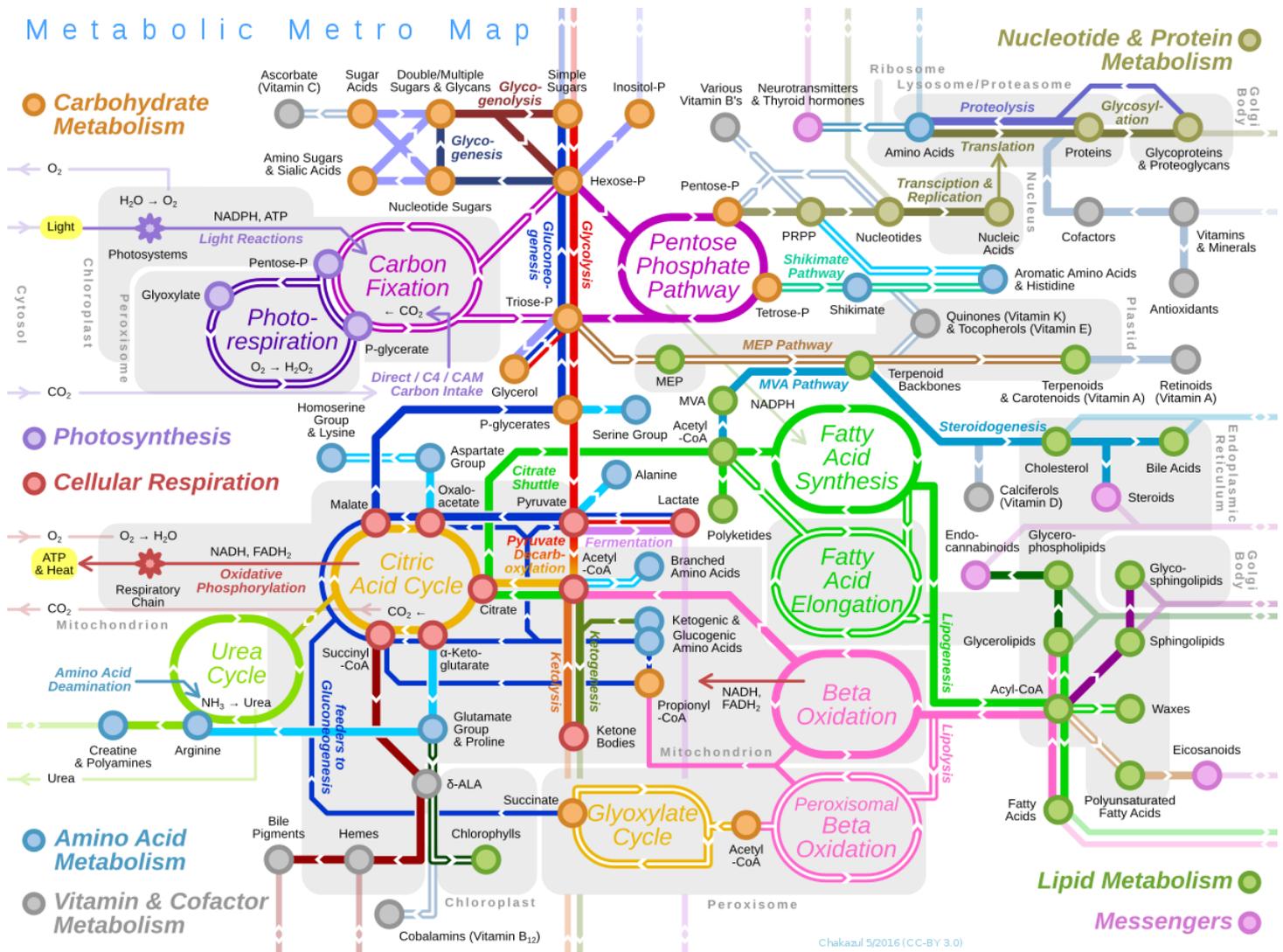
A origem da palavra metabolismo vem do grego "*metábole*" = mudança, e pode ser definida como a soma de todas as reações químicas que ocorrem contínua e

simultaneamente dentro de cada célula, em decorrência de diferentes estímulos, como a alimentação, jejum, exercício físico ou doenças, para manter um organismo vivo e saudável. Essas reações são organizadas em vias metabólicas e são normalmente interligadas entre si, podendo ser divididas em duas principais categorias: anabólicas e catabólicas. As vias anabólicas são aquelas de síntese e construção, como a formação de glicogênio muscular, síntese e estoque de ácidos graxos em formato de triglicerídeos no tecido adiposo, síntese de proteínas, entre outras. Já as vias catabólicas são as de quebra de moléculas complexas, como carboidratos, proteínas e lipídios, em moléculas simples, geralmente liberando energia química em forma de ADP, GTP, NADH, NADPH, FADH<sub>2</sub>, como a glicólise, beta-oxidação, lipólise. E por fim há vias que podem ter ambos os tipos de reação, como o ciclo do ácido cítrico (Krebs) (KEITH N FRAYN, 2010). A Figura 1 representa um mapa metabólico com as diversas vias metabólicas e suas conexões.

As reações metabólicas são catalisadas por enzimas específicas a cada etapa, as quais são cruciais para a regulação metabólica, uma vez que elas permitem que o fluxo de reações ocorra ou não, baseado na necessidade do organismo, em relação à disponibilidade de substrato e intermediários (NELSON; COX, 2018). Há também a regulação metabólica mediada por hormônios, como cortisol, epinefrina, norepinefrina, insulina, glucagon, os quais atuam nas células-alvo, ligando-se a receptores específicos na superfície da célula, intracelulares ou intranucleares (VOET; VOET, 2011). A ligação do hormônio ao seu receptor acoplado na membrana celular desencadeia uma transdução de sinal (mediada pela fosforilação ou desfosforilação de proteínas, como receptores de insulina, adrenérgicos, proteína G) e uma amplificação em uma complexa cascata de sinalização. As moléculas que participam dessas cascatas às vezes são chamadas de "segundos mensageiros", podendo ser eles cAMP ou AMP cíclico (adenosina 3',5'-monofosfato cíclico), cGMP, íons de cálcio Ca<sup>2+</sup>, fosfatidilinositol e compostos relacionados (VOET; VOET, 2011).

Em geral, o metabolismo pode ser considerado uma linha de produção química muito bem organizada e caótica ao mesmo tempo, dividida entre enzimas operárias que fazem as reações químicas acontecerem, hormônios fiscais de produção reguladores, e os produtos (metabólitos) passando por diversas etapas de montagem. Há metabólitos considerados matérias-primas (precursores), alguns produtos semiacabados (intermediários) e materiais residuais sendo constantemente utilizados, produzidos, transformados, transportados e excretados. O principal meio de transporte de substâncias entre tecidos é a corrente sanguínea. O plasma sanguíneo é uma mistura aquosa de sais, moléculas orgânicas e células como glicose, aminoácidos, peptídeos, proteínas, lipídios, glóbulos vermelhos. Já o soro sanguíneo é bem semelhante ao plasma, porém não apresenta fibrinogênio, usada no processo de coagulação. Por isso a mensuração de substâncias presentes no soro ou plasma

para entender melhor o metabolismo é de extrema importância (KEITH N FRAYN, 2010; VOET, DONALD; VOET, JUDITH G.; PRATT, 2016).



**Figura 1.** Representação das vias metabólicas interconectadas. As linhas simples representam vias metabólicas comuns a quase todas as formas de vida, já as linhas duplas não ocorrem em humanos. Nós laranjas: metabolismo de carboidratos, violetas: fotossíntese, vermelho: respiração celular, rosa: sinalização celular, azul: metabolismo de amino ácidos, cinza: metabolismo de vitaminas e cofatores, marrom: metabolismo de nucleotídeos e proteínas, verde: metabolismo de lipídios. Fonte: [https://commons.wikimedia.org/wiki/Category:Metabolic\\_pathways](https://commons.wikimedia.org/wiki/Category:Metabolic_pathways)

Toda essa organização metabólica, quando em harmonia, permite que o organismo se mantenha vivo e saudável. Porém, quando há algum tipo de distúrbio metabólico, que pode ser causado por um estilo de vida não saudável, incluindo má alimentação, sedentarismo, estresse excessivo, aumenta - se o risco de desenvolver doenças crônicas como obesidade, diabetes, doenças cardiovasculares, entre outras.

## 2.2. Resistência à insulina, obesidade e diabetes tipo 2

A obesidade tem aumentado substancialmente nas últimas décadas, chegando a níveis pandêmicos. A Federação Mundial de Obesidade, a Federação Americana de Obesidade e Associações Médicas Canadenses já declararam a obesidade uma doença progressiva crônica e não apenas um fator de risco para outras doenças, a qual é caracterizada por um desbalanço energético a longo prazo entre uma abundância de calorias ingeridas e pouca quantidade de calorias gastas durante o dia. Esse excesso de energia será estocado em forma de tecido adiposo (BLÜHER, 2019).

O acúmulo de tecido adiposo leva a diversos distúrbios, como RI, DM2 e doenças cardiovasculares. A obesidade é a principal responsável pelo desenvolvimento de comorbidades como a RI nos músculos esqueléticos e no fígado. Além dela, a intolerância à glicose, hipertrigliceridemia, baixo colesterol HDL (lipoproteína de alta densidade), hipertensão, aterosclerose e capacidade fibrinolítica diminuída são fatores que contribuem para o risco cardiometabólico, aumentando significativamente o risco para doenças cardiovasculares. Segundo a Federação Internacional de Diabetes, em 2019 cerca de 463 milhões de adultos estavam vivendo com DM2 no mundo, e dados projetam que em 2045 cerca de 700 milhões terão DM2 (INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2019).

A RI é definida como uma diminuição da resposta dos tecidos periféricos à ação da insulina e, conseqüentemente, comprometimento no armazenamento pós-prandial de nutrientes, principalmente no músculo esquelético, no fígado e tecido adiposo. Durante a fase de resistência, as ilhotas pancreáticas ainda não estão danificadas e respondem a concentrações elevadas de glicose no sangue, levando a um excesso de secreção de insulina, resultando em sua hipertrofia e necrose. A insulina é responsável por aumentar a lipogênese e a síntese proteica e de glicogênio, suprimindo a produção e liberação de glicose hepática. A RI causa desregulação desses processos e está relacionada à inibição da cascata de transdução de sinais para o receptor de insulina, e fosforilação dos substratos proteicos do receptor de insulina, principalmente o IRS-1 (SANTORO; MCGRAW; KAHN, 2021; SHOELSON, 2006). Como consequência de manter continuamente altas concentrações de insulina no sangue, tecidos periféricos tornam-se resistentes a esse hormônio. Além disso, diversas classes de lipídios como as ceramidas, diacilgliceróis, acilcarnitinas de cadeia curta, espécies reativas de oxigênio (ROS), aminoácidos de cadeia ramificada e outros metabólitos, os quais foram todos apontados como antagonistas da ação da insulina, ou seja, a sua presença faz com que o mecanismo de ação da insulina seja prejudicado, levando à resistência desse hormônio (SOKOLOWSKA; BLACHNIO-ZABIELSKA, 2019).

No músculo e no tecido adiposo, a via de sinalização Akt/proteína quinase B (AKT/PKB) estimula a transferência do transportador de glicose insulino-dependente (Glut 4) de dentro da célula para a membrana, facilitando o influxo de glicose para as células musculares (FLORES-OPAZO; MCGEE; HARGREAVES, 2020). A Akt/PKB também promove o transporte de aminoácidos, vasodilatação por ativação da enzima óxido nítrico sintase, estimula a síntese de glicogênio no fígado, além de induzir a síntese proteica nos músculos. No tecido adiposo, promove a síntese de ácidos graxos, que está ligada ao acúmulo de gordura visceral. O acúmulo de lipídios intramusculares, principalmente diacilgliceróis (DAG), Cer e acil-CoA de cadeia longa tem sido proposto como peças-chave na indução da RI. Além de Cer, outros esfingolipídios como esfingosina (Sph) e esfingosina 1-fosfato (S1P) estão relacionados com inflamação e desregulação metabólica (SOKOLOWSKA; BLACHNIO-ZABIELSKA, 2019).

### 2.3. Lipídios

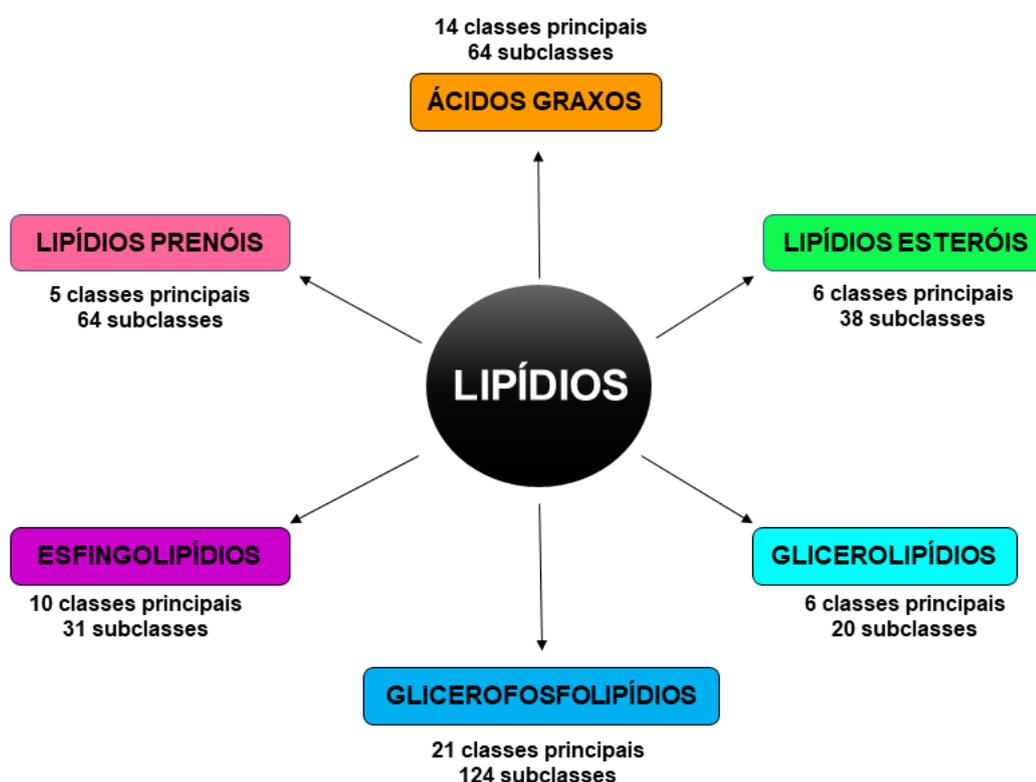
Os lipídios desempenham papéis essenciais no metabolismo energético e na sinalização celular, além de serem componentes constituintes das membranas plasmáticas e partículas lipídicas, como lipoproteínas e vesículas extracelulares. A desregulação do metabolismo lipídico está associada a doenças cardiovasculares, DM2, Alzheimer, câncer, esteatose hepática não alcoólica, entre outras (MEIKLE *et al.*, 2021).

Existem 8 principais classes de lipídios conforme a plataforma digital do consórcio LIPID MAPS (*Lipids Metabolites and Pathways Strategy*), são elas: ácidos graxos (FA), glicerolipídios (GL), glicerofosfolipídios (GP), esfingolipídios (SP), lipídios esteróis (ST), lipídios prenóis (PR), sacarolipídios (SL) e policetídeos (PK). Essas 8 categorias apresentam um total de 84 classes principais e 338 subclasses atualmente, pois são constantemente atualizadas segundo o descobrimento de novas moléculas (LIEBISCH *et al.*, 2020). Porém, no lipidoma de humanos, encontramos apenas 6 dessas classes, excluindo policetídeos e sacarolipídios, os quais estão representadas na Figura 2, exemplificando a divisão de categorias, classes e subclasses dos lipídios.

#### 2.3.1. Ácidos Graxos

Os ácidos graxos são ácidos carboxílicos com cadeias de comprimento entre 4 e 36 carbonos (C<sub>4</sub> a C<sub>36</sub>), podendo essas serem totalmente saturadas (sem ligações duplas) e não ramificadas ou com uma, ou mais ligações duplas (mono (MUFA) ou polinsaturados (PUFA)), respectivamente. Os ácidos graxos de cadeia longa possuem funções cruciais em mamíferos, por serem constituintes essenciais de fosfolipídios na formação de membranas

biológicas; atuam como substratos para a produção de trifosfato de adenosina (ATP) no tecido muscular, coração e fígado, os quais são usados na termogênese no músculo e tecido adiposo marrom (BAT); são moléculas sinalizadoras em processos metabólicos; e reguladores da expressão gênica (RIDGWAY, N; MCLEOD, 2015).



**Figura 2.** Principais classes e subclasses de lipídios de acordo com o consórcio *LIPID MAPS* (*Lipids Metabolites and Pathways Strategy*).

A grande parte dos ácidos graxos são obtidos na dieta, porém o ácido palmítico (C16:0), o ácido mirístico (C14:0) em proporção menor e o ácido esteárico (C18:0) podem ser sintetizados a partir do excesso de carboidratos em tecidos lipogênicos, como o fígado, glândulas adiposas e mamárias. O ácido linoleico (18: 2n-6) e ácido  $\alpha$ -linolênico (18: 3n-3), ômega 6 e 3 respectivamente, são ácidos graxos essenciais e devem ser obtidos exclusivamente da dieta (HODSON; ROSQVIST; PARRY, 2020).

Os ácidos graxos ingeridos na dieta são degradados no lúmen do intestino delgado. Os sais biliares emulsificam os lipídios ingeridos em micelas mistas e TAGs, agindo como detergentes biológicos. As lipases intestinais degradam os TAGs em mono (MAG) e DAGs, FA e glicerol. Esses produtos se difundem pelas células epiteliais do intestino, onde

são reconvertidos a TAGs e empacotados com o colesterol da dieta e lipoproteínas específicas, os quilomícrons. As apolipoproteínas agem ligando-se a lipídios no sangue para realizar o transporte de TAGs, GPs, colesterol, ésteres entre os órgãos. A parte proteica das lipoproteínas são reconhecidas por receptores nas membranas celulares e na absorção no intestino. Os quilomícrons que contêm a apolipoproteína C-II (apoC-II), deslocam da mucosa intestinal para o sistema linfático e entram no sangue em direção aos músculos e tecido adiposo. Nos capilares desses tecidos ocorre a hidrólise de TAGs em FA e glicerol pela enzima lipase lipoproteica (ativada pela apoC-II). Esses são então absorvidos pelas células nos tecido-alvos. No músculo esses FAs são oxidados para obtenção de energia, enquanto no tecido adiposo eles são reesterificados para armazenamento em TAGs (ZHANG, Yan *et al.*, 2021). Para serem metabolizados dentro das células, os ácidos graxos precisam ser ligados a proteínas ligadoras de ácidos graxos na membrana celular e no citosol, com o papel principal de facilitarem sua captação: proteína ligadora de ácidos graxos da membrana plasmática (FABP<sub>m</sub>), a translocase de ácido graxo (FAT), a proteína transportadora de ácido graxo (FATP) e a proteína ligadora de ácidos graxos citosólica (FABP)(BONEN; MISKOVIC; KIENS, 1999).

Os lipídios neutros (FAs, colesterol, ésteres de colesterol e TAGs) são armazenados nos adipócitos (gotículas lipídicas) na forma de TAGs envoltos por GPs. Sua superfície é revestida por proteínas chamadas perilipinas, as quais restringem o acesso às gotículas a fim de evitar uma mobilização prematura desses lipídios. Quando há demanda de energia metabólica, ocorre sinalização hormonal e os TAGs armazenados são mobilizados e transportados aos tecidos alvo, onde os FA serão oxidados para produção de energia. A lipólise depende da ativação da enzima lipase hormônio-sensível (HSL), lipase triglicéridica adiposa (ATGL) e lipase de monoglicerídeos (MGL). A sua ativação se dá por meio de fosforilação em serina, pela ação da proteína-cinase dependente de cAMP (PKA). Este processo é estimulado principalmente por catecolaminas, como epinefrina e norepinefrina, e ocorre durante o jejum ou em condições de grande demanda de energia metabólica, como o exercício físico e certas situações de estresse, nas quais há uma intensa solicitação simpática. A enzima adenil ciclase na membrana dos adipócitos é ativada, produzindo um segundo mensageiro intracelular AMP cíclico (cAMP), que ativa a PKa que vai atuar nas perilipinas, as quais são fosforiladas e se deslocam da superfície das gotículas, dispersam pelo citosol e permitem o acesso da HSL ao seu substrato, o TAG (BARBOSA; SAVAGE; SINIOSSOGLU, 2015). Os FAs formados se ligam à FABP sendo levados à membrana celular, onde são liberados para o meio extracelular mediante o transporte através da FATP. O glicerol é transportado para o exterior celular através de transportadores específicos, proteínas pertencentes à família das aquagliceroporinas (ARNER, 2005).

A oxidação de ácidos graxos ocorre na matriz mitocondrial, onde estão localizadas as enzimas responsáveis pelo processo. Os FAs que possuem menos de 14 carbonos conseguem entrar na mitocôndria sem precisar de transportadores, já os que possuem mais não conseguem passar livremente e precisam ser mediados pela carnitina no ciclo da carnitina, sendo considerado um ponto de regulação (ponto limitante) do processo. Durante a primeira etapa do processo ocorre a  $\beta$ -oxidação, que consiste na remoção sucessiva de duas unidades de carbonos na forma de acetil-CoA a cada volta no ciclo. Na segunda etapa, esses grupos acetil são oxidados no ciclo do ácido cítrico a  $\text{CO}_2$  e água. Essas duas etapas produzem transportadores de elétrons NADH e  $\text{FADH}_2$  que na terceira etapa doam os elétrons na cadeia respiratória mitocondrial para a produção de ATP. O acetil-CoA produzido no fígado durante a oxidação de FA pode entrar no ciclo do ácido cítrico ou ser convertido a corpos cetônicos (acetona, acetoacetato e  $\beta$ -hidroxibutirato para serem exportados para outros tecidos e usados como combustível energético (ADEVA-ANDANY *et al.*, 2019; VOET; VOET, 2011).

### 2.3.2. Glicerolipídios

Os GLs representam uma grande parcela dos lipídios totais encontrados no plasma humano, constituídos por 6 classes e 20 subclasses, entre elas os MAG, DAG e TAGs são os mais conhecidos. Essa concentração de TAGs no plasma é dependente da alimentação e está distribuída entre os quilomícrons e lipoproteínas de muito baixa densidade (VLDL). Alguns fatores podem levar a um aumento dessas concentrações, causando uma hipertrigliceridemia (dislipidemia fortemente associada ao risco prematuro de doenças coronariana arterial), entre eles estão determinantes genéticos, obesidade, diabetes mellitus descontrolada e sedentarismo (QUEHENBERGER; DENNIS, 2011). Apesar dessa grande capacidade de armazenamento de TAGs no tecido adiposo, quando excedida (obesidade) ou acometida por alguma disfunção (lipodistrofia), faz com que o armazenamento ectópico de TAG ocorra em tecidos como fígado, músculo esquelético e cardíaco e células beta pancreáticas, levando à doença hepática gordurosa não alcoólica e RI (WANG, Huan; AIROLA; REUE, 2017).

Os DAGs são sintetizados a partir do glicerol-3-fosfato ou a partir de dihidroxiacetona-3-fosfato (um intermediário da glicólise). Possuem importantes funções no metabolismo, entre elas, ser precursor da formação de TAGs e atuar como segundo mensageiro ativando a proteína quinase C, a qual catalisa a fosforilação de diversas proteínas, como a PI3K, IRS-1, podendo levar a RI. Assim como as Cers, os DAGs tem papel no mecanismo da lipotoxicidade, que pode também levar à RI (LAIR *et al.*, 2020).

### 2.3.3. Glicerofosfolipídios

Os GPs são os mais abundantes entre os lipídios, possuindo 21 classes e 124 subclasses. São os principais componentes das membranas, sendo sintetizados a partir da adição de dois acil-CoAs ao glicerol-3-fosfato (G3P), o qual é um produto da glicólise, pela via chamada de novo. O ácido fosfatídico (PA) é um precursor do difosfato de citidina - DAG (CDP-DAG), o qual é usado na síntese de fosfatidilcolina (PC), fosfatidiletanolamina (PE), fosfatidilserina (PS), fosfatidilinositol (PI), fosfatidilglicerol (PG) e a cardiolipina (CL). A desfosforilação de PA em DAG é uma etapa crucial que controla a biossíntese de fosfolipídios e também o armazenamento energético em forma de TAG (HISHIKAWA *et al.*, 2014; RIDGWAY, N; MCLEOD, 2015; RIDGWAY, Neale D., 2016; VAN MEER; VOELKER; FEIGENSON, 2008)

A composição de glicerofosfolipídios difere entre os tipos de células, organelas e membranas internas / externas em mamíferos e sua principal função é a formação das membranas celulares de todos os organismos e organelas dentro das células. As membranas celulares são constituídas de uma bicamada de fosfolipídios com resíduos de FA hidrofóbicos voltados mutualmente para dentro e as cabeças hidrofílicas orientadas para fora (citossol). A saturação dos FA tem influência na organização da membrana, por exemplo, os FA saturados conferem à membrana uma rigidez maior, ao passo que os FA insaturados e a incorporação de outros lipídios, como o colesterol fazem com que o arranjo e a compactação diminuam, possuindo um comportamento mais fluido. Eles também possuem funções na sinalização celular, no metabolismo e na função mitocondrial (HISHIKAWA *et al.*, 2014).

### 2.3.4. Esfingolipídios

Os esfingolipídios (SP) são a quarta maior classe de lipídios de membrana com 10 classes principais e 31 subclasses. Possuem uma cabeça polar e duas caudas apolares; contudo, o que os difere dos glicerofosfolipídios e galactolipídios é a ausência do glicerol. Os SP são compostos por uma molécula de aminoálcool, esfingosina de cadeia longa ou um de seus derivados, uma molécula de um ácido graxo de cadeia longa e um grupo polar unido por uma ligação glicosídica ou fosfodiéster. Quando temos uma ligação de um FA em uma ligação amida -NH<sub>2</sub> no C-2, o composto resultante é uma Cer, a qual possui estrutura similar ao DAG. A Cer é precursora de todos os SPs (VANCE, JEAN E.; VANCE, 2016).

Entre as classes e subclasses de esfingolipídios, há 3 que se destacam, sendo elas as esfingomielinas, glicolipídios neutros e gangliosídeos. As esfingomielinas estão

presentes nas membranas plasmáticas de células animais, especialmente na bainha de mielina que envolve e isola os axônios de alguns neurônios. Os glicoesfingolipídios ocorrem na face externa da membrana plasmática, não possuem fosfato e contêm açúcares conectados ao OH no C1 da porção Cer. Os cerebrosídeos possuem apenas um açúcar ligado à Cer. Os que possuem galactose são encontrados em células de tecido neural, enquanto os que possuem glicose nas membranas de tecidos não neurais. Os globosídeos geralmente possuem dois ou mais açúcares e podem ser chamados de glicolipídios neutros. Já os gangliosídeos são os mais complexos, tendo oligossacarídeos como grupo na cabeça polar e resíduos de N-acetilneuramínico (Neu5AC), um ácido siálico. Os SP também podem servir como fontes de mensageiros intracelulares (HANNUN; OBEID, 2017). O acúmulo de Cer tem sido considerado uma marca registrada na manifestação de várias distúrbios metabólicos relacionadas à obesidade, como DM2 e aterosclerose (TURPIN-NOLAN; BRÜNING, 2020).

### **2.3.5. Lipídios Esteróis**

Os esteróis são lipídios estruturais presentes nas membranas da maioria das células eucarióticas. Possuem 6 classes principais e 38 subclasses. Além de possuir um papel como constituinte da membrana, os lipídios esteróis servem como precursores para vários produtos com atividades biológicas específicas e os hormônios esteroides são potentes sinalizadores biológicos reguladores da expressão gênica. O colesterol é o principal lipídio esterol nos tecidos animais, sendo esse anfipático, com um grupo cabeça polar e um corpo hidrocarbonado apolar. Ele é sintetizado no fígado e precursor da vitamina D e de hormônios do sistema reprodutor, como o estrogênio, testosterona e progesterona, os quais são secretados por glândulas endócrinas. O colesterol também é precursor da aldosterona usado como um regulador osmótico e o cortisol, que possui importante papel no metabolismo. Também são precursores dos ácidos biliares, os quais são derivados polares do colesterol que atuam como detergentes intestinais, emulsificando as gorduras ingeridas na dieta para torná-las acessíveis às lipases digestivas. Eles também podem atuar atenuando os receptores que comunicam mensagens de neurotransmissores, por isso, os esteroides são frequentemente usados em medicamentos anestésicos (MOURITSEN; BAGATOLLI, 2016).

### **2.3.6. Lipídios Prenóis**

Os lipídios prenóis possuem 5 classes principais e 64 subclasses, entre elas estão os isoprenóides, poliprenóis, quinonas e hidroquinonas. Entre os poliprenóis destaca-se o dolicol, um lipídio de membrana presente em todas as células eucarióticas dos tecidos. É composto por uma cadeia de unidades isoprenóides e um grupo hidroxila terminal, o qual

pode ser fosforilado ou esterificado com ácidos graxos. O comprimento da cadeia é variável e em humanos normalmente há entre 17 e 20 unidades, sendo 19 o mais prevalente. Alguns estudos em idosos mostraram um acúmulo de dolicol nos tecidos de humanos com o envelhecimento, o que pode ocorrer devido à degradação não enzimática do dolicol ser reduzida em células hepáticas mais velhas em relação à jovens. Também ocorre uma desregulação do 3-hidroxi-3-methyl-glutaril-CoA (HMG-CoA) com a idade e parece que o dolicol pode funcionar como um antioxidante lipofílico nas membranas celulares, com os PUFAs e Vitamina E (BERGAMINI *et al.*, 2004).

Para identificar essas classes de lipídios em amostras biológicas, a abordagem lipidômica vem sendo utilizada, através do uso de diferentes técnicas analíticas como espectrometria de massas e ressonância magnética nuclear.

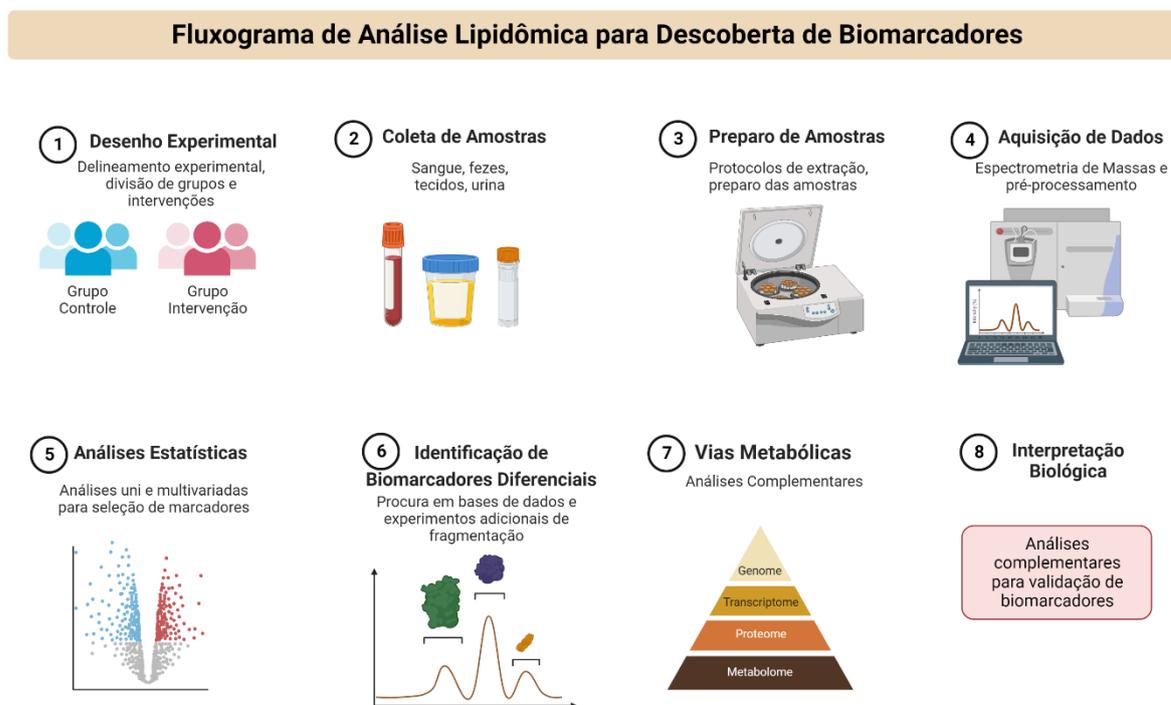
#### **2.4. Lipidômica**

A lipidômica surgiu em meados de 2003, com a premissa de realizar a identificação e quantificação de lipídios em larga escala. Porém, na época as grandes limitações eram as técnicas analíticas que ainda não permitiam uma análise global tão rebuscada, e a inexistência de softwares para analisar esses dados de maneira eficiente (WENK, 2005). Com o avanço das técnicas analíticas, principalmente da MS, já é possível fazer análises em larga escala, utilizando softwares e grande processamento computacional, o que permitiu maiores aplicações em diversas áreas, principalmente na das ciências biomédicas. A lipidômica é uma subclasse da metabolômica, uma vez que a detecção de alguns lipídios durante as análises não eram suficientes para compreender esse universo todo. Sendo assim, foi necessário criar uma nova área de estudos para que toda a diversidade de espécies fossem melhor exploradas (WANG, Jianing; WANG; HAN, 2019; YANG, Kui; HAN, 2016).

Os lipídios desempenham funções celulares essenciais, como já discutido anteriormente, são altamente complexos, diversos e dinâmicos, ou seja, mudam constantemente com as condições fisiológicas, patológicas e ambientais. Por isso, a lipidômica é uma ferramenta essencial para a descoberta de biomarcadores lipídicos para melhor elucidar estados fisiopatológicos (YANG, Kui; HAN, 2016).

As amostras devem ser coletadas, processadas, manuseadas e estocadas de maneira correta e eficiente para evitar degradações enzimáticas e ocorrência de processos bioquímicos. Para a condução de experimentos utilizando a lipidômica são necessárias algumas etapas, incluindo a preparação da amostra, aquisição e processamento dos dados e

interpretação dos dados, como representado no fluxograma da Figura 3 (ZÜLLIG; TRÖTZMÜLLER; KÖFELER, 2020).



**Figura 3.** Fluxograma de análise lipidômica. Figura criada utilizando BioRender.

A etapa de preparação da amostra vai depender do tipo de amostra (soro, plasma, urina, tecidos, saliva, culturas de células), experimento (*targeted* ou *untargeted*) e equipamento o qual será utilizado. Para tecidos é necessária uma etapa adicional de disrupção e homogeneização da amostra, seguido da extração de lipídios realizada por solventes orgânicos como clorofórmio e metanol (ZÜLLIG; TRÖTZMÜLLER; KÖFELER, 2020). A preparação da amostra é uma etapa crucial no fluxograma e deve ser realizada com muito cuidado, pois pode afetar diretamente a qualidade dos espectros adquiridos.

Em relação aos métodos analíticos, os mais utilizados são MS e NMR, porém, a MS é mais indicada para detecção de lipídios, uma vez que fornece melhor resolução e sensibilidade comparadas à NMR. A espectrometria de massas pode ser acoplada a métodos de separação, como a cromatografia gasosa (GC-MS), cromatografia líquida (LC-MS); cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC-MS) ou ultra alta eficiência (UHPLC-MS). Há também o método de infusão direta (*shotgun*), mobilidade iônica acoplada à espectrometria de massas (*ion-mobility*), métodos de imageamento, empregando, por exemplo, a ionização e dessorção a laser assistido por matriz (MALDI-MS), entre outros. A LC-MS é frequentemente mais usada por permitir uma melhor separação dos compostos, para identificação e quantificação mais precisas. O método de infusão direta é mais utilizado quando a quantidade

de amostras é muito grande por ser mais rápido, porém, a separação e identificação dos analitos pode ser mais desafiadora (HOLČAPEK; LIEBISCH; EKROOS, 2018; WANG, Jianing; WANG; HAN, 2019; YANG, Kui; HAN, 2016).

A utilização desses métodos permite a realização de diferentes tipos de análise, como as não direcionadas (*Untargeted*), a qual detecta todos os lipídios presentes em uma amostra, sem um grupo alvo, com foco na descoberta de novos biomarcadores. A quantificação dos metabólitos nesse método é realizada de forma semiquantitativa, através da comparação de intensidades entre grupos. Já as análises direcionadas (*targeted*) se concentram na quantificação absoluta de um número limitado de marcadores pré-definidos usando padrões internos frequentemente marcados isotopicamente. O número limitado é devido à disponibilidade e custo dos padrões comercialmente (CONTREPOIS *et al.*, 2018).

Após a aquisição dos dados é necessário um processamento dos mesmos, utilizando softwares que requerem grande capacidade computacional para transformar os dados espectrais em uma tabela de dados, a qual será filtrada e organizada para as análises estatísticas (MISRA, 2021). Entre os métodos estatísticos estão os multivariados e univariados, como a análise de componentes principais (PCA), análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA), análise ortogonal discriminante por mínimos quadrados parciais (OPLS-DA), *volcano plot*, *heatmaps*, entre outros. Após a seleção dos principais biomarcadores, é possível a utilização de análises de vias metabólicas para auxiliar a interpretação biológica dos mesmos (ZHAO *et al.*, 2019). A abordagem lipidômica vem sendo cada vez mais utilizadas na descoberta fármacos, nutrição, mecanismos relacionados a diversas doenças como Alzheimer, doenças cardiovasculares, obesidade, diabetes e recentemente ao exercício físico, o qual pode ser utilizado no combate a essas doenças. A Figura 4 mostra algumas das principais utilizações das abordagens metabolômica e lipidômica.

## **2.5. Exercício físico, obesidade, diabetes e lipidômica**

O exercício físico é considerado a melhor terapia não farmacológica no combate a doenças crônicas não transmissíveis, especialmente obesidade, RI e DM2. O principal papel do exercício físico é a manutenção do peso corporal, através do aumento do gasto energético, levando à redução da massa gorda e aumento da massa magra em geral. Com o avanço da tecnologia e facilidades do mundo moderno, a população está cada vez mais sedentária e gastando menos energia para realizar atividades da vida diária. Atrelado a isso, temos a má alimentação que é uma tendência mundial, devido não só à falta de tempo, mas também devido à indústria alimentícia com a produção de alimentos ultra processados e as grandes



As recomendações de exercício físico mais recentes dizem que adultos devem se mover mais e passar menos tempo sentados ao longo do dia, sendo que qualquer atividade física é melhor que nenhuma. O tempo sedentário deve ser quebrado com qualquer tipo de atividade física, pois causam detrimientos ao organismo. Para obter benefícios substanciais à saúde, deve-se realizar pelo menos 150 minutos (2h30min) a 300 minutos (5h) por semana de exercício físico moderado ou 75 a 150 minutos de exercício aeróbio vigoroso ou uma combinação de exercícios moderados e atividade aeróbia vigorosa. Devem ser incluídos exercícios de fortalecimento muscular de intensidade moderada pelo menos 2 dias na semana. Há uma forte recomendação para que adultos consigam aumentar a quantidade de exercícios aeróbios de intensidade moderada para > 300 min por semana ou > 150 min intensos (BULL *et al.*, 2020; PIERCY *et al.*, 2018).

Essas recomendações de exercício físico estão diretamente relacionadas com os benefícios que eles trazem para a saúde no combate de doenças como obesidade, síndrome metabólica, hipertensão, DM2, doenças cardiovasculares, câncer, entre outras. A massa muscular e a capacidade aeróbia são dois componentes essenciais para prevenir o surgimento das doenças citadas anteriormente, principalmente em pessoas obesas, diabéticas e em processo de envelhecimento, que possuem uma diminuição dessas capacidades físicas. Sendo assim, é de extrema importância tanto o treinamento aeróbio, como o treinamento de força, realizados de forma regular, para o aumento e manutenção das mesmas (BULL *et al.*, 2020).

Algumas especulações de que GPs desempenham papel importante na regulação da sensibilidade à insulina já foram levantadas, onde utilizou-se dois tipos de ratos, um grupo exposto a treinamento físico crônico e outro alimentados com uma dieta rica em gordura (HFD). Os ratos em treinamento foram submetidos a 6 semanas de exercício aeróbio em esteira, e estes apresentaram aumento da sensibilidade à insulina. Já os ratos HFD foram submetidos a 12 semanas de uma dieta rica em gordura (60%), o que gerou RI e tendência à obesidade. Foram observados aumentos em alguns PCs após o treinamento, assim como diminuição em outras espécies. Além disso, algumas espécies de SMs também apresentaram aumento pós treinamento e outras espécies aumento pós dieta hiper lipídica (GOTO-INOUE *et al.*, 2013). Sendo assim, não apresentaram um consenso sobre o papel dessa classe lipídica no exercício.

Um trabalho com militares analisou amostras de sangue de soldados altamente treinados no momento pré e pós exercício militar. Foi observado um aumento nos FAs, nas acilcarnitinas, diminuição em MAG e DAGs, além de um aumento nas concentrações de BCAAs (JP *et al.*, 2017). Wang e colaboradores (WANG, Yating; SHEN; XU, 2019) aplicaram 8 semanas de exercício aeróbio moderado-intenso em pacientes com doença coronariana,

coletando amostras de sangue antes e após período de treino. Os resultados mostraram benefícios no perfil lipídico, ocorrendo uma diminuição significativa nos triglicerídeos, apoC3 e aumento nas concentrações de HDL-C.

A literatura já demonstrou que a junção do treinamento de força (TF) e do treinamento aeróbio (TA), o chamado treinamento combinado (TC) é uma ótima estratégia para melhorar a composição corporal, aumentar a aptidão cardiovascular-respiratória, força e massa muscular, reduzindo as circunferências corporais. Além disso, promove uma melhora na sensibilidade à insulina, conseqüentemente melhorando a RI e o controle glicêmico em DM2 (BONFANTE *et al.*, 2017; CHURCH, Timothy S. *et al.*, 2010; COLBERG *et al.*, 2016; MAIORANA *et al.*, 2002). O TC também já foi visto como uma importante ferramenta para alterar o perfil metabólico em homens obesos de meia idade (DUFT, Renata G. *et al.*, 2017), assim como em adolescentes com sobrepeso e obesidade (DUFT, R.G. *et al.*, 2020), além de melhorar marcadores clínicos e diminuir a RI. Porém, ainda não há estudos analisando alterações no lipidoma de diabéticos e pessoas eutróficas de meia idade frente a esse tipo de treinamento.

Alguns trabalhos já utilizaram a metabólica em sessões agudas de exercício aeróbio contínuo e intervalado (CONTREPOIS *et al.*, 2020; DANAHER *et al.*, 2016; PECHLIVANIS *et al.*, 2013, 2010, 2015; ZAFEIRIDIS *et al.*, 2016), e força (BERTON *et al.*, 2017; MORVILLE *et al.*, 2020), porém nenhum realizou sessões agudas combinadas. Outra lacuna é em relação ao metabolismo de lipídios, uma vez que quase nenhum trabalho utilizou lipidômica. Além disso, esses estudos foram realizados, em grande maioria, com jovens do sexo masculino e em intensidades máximas, deixando dúvidas se as respostas lipídicas agudas serão diferentes dependendo do sexo, idade, treinabilidade, estado de saúde, e também em intensidades moderadas.

### **3. OBJETIVOS**

#### **3.1. Objetivo geral**

Analisar as respostas agudas ao treinamento aeróbio (TA), força (TF) e combinado (TC) e as respostas crônicas ao TC no metabolismo de indivíduos eutróficos, obesos e com diabetes tipo 2, utilizando a abordagem lipidômica.

#### **3.2. Objetivos específicos**

- Analisar as respostas lipidômicas agudas ao TA, TF e TC.
- Analisar as respostas lipidômicas agudo-crônicas ao TC.

- Analisar as respostas lipidômicas crônicas ao TC.
- Analisar variáveis antropométricas e de composição corporal, assim como mensurar variáveis bioquímicas e funcionais para relacioná-las às mudanças no perfil lipidômico.

## 4. MÉTODOS

### 4.1. Seleção dos Voluntários

Esse projeto foi previamente submetido e aprovado (20/06/2016) no Comitê de Ética em Pesquisa da Faculdade de Ciências Médicas da UNICAMP (parecer nº 1.597.626). Posteriormente foi realizado um adendo, submetido e aprovado (25/04/2017) no mesmo local (parecer nº 2.030.070), para englobar as análises e grupos envolvidos nesse projeto (anexo 1 e 2). Além disso, possui também um registro de *clinical trial* (RBR-62n5qn) (Anexo 3).

A divulgação do projeto procedeu-se por folders, cartazes na universidade, via internet, anúncio na rádio local e divulgação por e-mail institucional aos funcionários da universidade. Inicialmente, 491 pessoas foram triadas, sendo que 324 foram excluídas ainda na entrevista inicial (anamnese) por não atenderem aos critérios de inclusão, sendo eles: ser sedentário, ter idade entre 40 e 60 anos, não ter participado de programa de treinamento no período de 12 meses anterior à entrevista; ter o IMC entre 18 e 27 kg/m<sup>2</sup> para o grupo eutrófico (a extensão até 27 foi devido ao grande número de voluntários com IMC entre 25 e 26 kg/m<sup>2</sup>), 30 e 35 kg/m<sup>2</sup> para o grupo obeso, e entre 25 e 35 kg/m<sup>2</sup> para o grupo DM2 (sobrepesos e obesos); não estar fazendo qualquer tipo de dieta restritiva; não possuir qualquer doença ou outros complicadores que pudessem ser fatores de risco ou comprometessem a adesão para a prática regular da atividade física proposta, como: doenças cardiovasculares, diabetes (insulina-dependente), doença pulmonar obstrutiva crônica, doenças osteoarticulares limitantes, ou utilização de qualquer medicação que pudesse interferir nas respostas fisiológicas aos testes ou ao treino (beta bloqueadores). Entre os critérios de exclusão estavam a descontinuidade nos treinos, tendo menos de 80% de presença ou mais de 4 faltas consecutivas, além de ausência nos dias de avaliação.

Os 167 voluntários previamente selecionados foram encaminhados para a avaliação clínica inicial e teste ergométrico, onde 4 foram reprovados pelo cardiologista, 24 desistiram de participar durante as avaliações e 139 foram aprovados e puderam dar sequência às avaliações. Os participantes foram distribuídos nos devidos grupos, de acordo com suas características, sendo 46 obesos, 66 diabéticos e 29 eutróficos saudáveis. A Figura 5 representa o fluxograma de seleção, mostrando a distribuição entre grupos controle e treino. Durante o período experimental houve perdas de voluntários em todos os grupos em função

de número de faltas frequentes no treinamento, faltas em dias de avaliações ou desistência durante o projeto. Portanto, o número final de participantes foi de 18 controles e 19 treinados no grupo eutrófico, 29 controles e 27 treinados no grupo obeso, e 17 controles e 17 treinados no grupo DM2 (Figura 5).

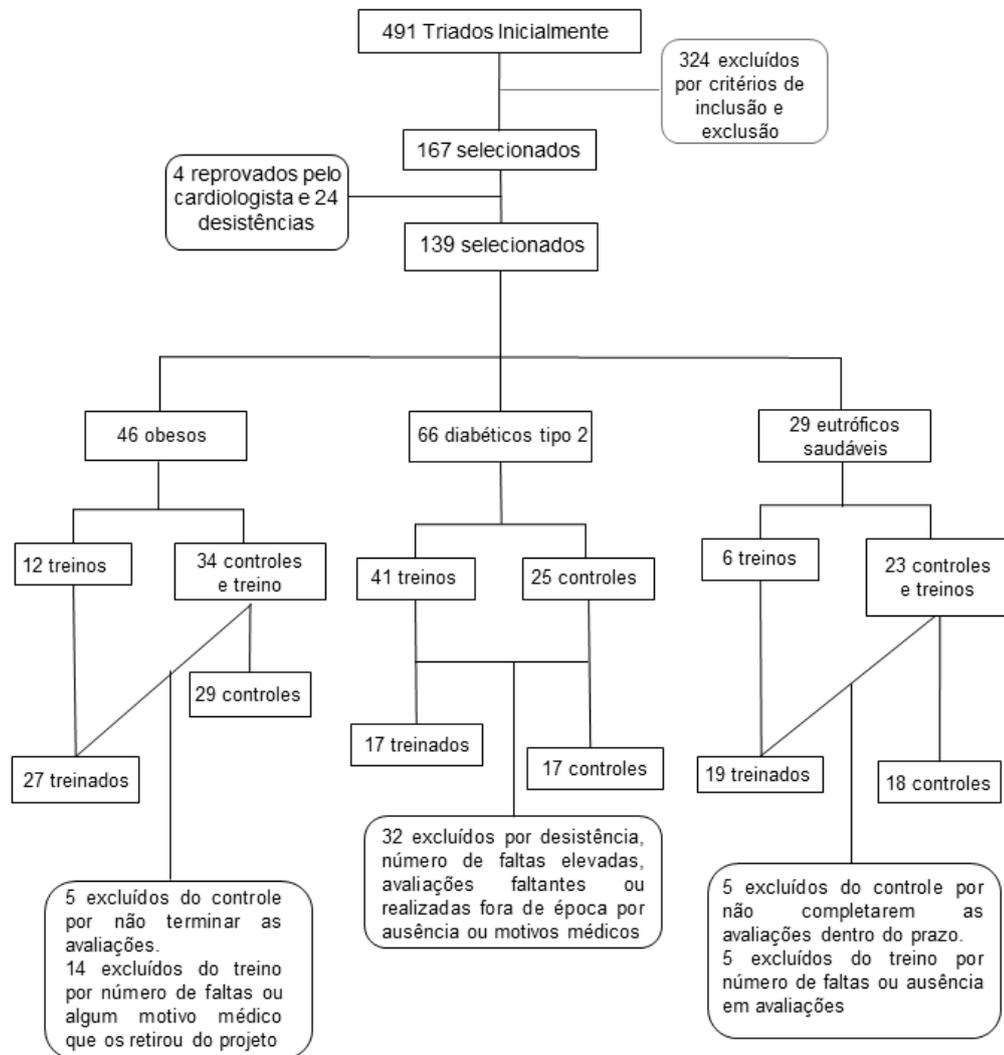
## **4.2. Avaliações**

### **4.2.1. Avaliação Clínica Inicial**

Foi realizada por médico cardiologista e por envolvidos no projeto, constituída de anamnese, exame físico geral e teste ergométrico. O teste ergométrico foi realizado em esteira, utilizando o protocolo de Bruce, no qual o incremento de carga foi realizado com aumento de velocidade e inclinação da esteira até a exaustão voluntária (BRUCE *et al.*, 1963). A pressão arterial sistêmica foi monitorada antes, durante e após o teste de esforço pelo médico cardiologista responsável. Aqueles que apresentaram respostas fisiológicas normais das variáveis ao teste de esforço foram aprovados para participação no projeto.

### **4.2.2. Questionários de Atividade Física**

O nível de atividade física habitual dos voluntários foi verificada através dos questionários de Baecke relacionado às atividades físicas habituais dos últimos 12 meses, e o (IPAQ), versão curta e validada no Brasil, relatando a atividade física da semana anterior a pesquisa (BAECKE; BUREMA; FRIJTERS, 1982; BAUMAN *et al.*, 2011).



**Figura 5.** Fluxograma de seleção de voluntários.

#### 4.2.3. Antropometria e composição corporal

A altura e o peso corporal foram medidos em balança (Filizola<sup>®</sup>, São Paulo, Brasil), com precisão de 0,1 kg e exatidão de 0,1 cm. O índice de massa corporal (IMC) foi calculado pela fórmula:  $[\text{peso corporal (kg)} / (\text{altura (m)})^2]$ . As circunferências da cintura, abdômen e quadril (cm) foram medidas com fita métrica, de acordo com as referências anatômicas (perímetros) utilizadas na literatura. As medidas foram realizadas em triplicata e calculada a média dessas três medidas. A composição corporal foi avaliada por pletismografia de corpo inteiro (pletismografia por deslocamento de ar, BOD POD<sup>®</sup>, COSMED Inc., CA, EUA). A avaliação foi realizada observando os critérios descritos no manual do equipamento e critérios previamente utilizados (FIELDS; HIGGINS; HUNTER, 2004).

#### 4.2.4. Coletas Sanguíneas

As amostras de sangue para o efeito crônico do treino foram coletadas em tubo a vácuo seco e com anticoagulante (EDTA) no período pré e 48 a 72 horas após a última sessão de treinamento combinado. Todas as coletas em jejum foram realizadas sempre no mesmo horário (entre 7 e 10 h da manhã), após período de abstinência de exercício superior a 24 horas, jejum de 12 horas e 24 horas para álcool antes da coleta. As amostras já coletadas foram centrifugadas e estocadas no freezer a -80° C para análises posteriores.

As coletas sanguíneas nas sessões agudas foram realizadas após os voluntários fazerem jejum de 10 horas, tomarem um café da manhã padronizado com 75% carboidrato, 15% de proteína e 10% de gordura, totalizando em média 390 calorias (20g de farelo de aveia Quaker®, 1 banana (~100g), 1 pote de 90g de iogurte grego Nestlé®, 1 pacote de 21g bolacha integral Nesfit®), 1 hora e meia antes de chegar ao laboratório em seu horário previamente agendado. Foi inserido um cateter intravenoso com um adaptador para coletas de sangue, o qual permaneceu durante a sessão de treino. Foram coletadas amostras de sangue antes da sessão, logo após o término, 30 e 60 minutos. Em seguida as amostras foram centrifugadas e alíquotas estocadas no freezer a -80° C.

#### 4.2.5. Análises Bioquímicas

As análises foram realizadas por kits de alta sensibilidade e métodos validados conforme determinada variável, os quais são descritos a seguir: Glicemia (método GOD-Trinder), insulina (método quimioluminescência), triglicerídeos e colesterol total (método enzimático-trinde), HDL (método acelerador-detergente seletivo), VLDL em LDL (Lipoproteína de baixa intensidade) (método formula Friedewald) (KNOPFHOLZ *et al.*, 2014), hemoglobina glicada (método cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC)). Os índices HOMA B e IR foram calculados a partir de valores de glicemia e insulina (GELONEZE *et al.*, 2006).

#### 4.2.6. Recordatório Alimentar

Foram aplicados questionários de recordatório alimentar no início e final do período controle e treinamento. Os registros alimentares (RA) foram entregues aos voluntários, juntamente com instruções de preenchimento destes registros. Foi solicitado que informassem todos os alimentos e bebidas ingeridas durante os dias estabelecidos, 3 dias diferentes e não-consecutivos (pelo menos um no final de semana).

O consumo calórico total, a quantidade e as proporções de macronutrientes (carboidratos, lipídios e proteínas) foram determinados por meio de avaliação quantitativa realizada por nutricionista treinado no software DietPro Clínico Lite®. A avaliação do consumo alimentar foi realizada a partir da média dos dados dos três recordatórios. Não houve intervenção nutricional durante o período estudado, apenas o acompanhamento da ingestão alimentar (ELDRIDGE *et al.*, 2019).

#### **4.2.7. Avaliação da Força Muscular e Cardiorrespiratória**

O teste de uma repetição máxima (1RM) para força muscular foi realizado no equipamento de supino e *leg press*. Os indivíduos realizaram dez repetições a 50% de sua estimativa de 1RM para o aquecimento, seguida de um descanso de 1 minuto. Três repetições foram realizadas a 70% de seu 1RM estimado, seguidas de uma recuperação de 3 minutos para iniciar o teste. Para encontrar a maior carga de 1RM, foram realizadas no máximo cinco tentativas, aumentando os pesos progressivamente, com 3 min de descanso entre as tentativas (BROWN, Lee E.; WEIR, 2001).

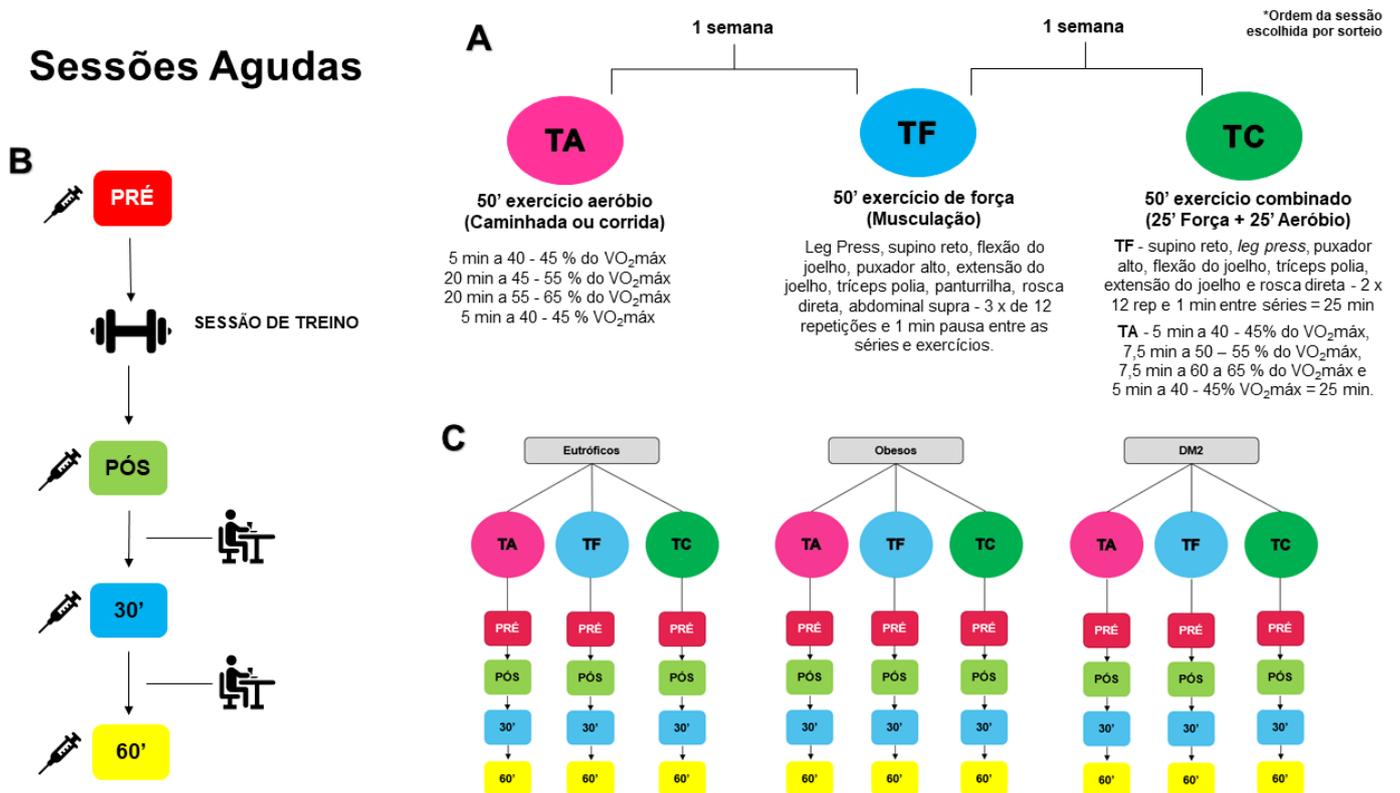
A avaliação cardiorrespiratória foi realizada em esteira (Inbramed, modelo ATL, Brasil) por meio de um protocolo incremental analisando respiração a respiração (K4b, Cosmed, Itália). O protocolo foi baseado em Libardi *et al.* (LIBARDI *et al.*, 2011) e consistiu em um aquecimento de 2 min a 4 km/h, seguido de um aumento de 0,3 km/h a cada 30 s até a exaustão física. A esteira foi ajustada com inclinação de 1% durante o teste, e o período de recuperação foi de 4 min, iniciando em 5 km/h reduzindo 1 km/h a cada minuto. Os últimos 30 s valores do teste foram usados para calcular o  $VO_2$ máx.

### **4.3. Protocolos de Treinamento**

#### **4.3.1. Protocolos Agudos**

Os protocolos de exercício agudo (TA, TF e TC) tiveram uma duração total de 50 minutos cada. A sessão aguda de TA foi composta por caminhada/trote/corrida com variação da intensidade entre 40 e 65% do  $VO_2$ máx, sendo 5 minutos a 40 - 45% do  $VO_2$ máx., 20 minutos a 45 a 55% do  $VO_2$ máx, 20 minutos a 55 a 65% do  $VO_2$ máx, 5 minutos entre 40 - 45%  $VO_2$ máx. A sessão aguda de TF foi composta por 9 exercícios: *leg press*, supino reto, flexão do joelho, puxador alto, extensão do joelho, tríceps polia, panturrilha no *leg press*, rosca direta, abdominal supra realizados nesta sequência com 3 séries de 12 repetições submáximas (cargas previamente ajustadas pelas familiarizações) e pausa de 1 minuto entre as séries e exercícios (COLBERG *et al.*, 2016; GARBER *et al.*, 2011)

Para a sessão aguda de TC, o TF foi composto por 7 exercícios: supino reto, *leg press*, puxador alto, flexão do joelho, tríceps polia, extensão do joelho e rosca direta realizadas nesta sequência com 2 séries de 12 repetições submáximas, pausa de 1 minuto entre séries, tendo uma duração total de aproximadamente 25 minutos. Em seguida foram realizados 25 minutos de TA (caminhada/trote/corrida) na esteira, com variação da intensidade, sendo 5 minutos a 40 - 45% do  $VO_2$ máx, 7,5 minutos a 50 - 55% do  $VO_2$ máx, 7,5 minutos a 60 a 65% do  $VO_2$ máx e 5 minutos entre 40 - 45%  $VO_2$ máx (COLBERG et al., 2016; GARBER et al., 2011). A Figura 6 representa o desenho experimental e as coletas das sessões agudas.



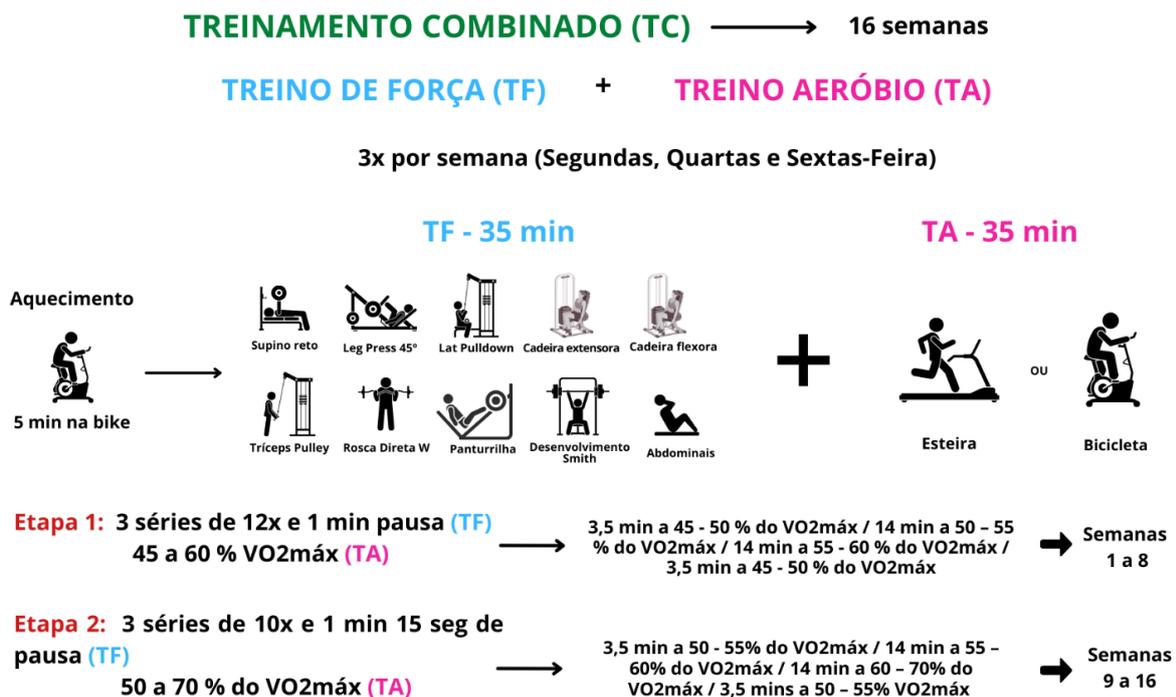
**Figura 6.** Desenho experimental das sessões agudas de treino aeróbio (TA), treino de força (TF) e treino combinado (TC). **A** – Representação das 3 sessões de treino com seus protocolos e durações. A ordem das sessões foi obtida por sorteio. **B** – Protocolo de coleta de sangue durante as sessões agudas nos momentos pré, pós, 30 min e 60 min. Os voluntários ingeriram um café da manhã padronizado 1h30min antes das sessões. **C** – Representação de todos os momentos de coletas em todos os grupos e sessões.

#### 4.3.2. Protocolo Crônico TC

O protocolo de TC foi composto pelo treinamento de força (TF) e treinamento aeróbio (TA) realizados na mesma sessão, 3 vezes na semana em dias alternados (segunda, quarta e sexta feiras), durante 16 semanas e dividido em duas etapas. Na Etapa 1 (E1) os participantes realizaram o TF composto de 10 exercícios (*leg press*, extensão do joelho, flexão do joelho, supino reto, puxador alto, rosca direta, tríceps polia, desenvolvimento de ombros,

extensão/flexão de panturrilha e abdominal superior). Os exercícios tiveram 3 séries de 12 repetições submáximas e pausa de 1 minuto. A duração total dessa sessão era de aproximadamente 35 minutos. Em seguida os participantes iam para a esteira ou bicicleta ergométrica, onde realizaram 35 minutos de TA, com variação da intensidade, sendo 3,5 minutos a 45 - 50 % do  $VO_2máx.$ , 14 minutos a 50 - 55 % do  $VO_2máx.$ , 14 minutos a 55 - 60 % do  $VO_2máx.$ , e 3,5 minutos entre 45 - 50 %  $VO_2máx.$  (COLBERG et al., 2016; GARBER et al., 2011)

Na (E2) do TC a sessão de TF está sendo realizada com os mesmo exercícios e séries da E1, porém, com 10 repetições submáximas e pausa de 1 minuto e 15 segundos com duração aproximada de 35 minutos (COLBERG et al., 2016). Para o TA houve um mesmo padrão de treino, porém ocorreu um ajuste nas zonas de intensidade de treinamento (novo teste de  $VO_2máx$  foi realizado após a 8ª semana de treino), sendo 3,5 minutos em 50 - 55% do  $VO_2máx$ , 14 minutos a 55 - 60% do  $VO_2máx$ , 14 minutos a 60 - 70% do  $VO_2máx$  e 3,5 minutos entre 50 - 55%  $VO_2máx$  (COLBERG et al., 2016). A intensidade do TA é moderada, sendo aproximadamente 45 - 70% do  $VO_2máx$  durante todo o período de treinamento e controlada pelo cálculo/transformação dos valores de  $VO_2máx$  para os referentes à frequência cardíaca. No início de cada sessão, os voluntários realizaram um aquecimento de 5 min em bicicleta ergométrica. Reajustes a cada 2 semanas foram realizados nas cargas utilizadas no TF, para que em todo o treinamento as cargas estivessem entre 50 à 75% de 1RM, para haver um aumento progressivo da sobrecarga do treinamento. A Figura 7 representa o protocolo crônico de TC.



**Figura 7.** Desenho Experimental do protocolo de treinamento combinado crônico

## 4.4. LIPIDÔMICA

### 4.4.1. Preparação da Amostra

Para a preparação das amostras, foram utilizados 10 µL de soro, misturados com 990 µL de metanol 99,9% (J.T. Baker®). Em seguida, as amostras foram centrifugadas por 5 minutos a 1088 g (Eppendorf 5417R) e 5°C. Formou-se um *pellet* no fundo com proteínas e resíduos polares. Em um novo micro tubo, foi retirada uma alíquota de 10 µL do sobrenadante e misturado mais com 990 µL de metanol e em seguida as amostras foram agitadas no vórtex por 3 segundos.

### 4.4.2. Aquisição dos Espectros

Para a aquisição dos espectros foi utilizada a infusão direta no espectrômetro de massas. O espectrômetro utilizado foi o LTQ XL *Linear Ion Trap Mass Spectrometer* (Thermo Scientific, Bremen, Germany), no laboratório Innovare – Faculdade de Ciências Farmacêuticas da Unicamp. Primeiramente, foi adicionado 1 µL de ácido fórmico 0,1% (v/v) para a ionização da amostra. Foi realizada a injeção direta das amostras e as aquisições foram realizadas em quintuplicatas, em modo positivo, na faixa de massa de  $m/z$  200 a 1200. Os parâmetros utilizados foram: vazão de 10 µL/min, temperatura a 280°C, voltagem do spray 5 kV, gás de bainha em 10 unidades arbitrárias. O software para aquisição e processamento dos espectros foi o XCalibur (v. 2.4, Thermo Scientific, San Jose, CA).

Para a fragmentação dos marcadores selecionados após análises estatísticas, foi realizado um experimento MS/MS por infusão direta no espectrômetro de massas *Thermo Q Exactive* (Thermo Scientific, Bremen, Germany), no laboratório multiusuários do instituto de química da Unicamp. Foi inserida uma lista de inclusão com os marcadores e preparado um pool de amostras de cada grupo, adicionando 10 µL de amostra e 990 µL de metanol e centrifugando 5 minutos a 1088 g e 5°C. Em seguida foram transferidos 250 µL de amostra e 250 µL de água com 0,1% (v/v) de ácido fórmico para um eppendorf. Foi coletado um *full scan* de cada espectro e em seguida 2 experimentos foram realizados, o primeiro de baixa energia de colisão com 20, 30 e 40 eV, e o segundo com alta energia de 40, 50 e 60 eV. Os parâmetros utilizados foram: vazão de 15 µL/min, temperatura a 320°C, voltagem do spray 4 kV, gás de bainha em 12 unidades arbitrárias. Resolução de 17500, modo positivo, faixa de massa de  $m/z$  200 a 1200. O software para aquisição e processamento dos espectros foi o XCalibur (v. 3.1, Thermo Scientific, San Jose, CA).

#### 4.4.3. Pré processamento dos dados

Após a obtenção da tabela com as intensidades dos picos e os valores de massas/carga, foi realizada uma filtragem dos dados antes das estatísticas. Primeiramente, foram eliminadas as variáveis com mais de 15% de zeros entre as amostras e foi realizada uma imputação de dados faltantes utilizando o algoritmo KNN (HRYDZIUSZKO; VIANT, 2012). Em seguida, os dados foram transformados utilizando log10 para reduzir a variação da intensidade dos picos das amostras, e escalonados pelo método *pareto-scaling* para diminuir a variabilidade dos dados entre amostras.

#### 4.4.4. Anotação dos Marcadores

A anotação dos marcadores selecionados em cada comparação foi realizada combinando as massas exatas obtidas no experimento MS1, as fragmentações no MS2 e as bases de dados CEU Mass Mediator, Metlin e LipidMaps. Foi inserida a massa exata, selecionada a tolerância de erro de 5 a 10 ppm e modo positivo. Quando havia mais de uma opção, aqueles com maior *score* e menor erro eram considerados. As anotações foram realizadas com os níveis de confidencialidade 2 (compostos supostamente anotados) e 3 (classes de compostos supostamente caracterizados) (SALEK *et al.*, 2013).

#### 4.5. Análises Estatísticas

O teste de Shapiro-Wilk foi utilizado para verificar a distribuição da normalidade dos dados, além do teste de Levene para homogeneidade das amostras. Para as comparações entre grupos e momentos foi utilizada a análise de variância ANOVA *Two-way* com medidas repetidas, seguido de *post hoc* de Sidak ou Tukey para efeito de comparações múltiplas quando necessário. Para comparações dentro dos grupos em momentos pré e pós intervenção, foi utilizado o teste T-pareado para amostras com distribuição normal ou Wilcoxon para não normais. Na comparação entre momentos pré dos 3 grupos foi utilizada a análise ANOVA *One-way* ou Kruskal-Wallis de acordo com a normalidade dos dados, seguido de *post hoc* de Tukey ou Dunn, respectivamente, para identificar as diferenças.

Para a lipidômica foram utilizadas as análises multivariadas. Primeiramente, foi realizada a análise de componentes principais (PCA) com todas as amostras para verificar a homogeneidade e possíveis variações instrumentais. Em seguida, as análises discriminantes por mínimos quadrados parciais (PLS-DA), e a análise discriminante ortogonal por mínimos quadrados parciais (OPLS-DA) foram conduzidas com o intuito de reduzir a dimensão de dados e evidenciar diferenças e semelhanças entre os grupos analisados. Posteriormente, foi

utilizado o gráfico S-Plot (inspeção visual, seguida pela seleção dos metabólitos com base no maior distanciamento do centro, porque os metabólitos com maior influência no cluster estão localizados mais afastados do centro do S-plot (LEHMANN *et al.*, 2010) para selecionar os principais metabólitos responsáveis pelas segregações de grupos. Para as comparações com mais de 2 grupos na PLS-DA, foi utilizado o VIPscore  $> 1,5$  (*variable importance for projection*) para a seleção dos principais metabólitos responsáveis pela segregação do modelo. Para a validação dos modelos foram utilizadas suas respectivas validações cruzadas, considerando modelos válidos aqueles com valores de Q2 próximos ou acima de 0,5 e ou testes de permutação (100 permutações e  $p < 0,01$ ). Foram utilizados os softwares estatísticos SIMCA 17.0, MetaboAnalyst 4.0, IBM SPSS Statistics for Windows 25.0 (Armonk, NY), Rstudio e GraphPad Prism.

## 5. RESULTADOS

Um total de 127 voluntários de meia idade finalizaram o projeto, sendo 18 no grupo controle eutróficos ( $50,8 \pm 5,8$  anos), 19 no treino eutrófico ( $52,2 \pm 5,9$  anos), 29 no controle obeso ( $50,6 \pm 5,6$  anos), 27 no treino obeso ( $51,2 \pm 5,5$  anos), 17 no controle DM2 ( $52,4 \pm 4,4$  anos) e 17 no treino DM2 ( $51,1 \pm 3,9$  anos). A Tabela 1 mostra a caracterização da amostra.

### 5.1. Questionários De Atividade Física

Os questionários mostraram que nenhum dos grupos eram suficientemente ativos antes de participar do projeto, tendo em média um acúmulo de  $115,5 \pm 56,2$  min (eutróficos),  $86,7 \pm 50,8$  min (obesos) e  $105,5 \pm 66,0$  min (DM2).

### 5.2. Antropometria e Composição Corporal

Todos os grupos apresentaram mudanças positivas na composição corporal. Apesar de apenas o grupo obeso ter tido uma mudança significativa na massa corporal, os três grupos reduziram significativamente as medidas de circunferências, porcentagem de massa gorda, massa gorda em kg ( $p \leq 0,05$ ), além de aumentar significativamente tanto a porcentagem de massa magra, quanto massa magra em kg ( $p \leq 0,05$ ) (Tabela 1).

### 5.3. Variáveis Bioquímicas

O grupo eutrófico não apresentou nenhuma mudança significativa ( $p \leq 0,05$ ), apesar de algumas mudanças serem observadas nas concentrações pós-treino. Já o grupo diabético apresentou um aumento significativo da glicemia no grupo controle (que não realizou

exercício físico) e uma diminuição significativa no grupo treino ( $p \leq 0,05$ ) (Tabela 2). Em relação à insulina, o grupo obeso apresentou uma diminuição significativa no grupo treino e o grupo diabético um aumento significativo no período controle ( $p \leq 0,05$ ) (Tabela 2). Apenas o grupo obeso apresentou mudanças significativas nas concentrações séricas de triglicerídeos e colesterol total após o período de treinamento. O índice HOMA teve uma diminuição significativa no grupo obeso ( $p \leq 0,05$ ) após 16 semanas de TC, assim como o grupo DM2 também apresentou uma diminuição da RI ( $p \leq 0,05$ ). Além disso, o grupo controle diabético mostrou uma piora nesse índice, tendo um aumento significativo ( $p \leq 0,05$ ) (Tabela 2).

#### **5.4. Avaliação Alimentar**

Os recordatórios alimentares possuem número amostral diferente em relação à seleção pois foram analisados no software DietPro Clínico Lite® e esse requeria uma descrição de porções e tipos de alimentos que não foram colocados nos recordatórios de alguns voluntários. Dessa forma alguns foram excluídos da análise. Não houve diferença significativa entre os momentos pré e pós-controle e intervenção em nenhum grupo. Porém, houve uma diferença significativa entre a quantidade de calorias totais e carboidratos ingeridos pelo grupo DM2 em relação aos outros. O grupo obeso não apresentou diferença comparado ao grupo eutrófico (Tabela 3).

#### **5.5. Consumo Máximo de Oxigênio ( $VO_2$ máx) e Força Muscular (1RM)**

Todos os grupos apresentaram aumento significativo do consumo máximo de oxigênio ( $VO_2$ máx) após o período de treinamento combinado ( $p \leq 0,05$ ). Os três grupos também apresentaram um aumento significativo da força, representada pelos testes de 1RM de supino e *leg press* ( $p \leq 0,05$ ) (Tabela 4).

Tabela 1. Dados Antropométricos e de Composição Corporal dos Grupos Eutrófico, Obeso e DM2

Variáveis	Controle Eutrófico (n=18)		Treino Eutrófico (n=19)		Controle Obeso (n=29)		Treino Obeso (n=27)		Controle DM2 (n=17)		Treino DM2 (n=17)	
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós
<b>Idade (anos)</b>	50,83 ± 5,84		52,21 ± 5,93		50,62 ± 5,61		51,19 ± 5,56		52,41 ± 4,44		51,06 ± 3,94	
<b>Massa Corporal (kg)</b>	69,82 ± 10,16	70,11 ± 10,59	67,95 ± 10,47	68,34 ± 11,01	93,27 ± 13,55	94,17 ± 13,20*	93,45 ± 11,46	92,63 ± 10,90*	84,76 ± 9,48	86,20 ± 10,49*	84,00 ± 12,64	83,18 ± 12,59
<b>Estatura (m)</b>	1,68 ± 0,08		1,66 ± 0,09		1,70 ± 0,10		1,70 ± 0,09		1,70 ± 0,84		1,68 ± 0,83	
<b>IMC (kg/m<sup>2</sup>)</b>	24,53 ± 1,80	24,62 ± 1,99	24,60 ± 2,13	24,73 ± 2,38	31,91 ± 2,14	32,23 ± 2,12*	32,23 ± 2,16	31,96 ± 2,08*	29,36 ± 3,32	29,84 ± 3,48*	29,59 ± 3,56	29,26 ± 3,50
<b>CC (cm)</b>	85,72 ± 7,67	86,50 ± 7,56	84,68 ± 7,02	83,53 ± 7,02*	101,96 ± 8,86	103,04 ± 8,30*	103,31 ± 6,85	100,54 ± 7,32*	96,76 ± 7,54	97,65 ± 8,35	96,76 ± 9,71	94,24 ± 9,47*
<b>CA (cm)</b>	92,61 ± 8,47	92,94 ± 8,26	91,79 ± 8,04	89,11 ± 8,74*	110,15 ± 9,16	110,65 ± 9,49	110,80 ± 8,28	106,56 ± 8,38*	102,88 ± 7,14	104,17 ± 7,83*	101,82 ± 8,65	98,76 ± 7,90*
<b>CQ (cm)</b>	102,06 ± 5,08	102,67 ± 5,42	102,63 ± 6,07	100,53 ± 6,15*	116,64 ± 8,02	116,92 ± 7,36	115,50 ± 7,81	113,62 ± 7,99*	107,64 ± 6,25	108,00 ± 6,56	106,06 ± 6,42	104,70 ± 5,62*
<b>CP (cm)</b>	36,83 ± 3,34	37,27 ± 3,57	36,31 ± 3,72	35,73 ± 3,31*	40,76 ± 3,55	41,00 ± 3,20	40,84 ± 2,91	39,96 ± 3,23*	40,17 ± 3,90	40,38 ± 3,90	39,73 ± 4,19	38,91 ± 4,25*
<b>% Massa Magra</b>	71,39 ± 7,40	71,51 ± 7,24	69,18 ± 9,16	71,91 ± 9,14*	58,35 ± 8,00	58,00 ± 7,87	58,91 ± 8,18	60,56 ± 8,49*	65,77 ± 8,79	64,99 ± 8,79	63,98 ± 6,83	65,58 ± 6,95*
<b>% Massa Gorda</b>	28,60 ± 7,40	28,19 ± 7,02	30,29 ± 9,58	28,46 ± 9,20*	41,85 ± 7,69	42,96 ± 8,68	41,19 ± 8,14	39,43 ± 8,49*	33,86 ± 8,02	34,54 ± 7,90	35,69 ± 7,04	34,73 ± 6,82*
<b>Massa magra (kg)</b>	49,87 ± 10,12	50,13 ± 10,27	47,41 ± 10,61	49,29 ± 10,78*	54,46 ± 11,70	54,59 ± 11,87	54,92 ± 10,62	56,09 ± 10,73*	55,88 ± 11,38	55,66 ± 12,02	53,39 ± 10,66	54,60 ± 11,37*
<b>Massa Gorda (kg)</b>	20,06 ± 4,89	19,75 ± 5,12	20,25 ± 5,96	18,88 ± 6,27*	38,72 ± 7,93	39,74 ± 8,69	38,07 ± 8,40	36,31 ± 8,05*	28,43 ± 6,54	29,56 ± 6,97	29,70 ± 6,85	28,61 ± 6,80*

Valores representados em média ± desvio padrão. CC = circunferência de cintura, CA = circunferência de abdômen, CQ = circunferência de quadril e CP = circunferência de pescoço. \* diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) em relação ao momento pré dentro de cada grupo.

Tabela 2. Variáveis Bioquímicas e Hemodinâmicas dos Grupos Eutrófico, Obeso e DM2

Variáveis	Controle Eutrófico (n = 18)		Treino Eutrófico (n = 19)		Controle Obeso (n = 29)		Treino Obeso (n = 27)		Controle DM2 (n = 17)		Treino DM2 (n = 17)	
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós
<b>Glicemia (mg/dL)</b>	83,63 ± 9,25	89,38 ± 10,55	90,16 ± 11,58	89,53 ± 8,69	89,59 ± 8,44	93,17 ± 11,25	90,42 ± 9,91	91,26 ± 8,32	117,76 ± 28,83	137,18 ± 30,42*	148,29 ± 54,58	126,58 ± 31,75*
<b>Insulina (uU/mL)</b>	6,98 ± 3,88	6,17 ± 3,52	7,12 ± 3,66	6,57 ± 4,17	13,54 ± 5,81	14,93 ± 7,54	15,45 ± 7,77	13,28 ± 6,09*	10,46 ± 5,33	14,21 ± 8,41*	14,26 ± 8,36	12,76 ± 5,84
<b>TG (mg/dL)</b>	109,17 ± 43,39	108,67 ± 37,67	95,11 ± 43,96	91,00 ± 35,39	140,72 ± 75,54	144,59 ± 82,12	144,74 ± 84,74	118,96 ± 52,25*	135,41 ± 69,33	143,24 ± 66,91	153,00 ± 78,76	131,59 ± 65,79
<b>CT (mg/dL)</b>	202,28 ± 39,26	205,83 ± 40,96	191,95 ± 44,22	187,11 ± 58,08	198,45 ± 48,96	208,86 ± 47,57	207,96 ± 48,62	195,48 ± 44,21*	183,29 ± 42,64	194,53 ± 36,85	177,71 ± 33,56	173,06 ± 30,13
<b>HDL (mg/dL)</b>	46,72 ± 10,12	46,89 ± 14,42	48,89 ± 9,52	59,47 ± 12,69	46,89 ± 11,40	47,75 ± 12,08	45,52 ± 12,84	46,89 ± 14,42	48,41 ± 16,40	45,24 ± 13,83*	41,06 ± 15,22	43,18 ± 17,01
<b>LDL (mg/dL)</b>	136,24 ± 33,08	139,24 ± 37,45	127,84 ± 37,46	126,05 ± 39,29	126,37 ± 40,29	135,26 ± 40,07*	134,59 ± 38,08	129,33 ± 46,84	108,94 ± 33,01	119,53 ± 33,49*	104,53 ± 22,77	105,06 ± 20,01
<b>HOMA-IR</b>	1,41 ± 0,94	1,22 ± 0,95	1,61 ± 0,87	1,47 ± 0,97	2,95 ± 1,25	3,45 ± 1,90	3,24 ± 1,77	1,98 ± 1,80*	3,06 ± 1,71	4,96 ± 3,23*	5,22 ± 3,18	4,07 ± 2,11*
<b>Hba1c (%)</b>	-	-	-	-	-	-	-	-	6,64 ± 0,82	6,95 ± 1,14	7,73 ± 2,36	7,05 ± 1,52*

Valores representados em média ± desvio padrão. CT= colesterol total; LDL = *Low Density Lipoprotein* colesterol; HDL = *High Density Lipoprotein* colesterol; TG=triglicerídeos; HOMA IR= *homeostatic model assessment insulin resistance*. \* diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) em relação ao momento pré dentro de cada grupo.

**Tabela 3.** Distribuição de Macronutrientes entre os grupos e momentos.

	Eutróficos			Obesos			DM2		
	Pré-controle (n = 9)	Pós-controle (n = 13)	Pós-treino (n = 10)	Pré-controle (n = 20)	Pós-controle (n = 21)	Pós-treino (n = 16)	Pré-controle (n = 14)	Pós-controle (n = 17)	Pós-treino (n = 15)
<b>Energia (kcal)</b>	1692,0 ± 364,0	1891,0 ± 839,0	1823,0 ± 794,0	1666,0 ± 364,0	1831,0 ± 588,0	1720,0 ± 596,0	2403,1 ± 494,7*	2079,8 ± 538,1*	2147,5 ± 563,4*
<b>Carboidrato (g)</b>	210,0 ± 59,8	243,0 ± 113,0	291,0 ± 182,0	197,0 ± 47,9	214,0 ± 78,4	208,0 ± 71,4	362,0 ± 68,5*	324,0 ± 77,2*	330,0 ± 85,5*
<b>Proteína (g)</b>	73,7 ± 11,2	72,0 ± 28,0	75,6 ± 30,4	80,2 ± 22,2	84,7 ± 24,2	85,8 ± 30,9	89,6 ± 19,4	70,4 ± 22,2	80,2 ± 18,9
<b>Lipídios (g)</b>	59,5 ± 16,5	66,5 ± 31,0	63,2 ± 23,2	59,2 ± 21,0	65,7 ± 29,2	55,0 ± 17,5	66,3 ± 15,9	55,8 ± 15,6	56,3 ± 16,2

Valores representados em média ± desvio padrão. \*diferença estatística ( $p \leq 0,05$ ) entre grupos.

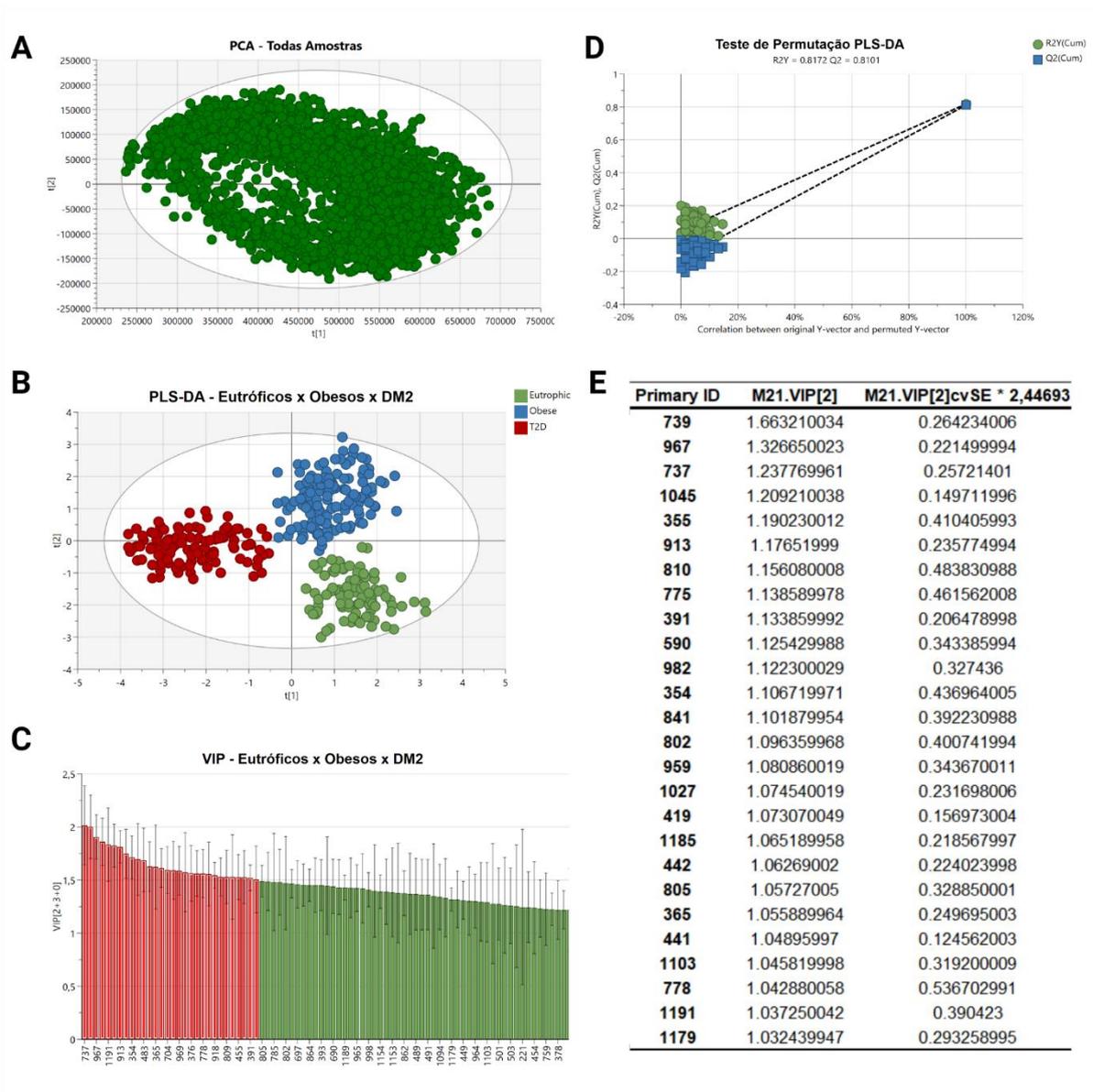
**Tabela 4.** Dados de Aptidão Aeróbia e Força Muscular dos Grupos Eutrófico, Obeso e DM2

Variáveis	Controle Eutrófico (n=18)		Treino Eutrófico (n=19)		Controle Obeso (n=29)		Treino Obeso (n=27)		Controle DM2 (n=17)		Treino DM2 (n=17)	
	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós	Pré	Pós
<b>VO<sub>2</sub>máx (ml/kg/min)</b>	28,38 ± 5,88	27,94 ± 4,06	26,66 ± 4,89	29,49 ± 5,58*	23,08 ± 5,34	23,89 ± 4,51	23,63 ± 4,57	25,82 ± 5,07*	23,19 ± 5,43	23,58 ± 4,75	22,02 ± 4,76	25,22 ± 5,15*
<b>1RM Leg Press (kg)</b>	132,85 ± 52,50	158,57 ± 54,59	169,37 ± 62,33	236,87 ± 75,93*	204,37 ± 40,94	216,25 ± 46,02	219,73 ± 57,96	296,05 ± 73,91*	235,35 ± 90,81	226,92 ± 85,21	190,75 ± 77,28	240,62 ± 87,67*
<b>1 RM Supino Reto (kg)</b>	17,71 ± 10,29	20,28 ± 10,22	25,29 ± 15,95	34,05 ± 10,07*	31,94 ± 13,85	32,70 ± 14,93	40,85 ± 16,78	51,20 ± 18,10*	37,14 ± 17,83	35,64 ± 17,55	28,13 ± 12,98	35,21 ± 14,54*

Valores representados em média ± desvio padrão. \* diferença significativa ( $p \leq 0,05$ ) em relação ao momento pré dentro de cada grupo.

## 5.6. Alterações Metabólicas Crônicas – Comparação Basal dos 3 grupos

Primeiramente foi realizado uma PCA com todas as amostras (agudos e crônicos) do estudo para verificar se havia outliers (ou possíveis variações instrumentais). Como observado na Figura 8A, as amostras parecem bem homogêneas, o que indica que não houveram problemas instrumentais durante a aquisição dos dados. Em seguida, foram comparados os 3 grupos no momento basal para verificar se havia diferença metabólica entre eles (Figura 8B).



**Figura 8.** Comparação entre o perfil lipidômico dos 3 grupos no momento basal. **A** – Gráfico de scores de PCA (análise de componentes principais) com todas as amostras do estudo. **B** – Análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA) entre os grupos **eutrófico**, **obeso** e **diabéticos tipo 2 (DM2)**. **C** – VIP score com os principais metabólitos responsáveis pela segregação da PLS-DA.

**D** – Validação do modelo PLS-DA - teste de permutação. **E** – Lista com os principais metabólitos selecionados pelo VIPscore.

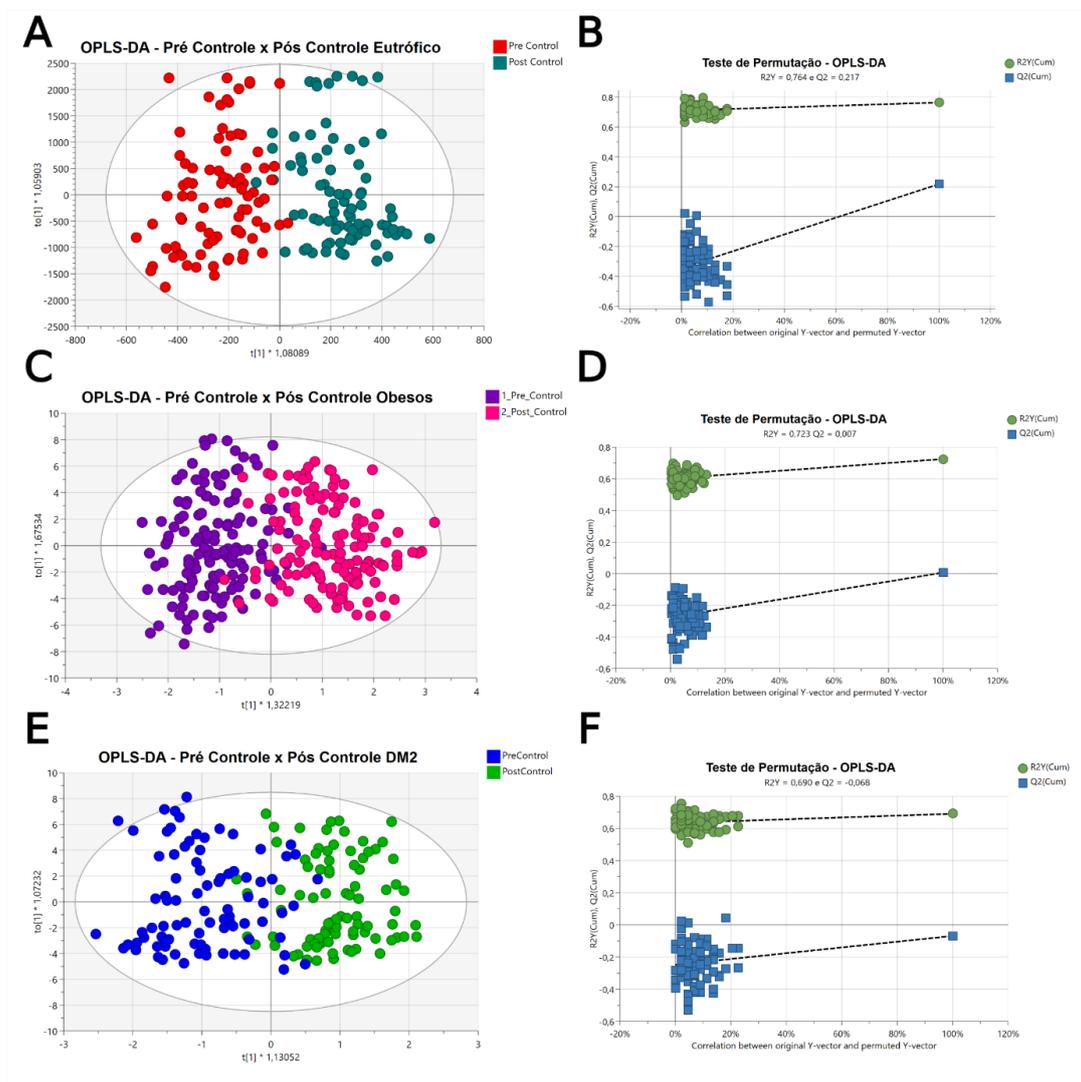
É possível observar uma tendência à separação entre os 3 grupos, indicando que há metabólitos distintos nos lipidomas de cada um. A Figura 8C mostra o gráfico de *VIP score* com os principais metabólitos responsáveis pela separação dos grupos, nos quais foram selecionados os metabólitos com *VIP score* > 1.0. Já a Figura 8D apresenta o teste de permutação, mostrando a validação do modelo OPLS-DA. Essa validação é de extrema importância para modelos multivariados supervisionados, especialmente os modelos de classificação, para que não haja uma interpretação errônea dos dados. Na Figura 8E é possível ver a lista com os principais metabólitos selecionados no *VIP score*. A Tabela 5 mostra os marcadores selecionados, divididos em classes, espécie e anotação, baseado na anotação das moléculas.

**Tabela 5.** Anotação dos marcadores significativos na diferenciação dos 3 grupos, de acordo com as *m/z* selecionadas no gráfico S-Plot.

	Massa Nominal	Massa Exata	Classe	Espécie	Anotação Níveis 2 e 3
<b>Eutróficos</b>	810	810,6012	GP	PC	PC 38:4
	982	982,7467	SP	Hex2Cer	Hex2Cer 44:2;O2
	804	804,5537	GP	PC	PC 38:7
	805	805,5543	GP	PE	PE 40:8
	778	778,6199	SP	HexCer	HexCer 38:1;O2
<b>Obesos</b>	913	913,7273	GL	TAG	TG 55:7
	967	967,7734	GL	TAG	TG 59:8
	959	959,7964	GL	TAG	TG 58:5
	1027	1027,7725	GL	TAG	TG 64:13
	851	851,7123	GL	TAG	TG 52:6
	1185	1185,7953	GP	CL	CL(48:0)
	802	802,5353	GP	PC	PC 38:8
	1191	1191,6763	SP	NeuAcHex2Cer	NeuAcHex2Cer 34:1;O2
	775	775,6630	SP	SM	SM 39:0;2
<b>DM2</b>	355	355,1745	FA	FA	FA 16:2;O5
	391	391,2455	FA	FA	FA 21:3;O3
	354	354,2767	FA	FA	NA 22:4
	419	419,2404	FA	FA	FA 22:4;O4
	1045	1045,856	GL	TAG	TG 63:5
	442	442,2622	FA	FA	Leukotriene E3
	737	737,5439	GP	PS	PS O-32:1
	739	739,5164	SP	CerPE	CerPE 37:2;O2
	1103	1103,7564	SP	Lc3Cer	Hex-HexNAc-Cer 34:1;O2
	1179	1179,7296	SP	GM3	Ganglioside GM3 (d18:1/18:1(11Z))
	365	365,2111	ST	ST	ST 24:6;O4
	441	441,2038	ST	ST	ST 24:4;O5

### 5.7. Alterações Metabólicas Crônicas Nos Grupos Controle

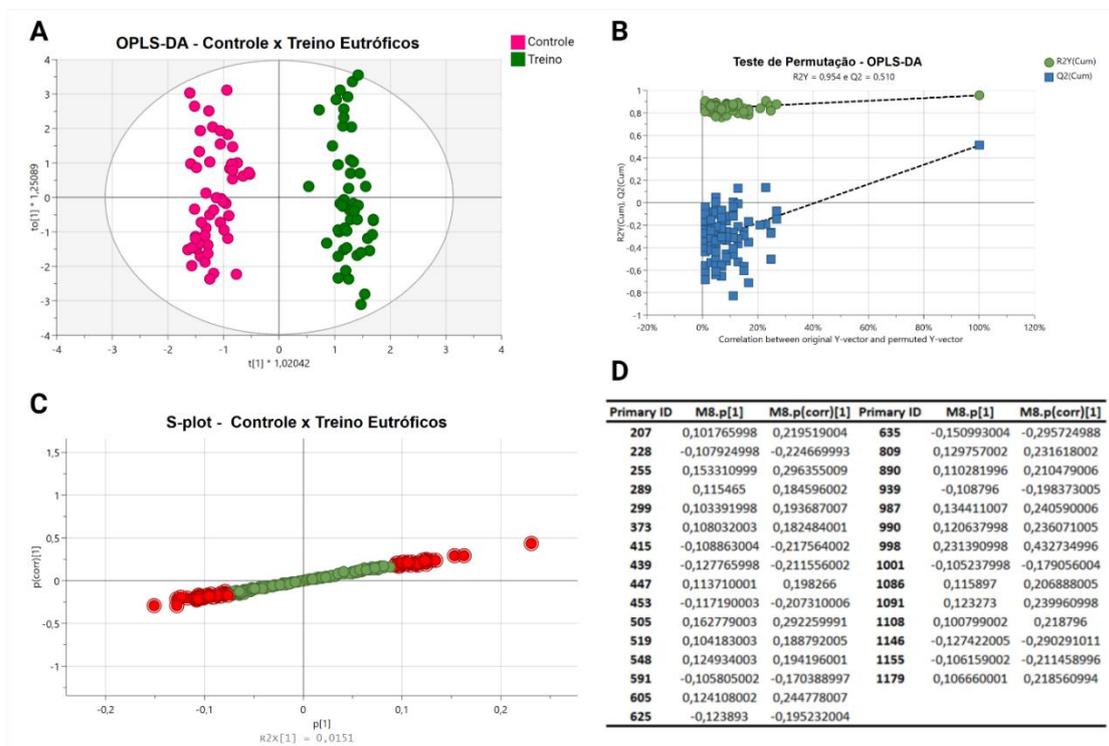
A Figura 9 mostra os gráficos referentes ao momento pré x pós-controle dos 3 grupos. Os gráficos de scores OPLS-DA (A, C, E) mostram que não houve uma segregação entre os grupos, assim como os testes de permutação (B, D, F) não apresentam uma validação do modelo. Dessa forma, pode-se dizer que não houve alteração do metabolismo desses voluntários durante o período controle, e todas as mudanças ocorridas foram devidas ao período de treinamento.



**Figura 9.** Comparação entre os momentos pré e pós-controle dos 3 grupos. As figuras A, C e E mostram as análises ortogonais discriminantes por mínimos quadrados parciais (OPLS-DA) dos grupos eutrófico, obesos e diabéticos tipo 2, respectivamente. Já as Figuras B, D e F mostram as respectivas validações dos modelos com os testes de permutação.

## 5.8. Alterações Metabólicas Crônicas no Grupo Eutrófico

A Figura 10 mostra os gráficos referentes à comparação controle x treino no grupo eutrófico. O gráfico de scores OPLS-DA na Figura 10A mostra uma diferença entre os grupos, evidenciando que houve alteração metabólica promovida pelo TC. A Figura 10B apresenta a validação do modelo de OPLS-DA, garantindo a acurácia desse modelo. Os principais metabólitos responsáveis por essa segregação estão destacados em **vermelho**. Na Figura 10C, sendo os do quadrante esquerdo inferior relacionados ao grupo controle e os do direito superior ao grupo treino. Na Figura 10D está a tabela com as massas desses metabólitos, para posterior identificação. Já a Tabela 6 mostra a anotação dos metabólitos selecionados no S-plot, separados por classes e espécies entre os grupos.



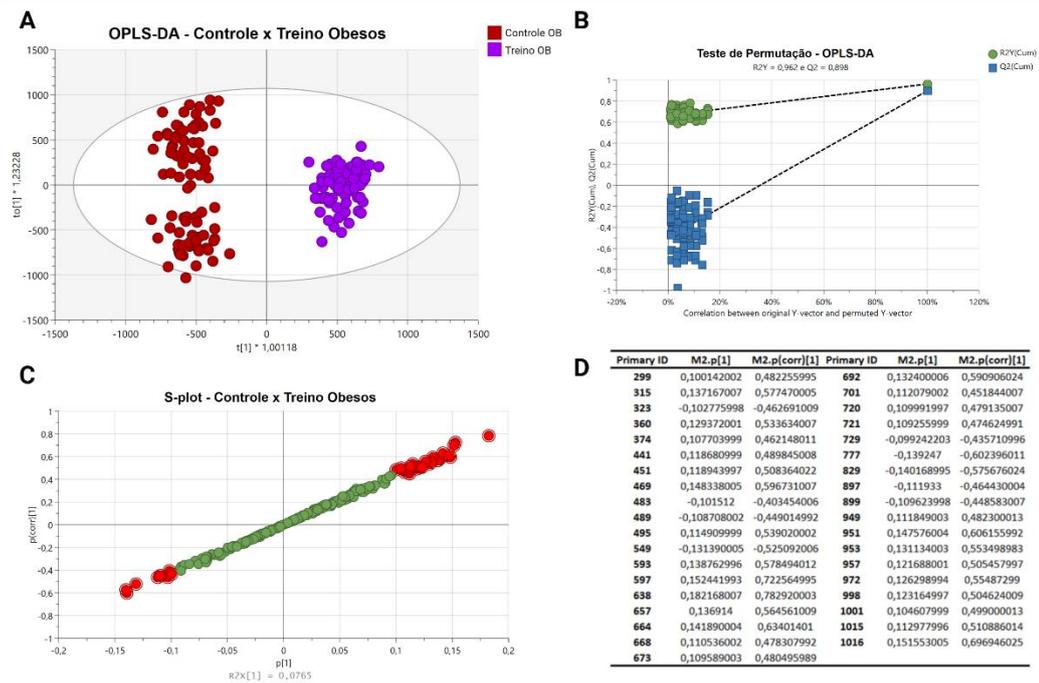
**Figura 10.** Comparação entre os grupos controle e treino eutrófico. A figura A mostra o gráfico de scores do modelo OPLS-DA com a segregação entre grupos, já a figura B representa o teste de permutações e validação do modelo. A figura C mostra o gráfico S-plot com as principais variáveis discriminantes entre grupos destacadas em **vermelho**, e a tabela D mostra todas as massas das principais variáveis selecionadas no gráfico S-Plot.

**Tabela 6.** Anotação dos marcadores significativos na comparação entre os grupos controle e treino do grupo eutrófico, de acordo com as *m/z* selecionadas no gráfico S-Plot.

	Massa Nominal	Massa Exata	Classe	Espécie	Anotação Níveis 2 e 3
Treino Eutróficos	255	255,1227	FA	FA	FA 13:4;O3
	299	299,1430	FA	FA	FA 22:12
	319	319,2244	FA	FA	FA 18:2;O
	373	373,2585	FA	FA	FA 20:2;O4
	505	505,4251	GL	DG	DG 29:2
	577	577,5190	GL	DG	DG 34:1
	890	890,7294	GL	TAG	TG 54:9
	987	987,7467	GL	TAG	TG 61:12
	990	990,8529	GL	TAG	TG 61:8
	1091	1091,9342	GL	TAG	TG 66:3
	1086	1086,5496	GP	CDP-DG	CDP-DG(43:2)
	519	519,3251	GP	LPC	LysoPC(16:0/0:0)
	548	548,2748	GP	LPE	LPE 22:6
	863	863,5121	GP	PG	PG 40:5
	1108	1108,7422	SP	GA2	Ganglioside GA2 (d18:1/9Z-18:1)
	998	998,7478	SP	Hex2Cer	Hex2Cer 42:0;O2
809	809,6507	SP	SM	SM 40:1;O2	
447	447,2717	ST	ST	ST 24:1;O6	
207	207,0000	UN	UN	UN	
Controle Eutróficos	228	286,2002	FA	FA	3-hydroxyoctanoyl carnitine
	315	315,2294	FA	FA	FA 19:3
	439	439,3530	FA	FA	CAR 18:3
	591	591,4983	GL	DG	DG 34:3
	939	939,8425	GL	TAG	TG 58:4
	1001	1001,7569	GL	TAG	TG 62:12
	1146	1146,7504	GP	CL	CL(44:0)
	625	625,5878	SP	Cer	Cer 38:2;O3
	635	635,5122	SP	CerP	CerP 34:1;O2
	1155	1155,7247	SP	GM3	Ganglioside GM3 (d18:0/16:0)
	415	415,2819	ST	ST	ST 24:1;O4
	441	441,2038	ST	ST	ST 24:4;O5
	453	453,3703	ST	ST	ST 29:1;O2

### 5.9. Alterações Metabólicas Crônicas No Grupo Obeso

A Figura 11 mostra os gráficos referentes à comparação controle x treino no grupo obeso. O gráfico de scores OPLS-DA na Figura 11A mostra uma segregação entre os grupos, e pode-se notar que no controle há uma pequena separação nas amostras. Isso ocorre quando há diferenças intragrupo, como homens e mulheres. Porém, no grupo treino, é possível notar uma maior homogeneidade das amostras, mostrando que pessoas treinadas possuem um metabolismo mais semelhante comparado a pessoas sedentárias. A Figura 11B apresenta a validação desse modelo. Os principais lipídios responsáveis por essa segregação estão representados na Figura 11C e detalhados na Figura 11D. A Tabela 7 mostra a anotação dos metabólitos selecionados no S-plot, separados por classes e espécies entre os grupos.



**Figura 11.** Comparação entre os grupos controle e treino obesos. A figura A mostra o gráfico de scores da análise ortogonal discriminante por mínimos quadrados parciais (OPLS-DA), já a figura B representa o teste de permutações e validação do modelo. A figura C mostra o gráfico S-plot com as principais variáveis discriminantes entre grupos, e a tabela D mostra todas as principais variáveis selecionadas no gráfico S-Plot.

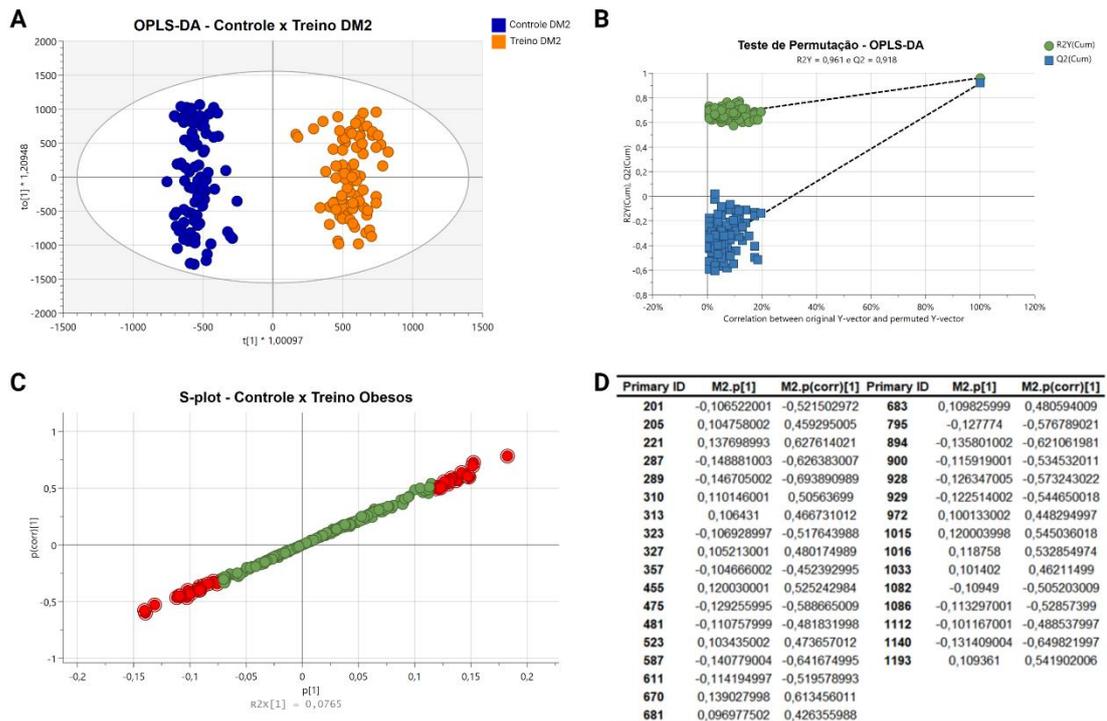
**Tabela 7.** Anotação dos marcadores significativos na comparação entre os grupos controle e treino do grupo obesos, de acordo com as *m/z* selecionadas no gráfico S-Plot.

	Massa Nominal	Massa Exata	Classe	Espécie	Anotação Níveis 2 e 3
Treino Obesos	299	299,1430	FA	FA	FA 22:12
	315	315,2294	FA	FA	FA 19:3
	360	360,3261	FA	FA	NA 24:4
	451	451,2182	FA	FA	6-bromo-tricosa-5E,9Z-dienoic acid
	469	469,2029	FA	FA	Glucosylgalactosyl hydroxyllysine
	495	495,3446	GL	DG	DG 24:0
	949	949,7243	GL	TAG	TG 60:13
	951	951,7396	GL	TAG	TG 60:12
	953	953,7552	GL	TAG	TG 60:11
	957	957,7035	GL	TAG	TG 59:13
	1001	1001,7569	GL	TAG	TG 62:12
	1015	1015,7151	GL	TAG	TG 62:13
	1016	1016,7702	GL	TAG	TG 64:16
	638	638,4180	GP	PE	PE 30:4
	664	664,4351	GP	PE	PE 32:5
	720	720,5517	GP	PE	PE 34:0
	721	721,5490	GP	PE	PE 33:1
597	597,6292	SP	Cer	Cer 38:0;O	
668	668,6551	SP	Cer	Cer 42:0;O3	

	<b>657</b>	657,4966	SP	CerPE	CerPE 34:3;O2
	<b>673</b>	673,4925	SP	CerPE	CerPE 34:3;O3
	<b>692</b>	692,5321	SP	CerPE	CerPE 34:2;O3
	<b>701</b>	701,5586	SP	CerPE	CerPE 37:2;O2
	<b>972</b>	972,7397	SP	Hex2Cer	Hex2Cer 42:2;O2
	<b>998</b>	998,7478	SP	Hex2Cer	Hex2Cer 42:0;O2
	<b>374</b>	374,2067	SP	SP	SPBP 16:1;O2
	<b>441</b>	441,2038	ST	ST	ST 24:4;O5
	<b>593</b>		UN	UN	UN
<b>Controle Obesos</b>	<b>323</b>	323,1981	FA	FA	FA 20:6
	<b>483</b>	483,3833	FA	FA	FA 32:6;O2
	<b>549</b>	549,4877	GL	DG	DG 32:1
	<b>729</b>	729,4855	GL	DG	DG 42:9
	<b>897</b>	897,7308	GL	TAG	TG 52:2
	<b>899</b>	899,7093	GL	TAG	TG 56:10
	<b>829</b>	829,6429	GP	PC	PC 38:3
	<b>777</b>	777,6114	SP	SM	SM 37:1;4
	<b>489</b>	489,3009	ST	ST	ST 27:1;O;S

### 5.10. Alterações Metabólicas Crônicas no Grupo DM2

A Figura 12 mostra os gráficos referentes à comparação controle x treino no grupo DM2. O gráfico de scores OPLS-DA na Figura 12A mostra uma segregação entre os grupos, e uma distribuição mais dispersa das amostras em ambos os grupos, comparado ao grupo obeso. A Figura 12B apresenta a validação desse modelo através do teste de permutação. Já os principais lipídios responsáveis por essa segregação estão representados na Figura 12C e destacados em **vermelho** e detalhados na Figura 12D. A Tabela 8 mostra a anotação dos metabólitos selecionados no s-plot, separados por classes e espécies entre os grupos.



**Figura 12.** Comparação entre os grupos controle e treino DM2. A figura A mostra o gráfico de scores da análise ortogonal discriminante por mínimos quadrados parciais (OPLS-DA), já a figura B representa o teste de permutações e validação do modelo. A figura C mostra o gráfico S-plot com as principais variáveis discriminantes entre grupos e a tabela D mostra todas as principais variáveis selecionadas no gráfico S-Plot.

**Tabela 8.** Anotação dos marcadores significativos na comparação entre os grupos controle e treino do grupo diabéticos tipo 2.

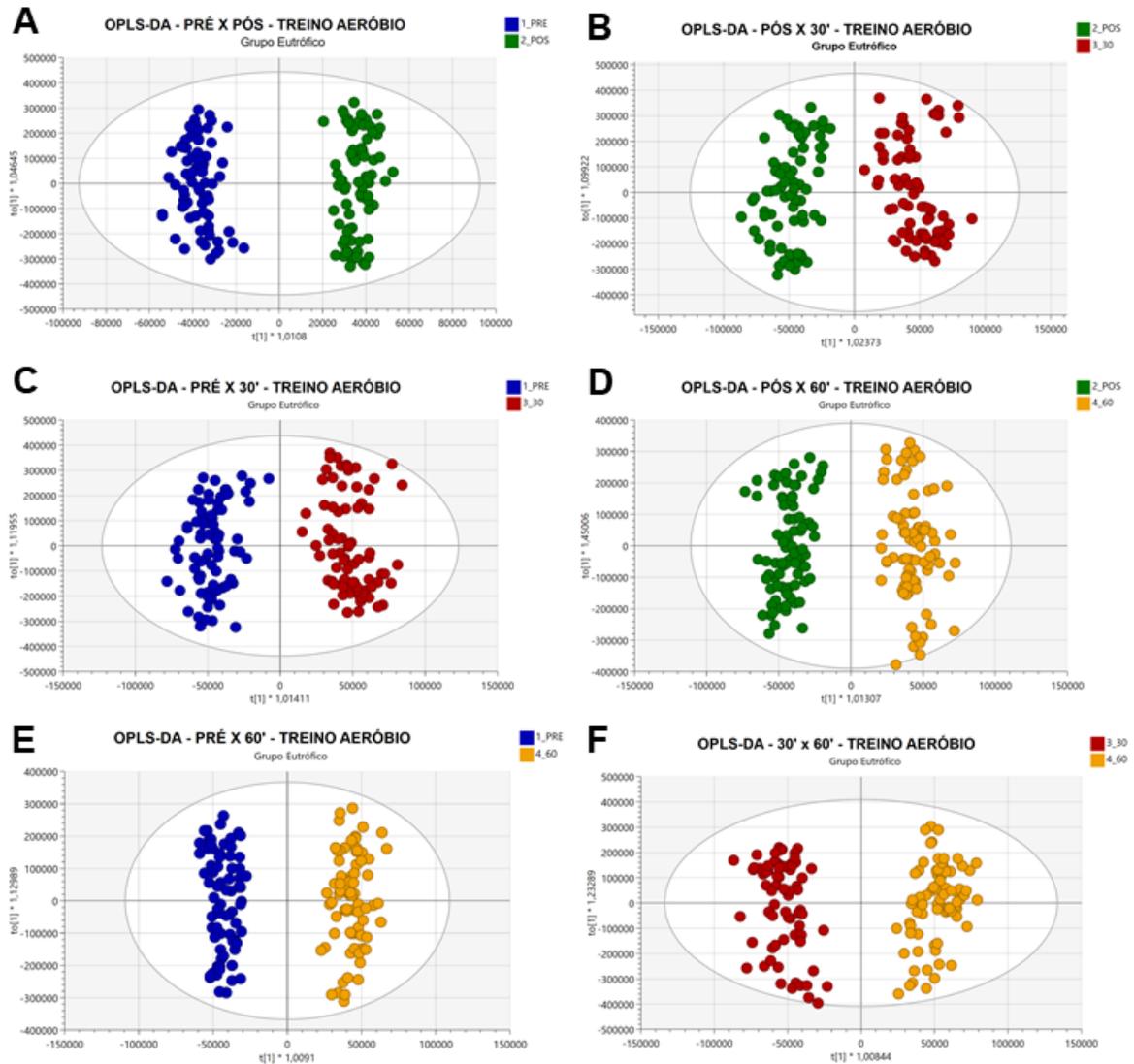
	Massa Nominal	Massa Exata	Classe	Espécie	Anotação Níveis 2 e 3
Treino DM2	221	221,1512	FA	FA	FA 12:1
	310	310,1989	FA	FA	CAR 8:0
	327	327,2294	FA	FA	FA 20:4
	523	523,4726	GL	DG	DG 30:0
	1015	1015,7151	GL	TAG	TG 62:13
	1016	1016,7702	GL	TAG	TG 64:16
	1033	1033,8210	GL	TAG	TG 66:13
	681	681,6838	SP	Cer	Cer 43:1;O2
	683	683,7079	SP	Cer	Cer 43:0;O2
	1193	1193,7890	SP	GM3	Ganglioside GM3 (d18:0/20:0)
	972	972,7397	SP	Hex2Cer	Hex2Cer 42:2;O2
	670	670,5252	SP	HexCer	HexCer 32:2;O2
	455	455,1609	ST	ST	15beta-hydroxycyproterone acetate
Controle	287	287,2006	FA	FA	FA 19:6
	323	323,1981	FA	FA	FA 20:6

<b>357</b>	357,2788	FA	FA	FA 24:6
<b>475</b>	475,2836	FA	FA	10,11-Dihydro-12R-hydroxy-leukotriene E4
<b>587</b>	587,4670	GL	DG	DG 34:5
<b>611</b>	611,4662	GL	DG	DG 32:0
<b>894</b>	894,7603	GL	TAG	TG 54:7
<b>900</b>	900,7129	GL	TAG	TG 55:11
<b>928</b>	928,7437	GL	TAG	TG 57:11
<b>929</b>	929,7557	GL	TAG	TG 58:9
<b>1086</b>	1086,5496	GP	CDP-DG	CDP-DG(43:2)
<b>1112</b>	1112,6294	GP	CDP-DG	CDP-DG(42:2)
<b>1082</b>	1082,7309	SP	L3Cer	Hex(2)-HexNAc-Cer 34:1;O2
<b>1140</b>	1140,7252	SP	Hex(2)-KDN-Cer	Hex(2)-KDN-Cer 36:1;O2
<b>795</b>	795,6084	SP	SM	SM 38:2;O2
<b>481</b>	481,3288	ST	ST	18-acetoxy-1alpha-hydroxyvitamin D3

### 5.11. Alterações Metabólicas Agudas

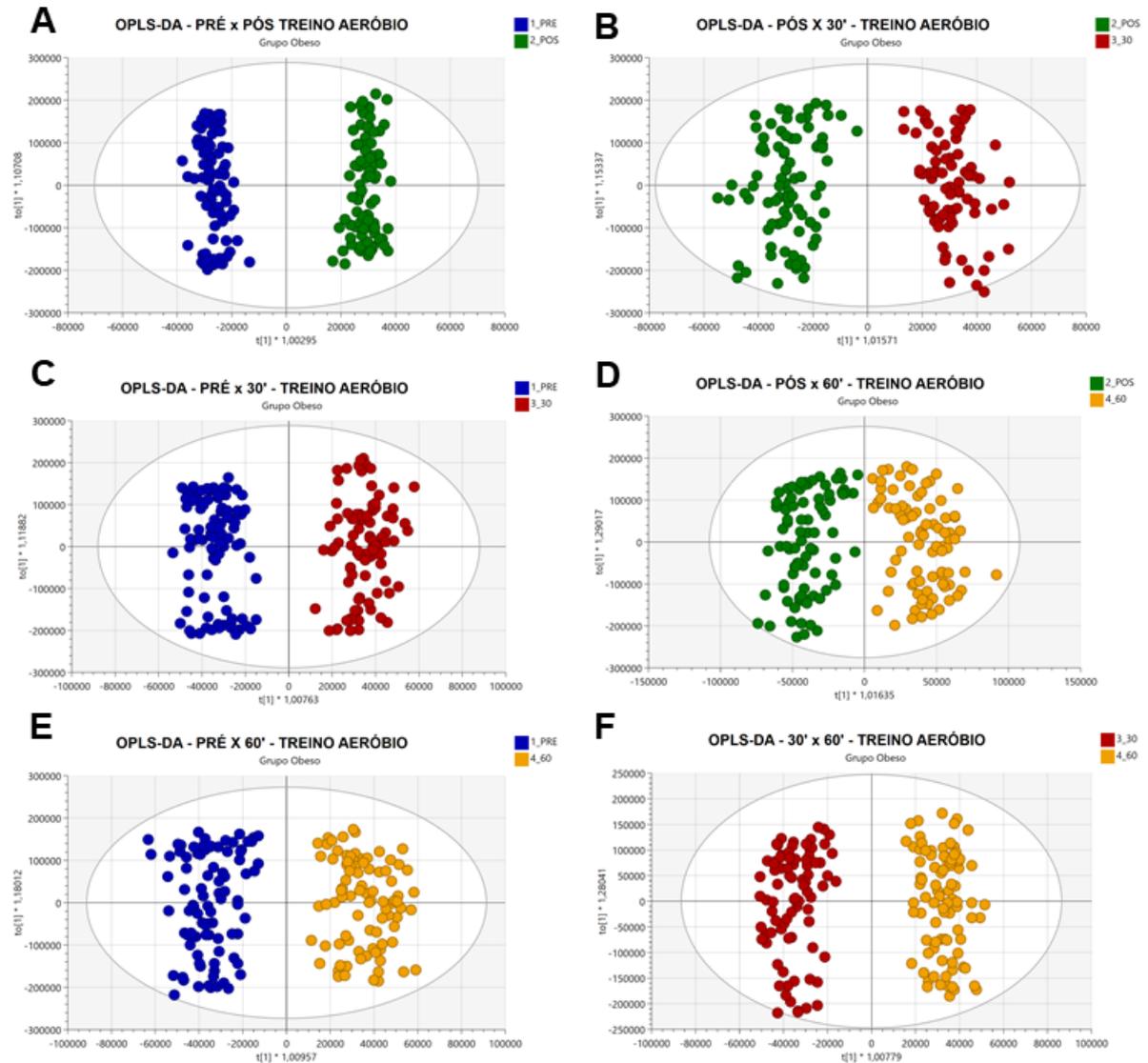
Os três grupos realizaram três sessões agudas de treino, sendo aeróbio (TA), força (TF) e combinado (TC) antes de iniciarem o período de treinamento combinado, e uma sessão de treino combinado crônico (TCC) após o período de treino. Foram realizadas comparações dois a dois entre todos os momentos (pré x pós x 30 min (30') x 60 min (60')), representados nas Figuras 13 – 24. Nota-se que as comparações com o momento pré são as que apresentaram maiores segregações. Já as comparações no momento da recuperação (pós, 30 min e 60 min), apesar de separados e modelos validados, visualmente vemos uma menor separação.

## TREINO AERÓBIO (TA) - Grupo Eutrófico



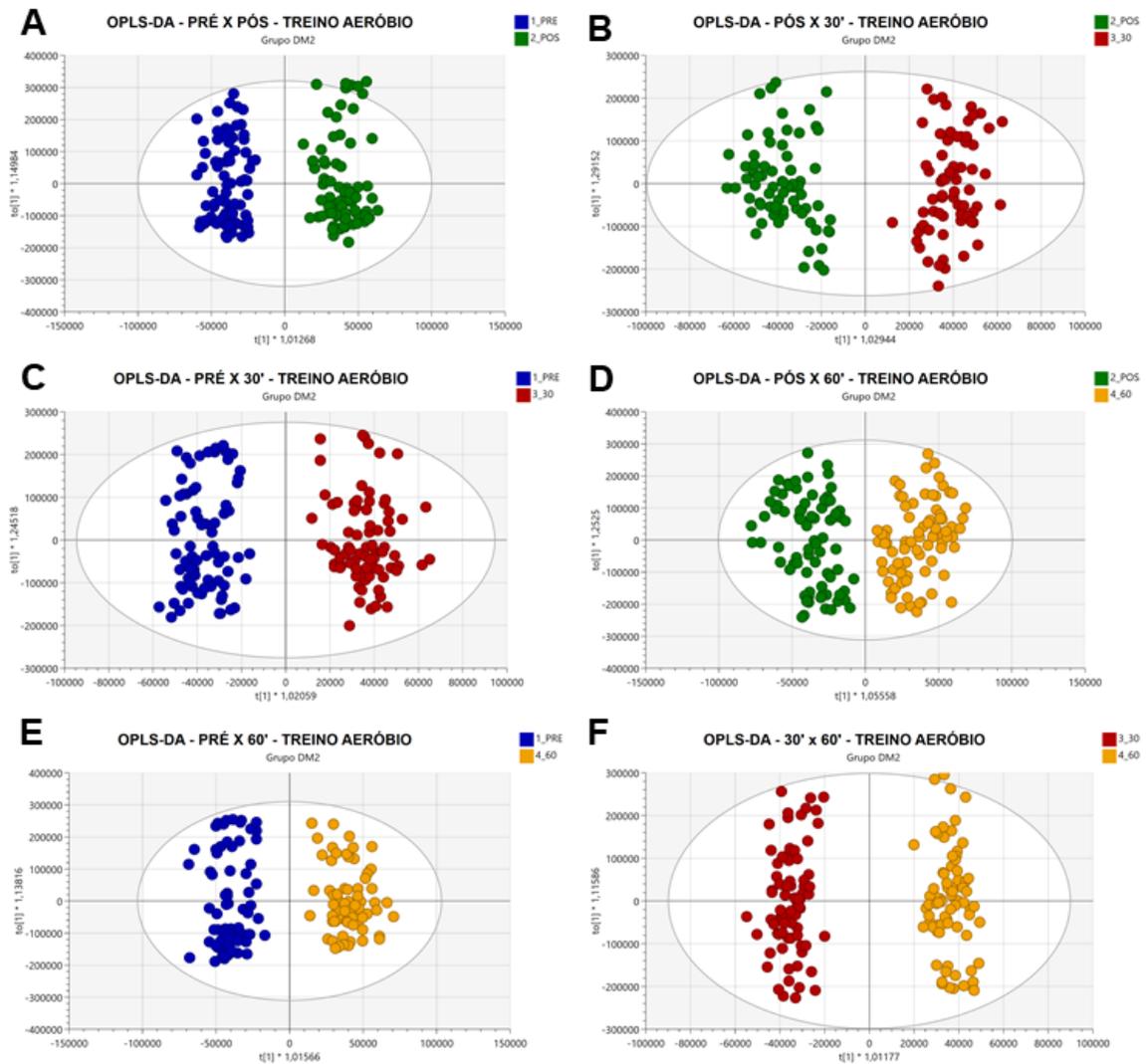
**Figura 13.** Comparações entre os momentos de coleta pré, pós, 30 min e 60 min após a sessão aguda de treino aeróbio do grupo eutrófico. **A** – Pré x Pós, **B** – Pós x 30 min, **C** – Pré x 30 min, **D** – Pós x 60 min, **E** – Pré x 60 min, **F** – 30 min x 60 min. Todos os modelos foram validados apresentando  $R^2Y > 0,9$ ,  $Q^2 \geq 0,5$  e  $p < 0,0001$ . O símbolo ' representa minutos.

## TREINO AERÓBIO (TA) - Grupo Obeso



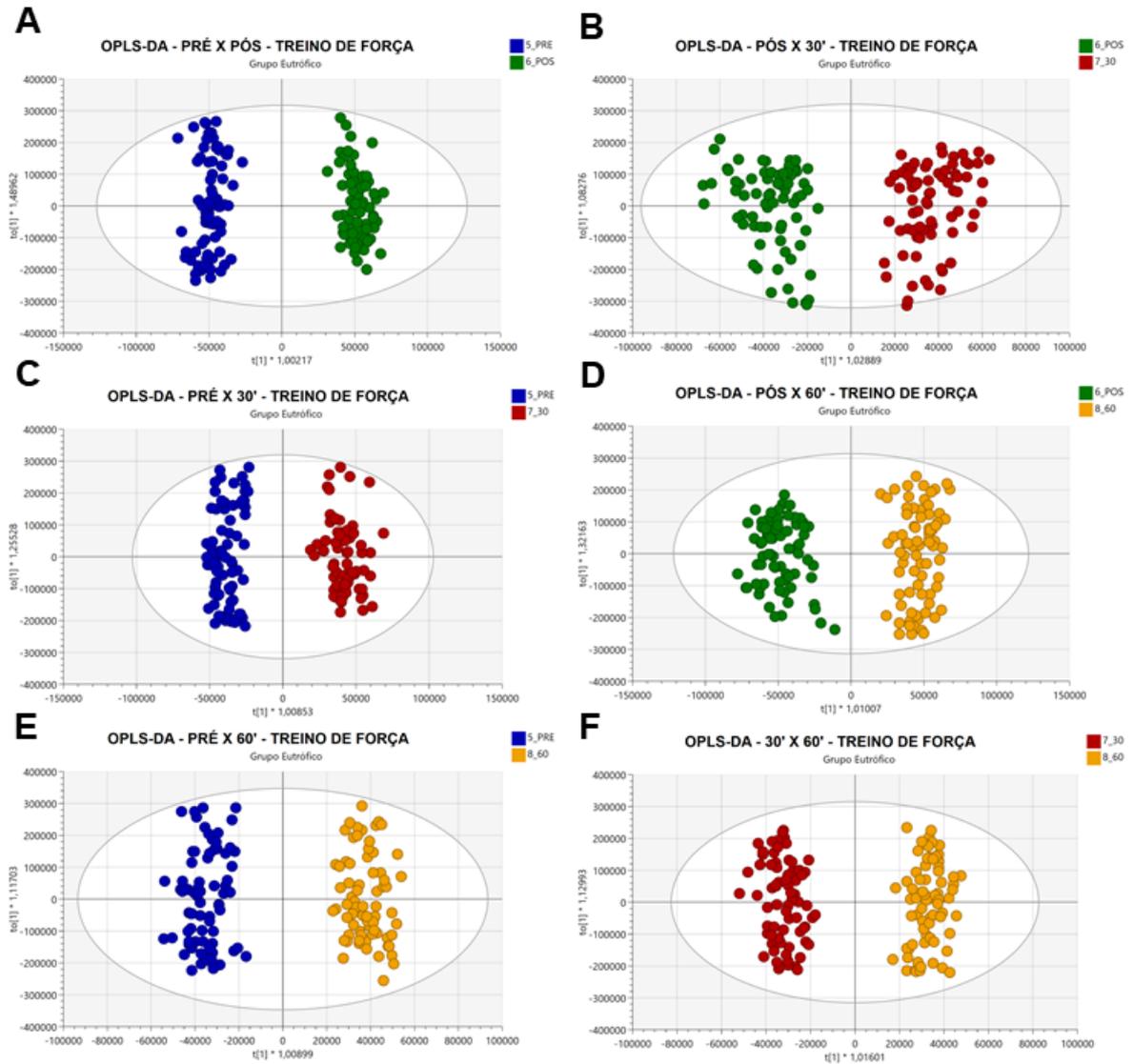
**Figura 14.** Comparações entre os momentos de coleta pré, pós, 30 min e 60 min após a sessão aguda de treino aeróbico do grupo obeso. **A** – Pré x Pós, **B** – Pós x 30 min, **C** – Pré x 30 min, **D** – Pós x 60 min, **E** – Pré x 60 min, **F** – 30 min x 60 min. Todos os modelos foram validados apresentando  $R^2Y > 0,9$ ,  $Q^2 \geq 0,5$  e  $p < 0,0001$ . O símbolo ' representa minutos.

## TREINO AERÓBIO (TA) - Grupo DM2



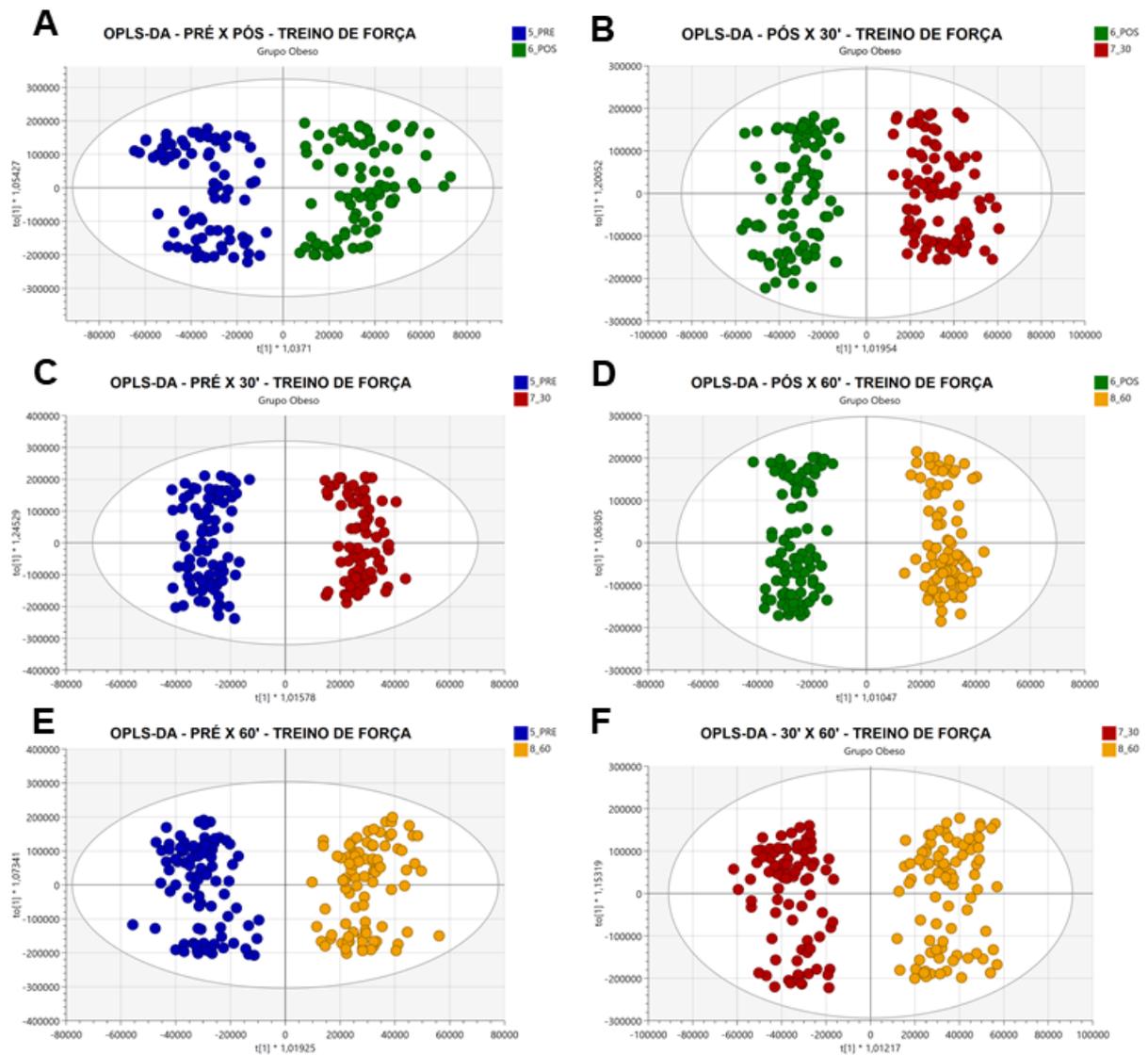
**Figura 15.** Comparações entre os momentos de coleta pré, pós, 30 min e 60 min após a sessão aguda de treino aeróbio do grupo DM2. **A** – Pré x Pós, **B** – Pós x 30 min, **C** – Pré x 30 min, **D** – Pós x 60 min, **E** – Pré x 60 min, **F** – 30 min x 60 min. Todos os modelos foram validados apresentando  $R^2Y > 0,9$ ,  $Q^2 \geq 0,5$  e  $p < 0,0001$ . O símbolo ' representa minutos.

## TREINO DE FORÇA (TF) - Grupo Eutrófico



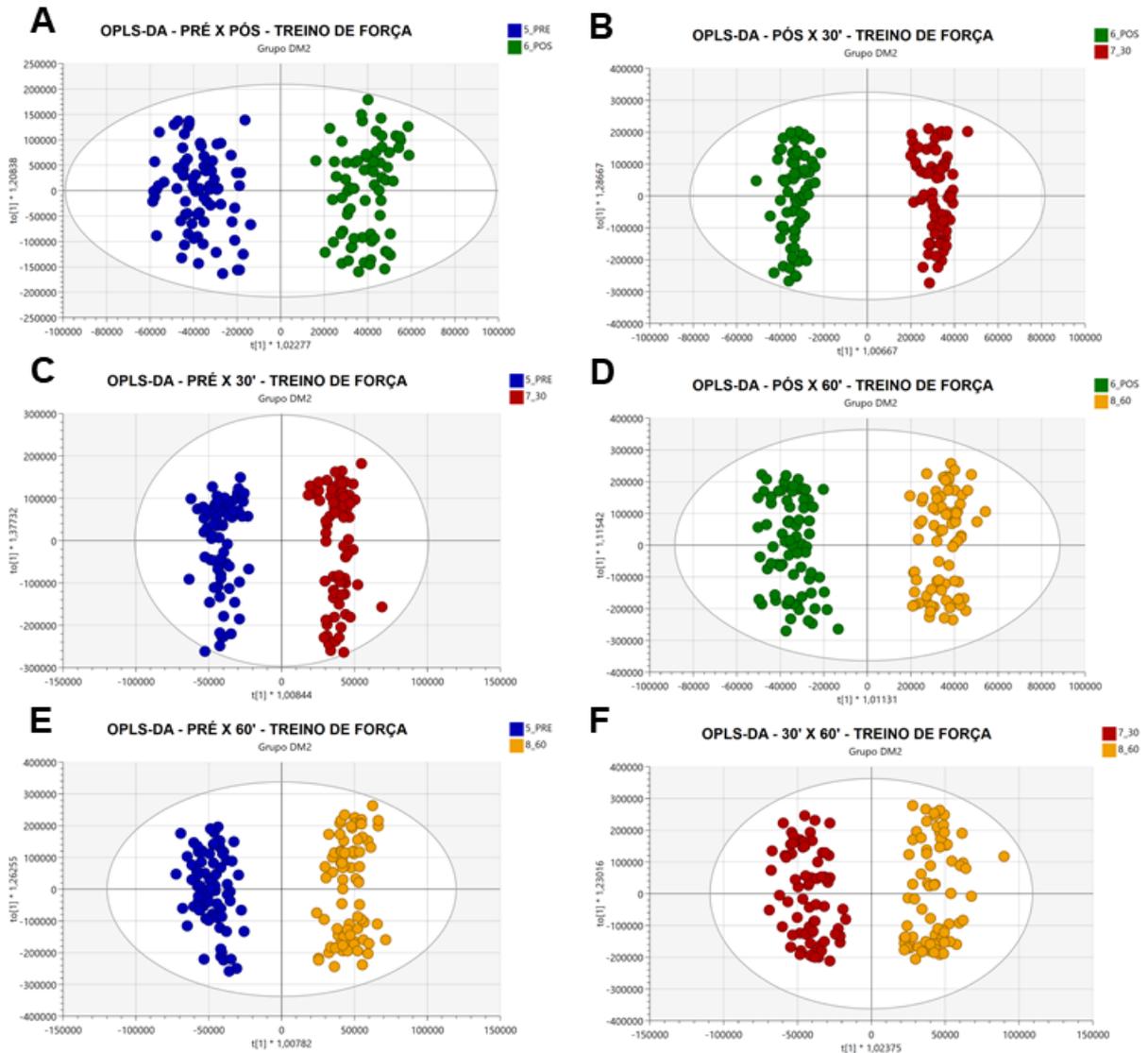
**Figura 16.** Comparações entre os momentos de coleta pré, pós, 30 min e 60 min após a sessão aguda de treino de força do grupo eutrófico. A – Pré x Pós, B – Pós x 30 min, C – Pré x 30 min, D – Pós x 60 min, E – Pré x 60 min, F – 30 min x 60 min. Todos os modelos foram validados apresentando  $R^2Y > 0,9$ ,  $Q^2 \geq 0,5$  e  $p < 0,0001$ . O símbolo ' representa minutos.

## TREINO DE FORÇA (TF) - Grupo Obeso



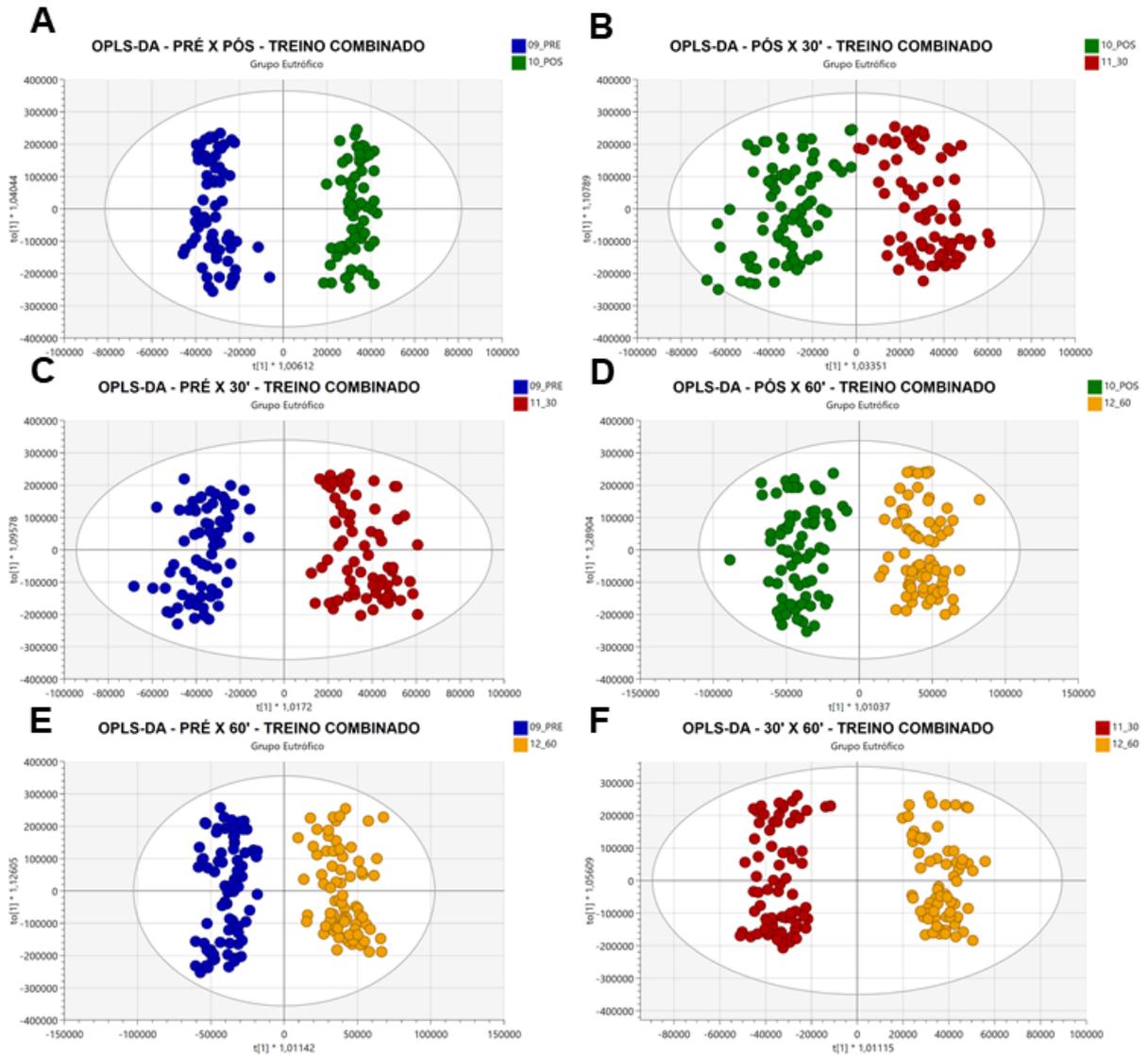
**Figura 17.** Comparações entre os momentos de coleta pré, pós, 30 min e 60 min após a sessão aguda de treino de força do grupo obeso. **A** – Pré x Pós, **B** – Pós x 30 min, **C** – Pré x 30 min, **D** – Pós x 60 min, **E** – Pré x 60 min, **F** – 30 min x 60 min. Todos os modelos foram validados apresentando  $R^2Y > 0,9$ ,  $Q^2 \geq 0,47$  e  $p < 0,0001$ . O símbolo ' representa minutos.

## TREINO DE FORÇA (TF) - Grupo DM2



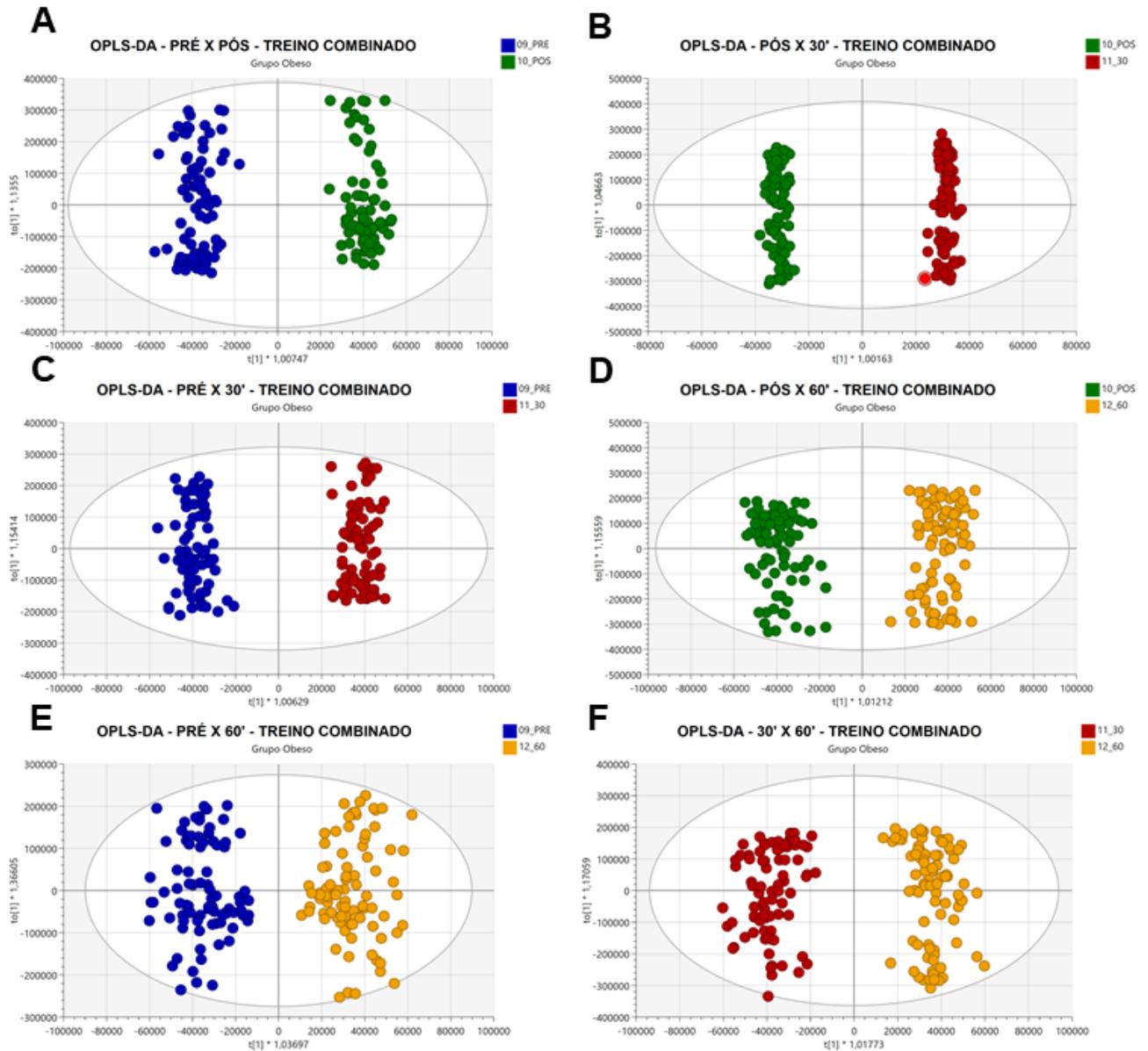
**Figura 18.** Comparações entre os momentos de coleta pré, pós, 30 min e 60 min após a sessão aguda de treino de força do grupo DM2. **A** – Pré x Pós, **B** – Pós x 30 min, **C** – Pré x 30 min, **D** – Pós x 60 min, **E** – Pré x 60 min, **F** – 30 min x 60 min. Todos os modelos foram validados apresentando  $R^2Y > 0,9$ ,  $Q^2 \geq 0,5$  e  $p < 0,0001$ . O símbolo ' representa minutos.

## TREINO COMBINADO (TC) - Grupo Eutrófico



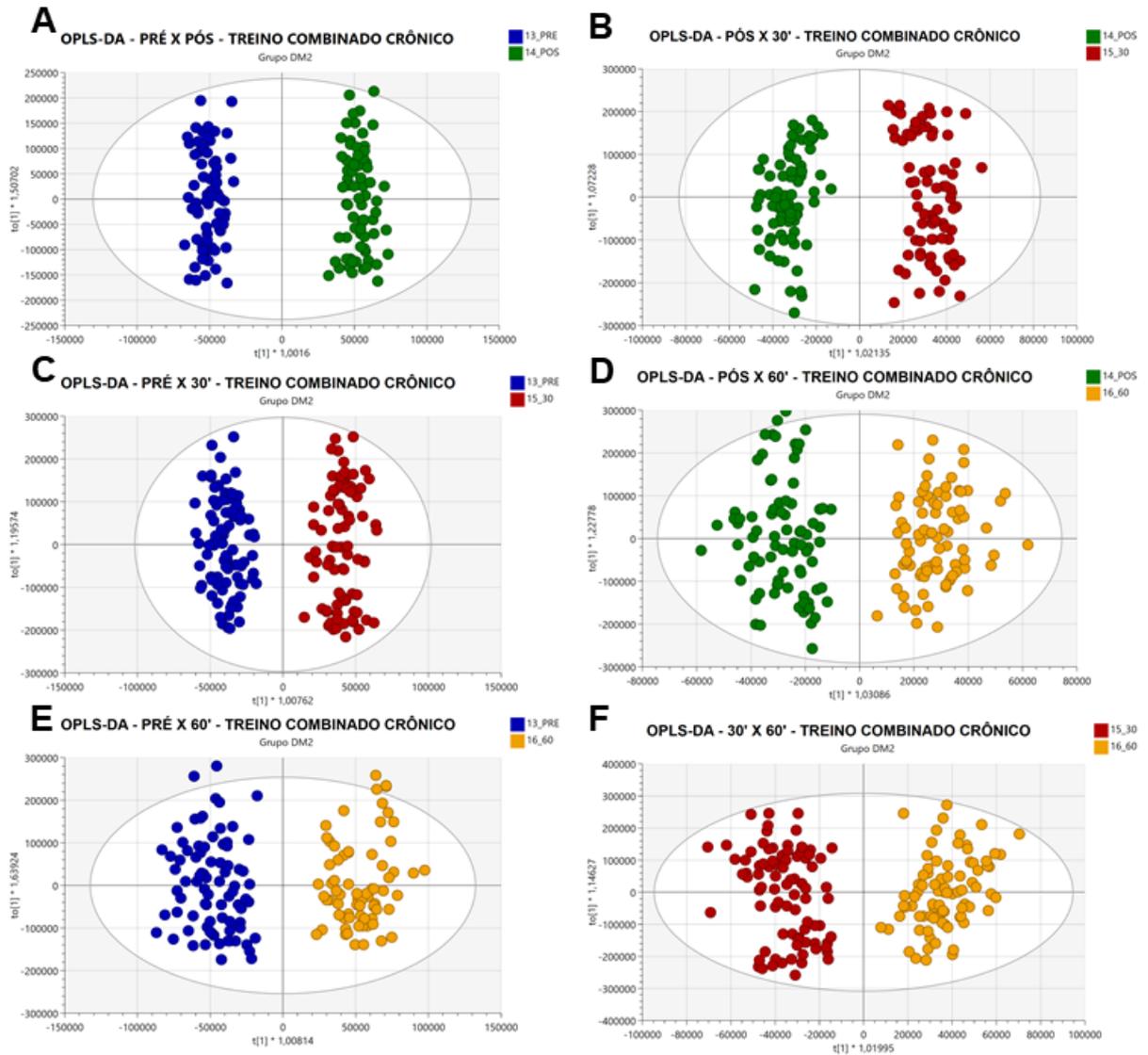
**Figura 19.** Comparações entre os momentos de coleta pré, pós, 30 min e 60 min após a sessão aguda de treino combinado do grupo eutrófico. **A** – Pré x Pós, **B** – Pós x 30 min, **C** – Pré x 30 min, **D** – Pós x 60 min, **E** – Pré x 60 min, **F** – 30 min x 60 min. Todos os modelos foram validados apresentando  $R^2Y > 0,9$ ,  $Q^2 \geq 0,5$  e  $p < 0,0001$ , exceto o modelo B que apresentou  $Q^2 = 0,35$  e  $p < 0,0001$ . O símbolo ' representa minutos.

## TREINO COMBINADO (TC) - Grupo Obeso



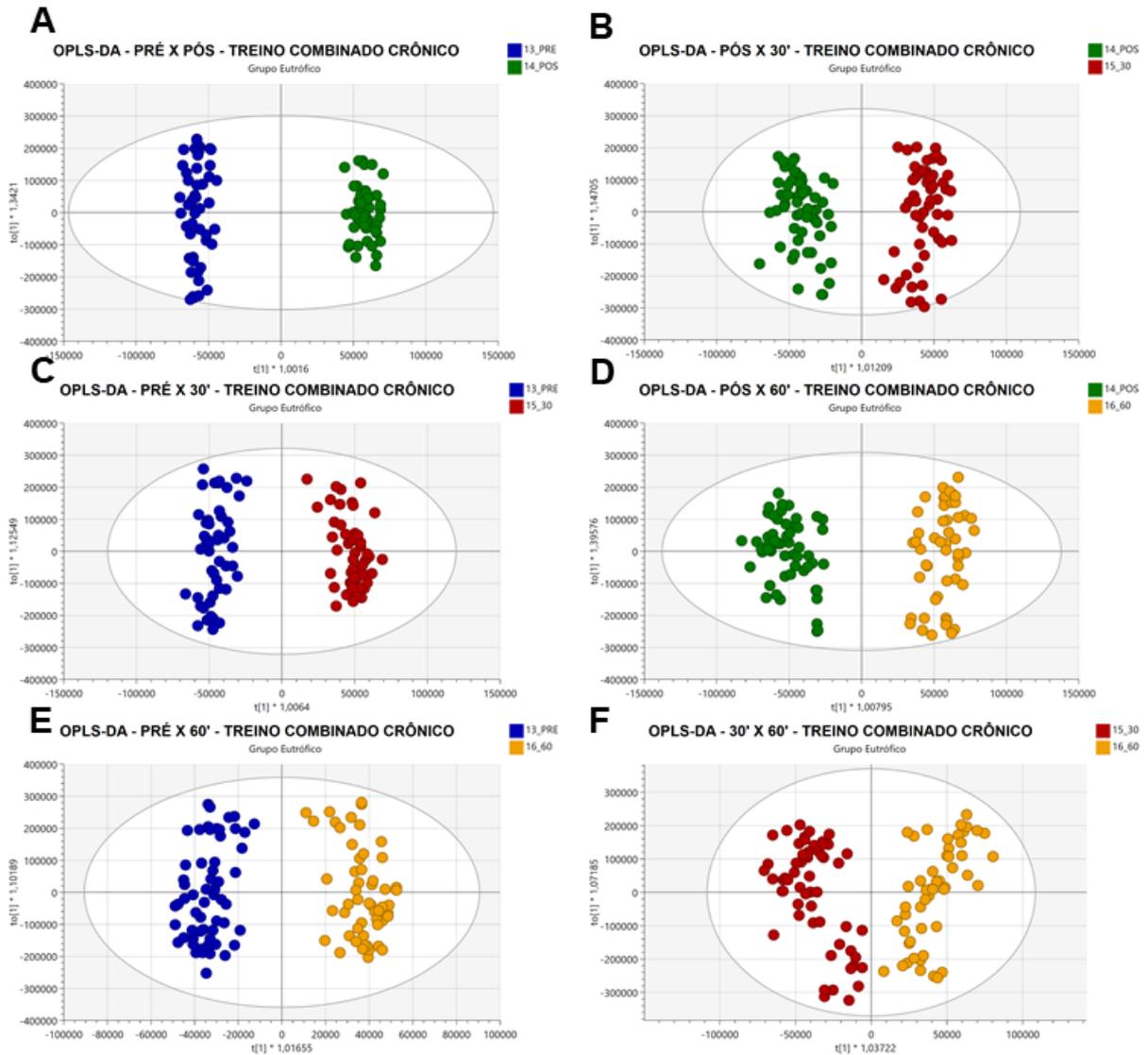
**Figura 20.** Comparações entre os momentos de coleta pré, pós, 30 min e 60 min após a sessão aguda de treino combinado do grupo obeso. **A** – Pré x Pós, **B** – Pós x 30 min, **C** – Pré x 30 min, **D** – Pós x 60 min, **E** – Pré x 60 min, **F** – 30 min x 60 min. Todos os modelos foram validados apresentando  $R^2Y > 0,9$ ,  $Q^2 \geq 0,5$  e  $p < 0,0001$ . O símbolo ' representa minutos.

## TREINO COMBINADO CRÔNICO (TCC) - Grupo DM2



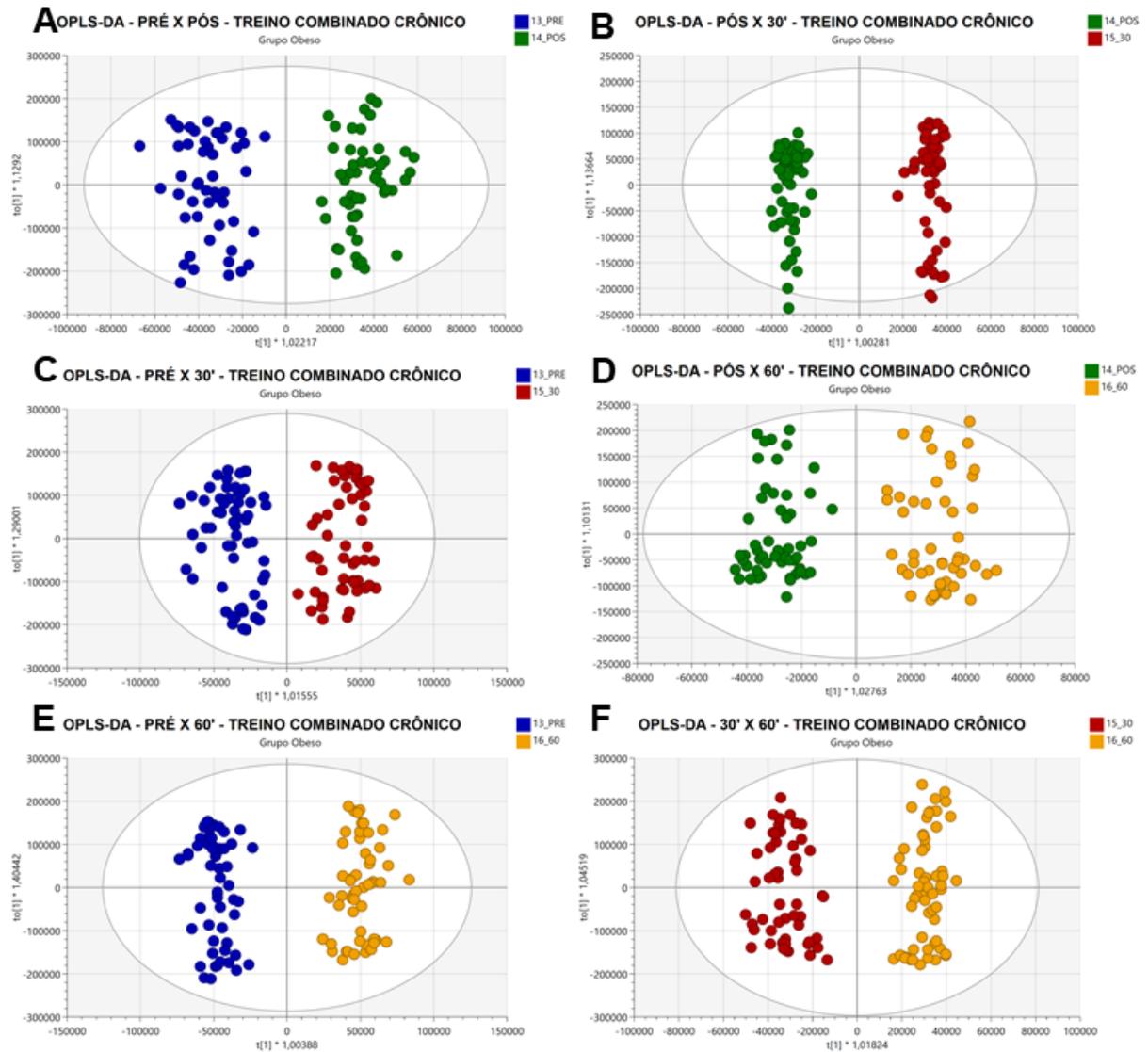
**Figura 21.** Comparações entre os momentos de coleta pré, pós, 30 min e 60 min após a sessão aguda de treino combinado do grupo DM2. A – Pré x Pós, B – Pós x 30 min, C – Pré x 30 min, D – Pós x 60 min, E – Pré x 60 min, F – 30 min x 60 min. Todos os modelos foram validados apresentando  $R^2Y > 0,9$ ,  $Q^2 \geq 0,5$  e  $p < 0,0001$ . O símbolo ' representa minutos.

## TREINO COMBINADO CRÔNICO (TCC) - Grupo Eutrófico



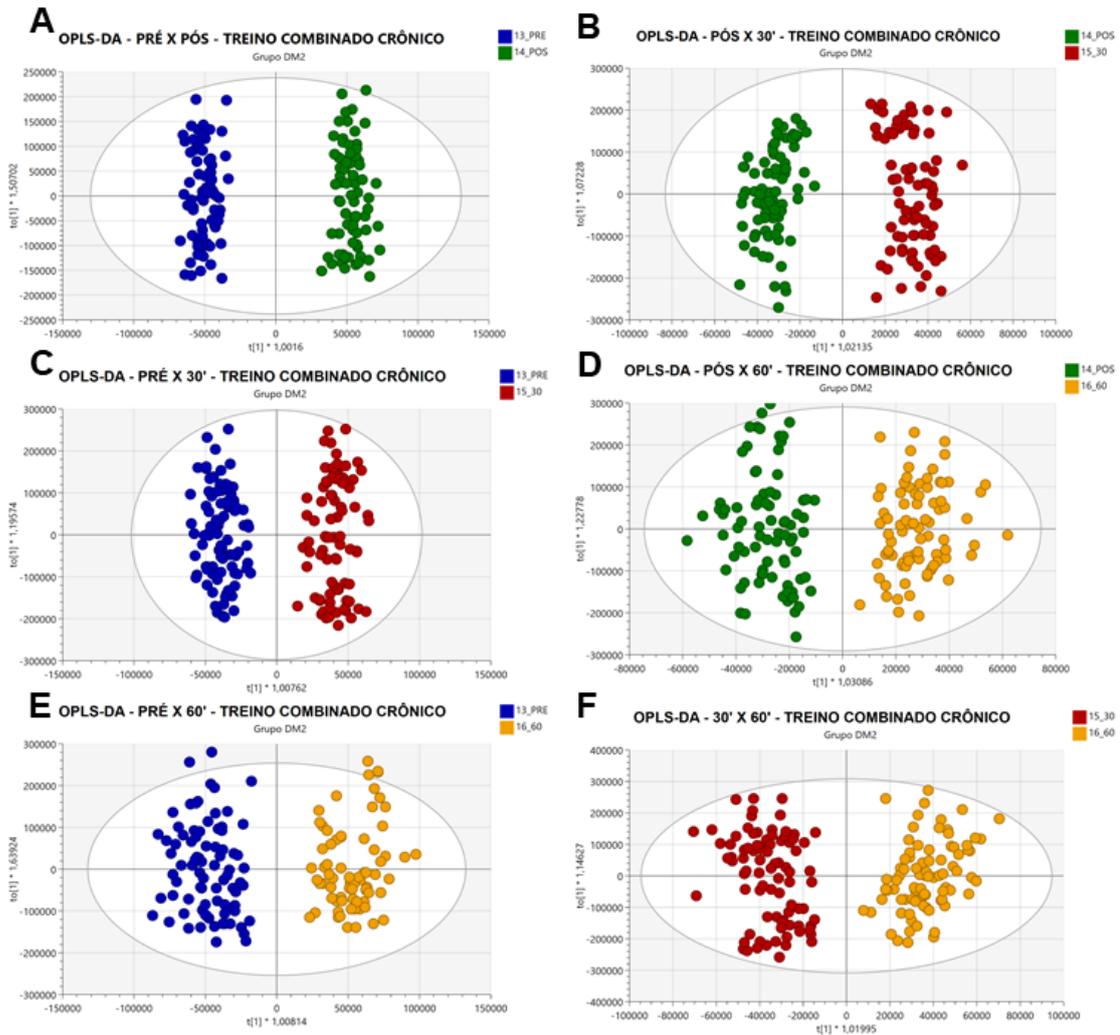
**Figura 22.** Comparações entre os momentos de coleta pré, pós, 30 min e 60 min após a sessão aguda de treino combinado crônico do grupo eutrófico. **A** – Pré x Pós, **B** – Pós x 30 min, **C** – Pré x 30 min, **D** – Pós x 60 min, **E** – Pré x 60 min, **F** – 30 min x 60 min. Todos os modelos foram validados apresentando  $R^2Y > 0,9$ ,  $Q^2 \geq 0,5$  e  $p < 0,0001$ , exceto o modelo F que apresentou  $Q^2 = 0,42$  e  $p < 0,0001$ . O símbolo ' representa minutos.

## TREINO COMBINADO CRÔNICO (TCC) - Grupo Obeso



**Figura 23.** Comparações entre os momentos de coleta pré, pós, 30 min e 60 min após a sessão aguda de treino combinado crônico do grupo obeso. **A** – Pré x Pós, **B** – Pós x 30 min, **C** – Pré x 30 min, **D** – Pós x 60 min, **E** – Pré x 60 min, **F** – 30 min x 60 min. Todos os modelos foram validados apresentando  $R^2Y > 0,9$ ,  $Q^2 \geq 0,5$  e  $p < 0,0001$ , exceto o modelo D que apresentou  $Q^2 = 0,41$  e  $p < 0,0001$ . O símbolo ' representa minutos.

## TREINO COMBINADO CRÔNICO (TCC) - Grupo DM2



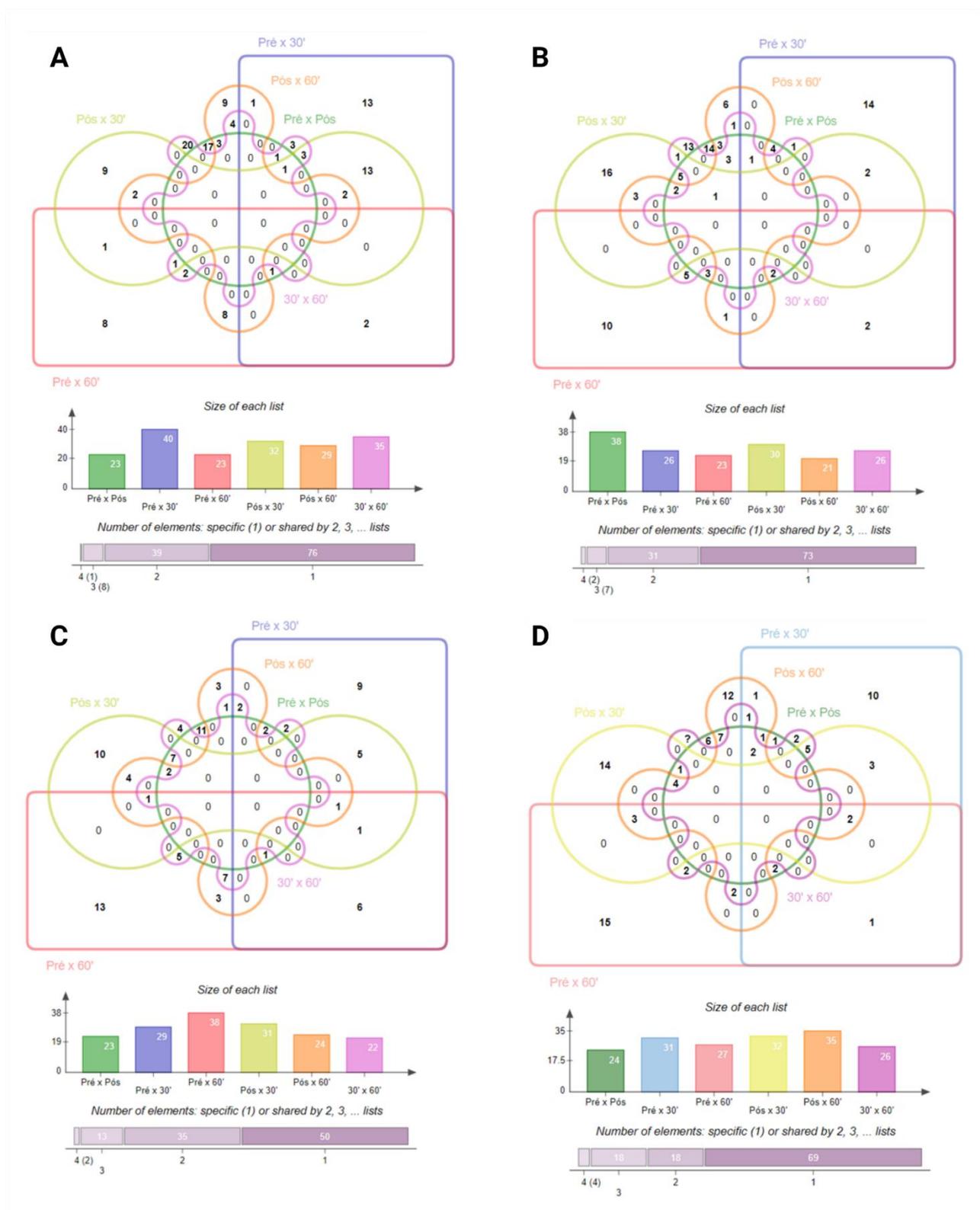
**Figura 24.** Comparações entre os momentos de coleta pré, pós, 30 min e 60 min após a sessão aguda de treino combinado crônico do grupo DM2. **A** – Pré x Pós, **B** – Pós x 30 min, **C** – Pré x 30 min, **D** – Pós x 60 min, **E** – Pré x 60 min, **F** – 30 min x 60 min. Todos os modelos foram validados apresentando  $R^2Y > 0,9$ ,  $Q^2 \geq 0,5$  e  $p < 0,0001$ , exceto o modelo E que apresentou  $Q^2 = 0,42$  e  $p < 0,0001$ . O símbolo ' representa minutos.

As Tabelas a seguir (9, 12 e 15) representam um resumo com todos os metabólitos selecionados no S-Plot de todas as comparações das sessões agudas dos grupos eutróficos, obesos e DM2 respectivamente. Já as Figuras 25, 26 e 27 são diagramas de Venn comparando as sessões agudas de treino de cada grupo para encontrar marcadores em comum e reduzir a quantidade deles, focando nos mais importantes e frequentes. Já as Tabelas 10, 13 e 16 mostram um resumo das comparações dos diagramas de Venn, evidenciando quais marcadores serão fragmentados e feita a busca nas bases de dados para a identificação. Finalmente as Tabelas 11, 14 e 17 apresentam as anotações baseadas nas massas exatas adquiridas e nas fragmentações dos marcadores.

**Tabela 9.** Principais metabólitos responsáveis pela segregação dos momentos (pré, pós, 30 min e 60 min) nos gráficos S-Plot, nos quatro treinos (TA, TF, TC e TCC) do grupo eutrófico.

TA Eutróficos						TF Eutróficos						TC Eutróficos						TCC Eutróficos					
Pré	Pré	Pré	Pós	Pós	30'	Pré	Pré	Pré	Pós	Pós	30'	Pré	Pré	Pré	Pós	Pós	30'	Pré	Pré	Pré	Pós	Pós	30'
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Pós	30'	60'	30'	60'	60'	Pós	30'	60'	30'	60'	60'	Pós	30'	60'	30'	60'	60'	Pós	30'	60'	30'	60'	60'
221	212	205	212	243	212	242	240	227	242	209	209	205	205	203	207	203	203	271	311	240	226	311	217
230	226	304	304	256	229	243	245	240	304	259	227	207	211	211	211	221	221	315	319	257	311	315	242
245	254	317	327	284	255	245	437	243	311	367	250	242	279	221	231	223	223	327	327	285	331	331	302
277	302	322	357	317	256	263	441	259	383	369	336	279	387	223	317	263	265	393	403	311	389	415	357
287	311	325	464	338	284	303	683	393	409	409	389	285	397	263	336	265	331	398	415	327	393	417	382
311	373	336	469	382	304	304	685	441	445	520	393	317	409	265	387	336	365	425	465	331	434	447	413
366	434	338	496	385	311	383	739	642	520	563	409	319	453	279	399	365	369	447	487	369	457	469	515
382	447	357	533	465	347	401	752	657	571	608	437	336	497	365	441	429	409	464	515	382	469	513	569
462	464	373	692	496	359	409	764	741	631	659	479	469	517	369	475	441	413	465	521	391	515	557	609
507	469	385	703	520	399	441	778	763	655	683	608	615	521	387	478	473	429	469	569	413	609	587	635
521	496	399	728	611	456	499	819	818	661	806	644	701	583	401	497	475	443	513	576	429	615	631	657
571	499	441	752	614	464	520	823	820	690	859	645	718	645	429	593	478	478	587	587	465	634	634	668
648	593	499	759	644	478	563	825	824	733	918	683	739	647	443	615	517	513	634	609	475	639	659	719
660	639	611	774	659	479	585	842	863	752	921	692	771	683	445	645	593	517	642	615	487	659	690	741
692	659	664	780	660	486	608	863	875	758	982	694	892	690	447	683	625	567	690	642	499	699	699	780
719	679	675	782	663	493	659	872	895	780	992	733	931	721	453	701	635	625	699	666	523	718	718	785
811	692	685	785	664	565	663	887	897	831	994	735	972	736	457	718	784	647	718	680	611	761	721	806
849	709	740	786	675	567	670	913	923	837	1002	741	987	809	473	763	851	784	719	692	645	777	729	851
988	731	748	790	685	600	680	931	968	838	1016	763	1001	815	478	815	944	831	729	719	659	785	741	972
1001	752	783	802	703	612	683	980	972	846	1043	918	1071	857	519	849	972	1049	902	733	741	851	761	974
1024	759	809	806	712	639	690	983	986	848	1082	986	1082	939	521	919	1049	1077	987	780	761	926	780	1005
1025	760	811	808	774	677	739	1073	1070	921	992	992	1102	1001	567	921	1058	1197	1023	785	818	928	888	1016
1123	774	964	813	783	692	748	1077	1197	977	1046	1193	1016	583	972	1077	1197	1193	1155	806	829	975	902	1023
	780		892	807	705	825	1123		994	1127		1023	595	987	1117			1182	809	855	1040	975	1094
	782		953	987	712	863	1142		1002	1150		1026	721	1057					851	975	1041	996	1102
	785		978	990	731	918	1197		1013	1155		1043	736	1058					975	1016	1045	1016	1140
	786		1002	1024	808	923			1016			1049	784	1078					1023	1138	1094	1023	
	806		1094	1103	809	928			1023			1073	835	1101					1041		1113	1044	
	808		1103	1117	829	970			1028			1101	879	1102					1045		1125	1073	
	811		1126		930	992			1077				890	1129					1094		1129	1092	
	813		1135		974	1000							897	1188					1191		1133	1127	
	892		1140		990	1016							944								1150	1155	
	930				1030	1023							998									1159	
	953				1043	1043							1028									1160	
	956				1045	1045							1041									1185	
	1057				1070	1070							1073										
	1126				1073	1073							1077										
	1127				1165	1165							1197										
	1135																						
	1149																						

Os números coloridos representam as massas/carga ( $m/z$ ) nominais de cada metabólito que apareceram em mais de uma comparação dentro do mesmo treino, enquanto os sem coloração representam metabólitos únicos de cada comparação. Os números em negrito estão relacionados ao primeiro momento de cada comparação (linha superior). O símbolo ' representa minutos.



**Figura 25.** Diagramas de Venn representando os metabólitos em comum ou únicos nas 6 comparações entre os tempos pré, pós, 30 min e 60 min do grupo eutrófico, nos 4 treinos. A – treino aeróbico (TA), B – treino de força (TF), C – treino combinado (TC), D – treino combinado crônico (TCC). Os números representam o número de metabólitos em cada comparação, sendo eles únicos ou compartilhados com os outros momentos. O símbolo ' representa minutos.

Tabela 10. Metabólitos em comum entre as comparações de tempos intra e entre treinos no grupo eutrófico.

TA Eutróficos			TF Eutróficos			TC Eutróficos			TCC Eutróficos					
382	Pré x Pós   Pós x 60'	357	Pré x 60'   Pós x 30'	245	921	205	Pré x Pós   Pré x 30'	441	642	Pré x Pós   Pré x 30'	469			
660	Pré x 30'   Pós x 30'	317		739	Pré x Pós   Pré x 30'	994	Pós x 30'   Pós x 60'	1001	475	Pós x 30'   Pós x 60'	393	Pré x Pós   Pós x 30'	634	Pré x Pós   Pós x 30'   Pós x 60'
1024		338		825		1002		207	593		315		699	
469		385		1073		209	Pós x 60'   30' x 60'	317	1058		447		718	
752		611		243		437	Pré x 30'   30' x 60'	615	336	Pré x Pós   Pós x 30'   Pós x 60'	513		331	
759		664	Pré x 60'   Pós x 60'	923	Pré x Pós   Pré x 60'	733	Pós x 30'   30' x 60'	701	972		690	Pré x Pós   Pós x 60'	659	Pré x 60'   Pós x 30'   Pós x 60'
780		675		1070		227		718	387	Pré x 30'   Pré x 60'   Pós x 30'	729	Pré x Pós   Pós x 60'	761	
782		685		242		393	Pré x 60'   30' x 60'	987	211	Pré x 30'   Pré x 60'   Pós x 30'   Pós x 60'	902		741	Pré x 60'   Pós x 60'   30' x 60'
785	Pré x 30'   Pós x 30'	783		304	Pré x Pós   Pós x 30'	741		1102	221		1155		1016	
786	Pré x 30'   30' x 60'	703	Pós x 30'   Pós x 60'	383		763		453	369		487	Pré x 30'   Pré x 60'	569	Pré x 30'   30' x 60'
806		1103		690		986		521	443	Pré x 60'   30' x 60'	615		806	
813		256		1023		441	Pré x Pós   Pré x 30'   Pré x 60'	583	567		1041	Pré x 30'   Pós x 30'	780	Pré x 30'   Pós x 60'   30' x 60'
892		284	Pós x 60'   30' x 60'	259	Pré x 60'   Pós x 60'	863		721	1197		1045		515	
953		712		563	Pré x Pós   Pós x 30'	520	Pré x Pós   Pós x 30'   Pós x 60'	736	203		415	Pré x 30'   Pós x 60'	609	Pré x 30'   Pós x 30'   30' x 60'
1126		990		659		1016		1073	223		327	Pré x Pós   Pré x 30'   Pré x 60'	785	
1135		212	Pré x 30'   Pós x 30'   30' x 60'	1043		608		497	265		465		851	
639		464		240	Pré x 30'   Pré x 60'	918	Pré x Pós   Pós x 60'   30' x 60'	645	365		311	Pré x 30'   Pré x 60'   Pós x 30'   Pós x 60'	1094	
731	Pré x 30'   30' x 60'	808	Pré x 30'   Pós x 30'   30' x 60'	1197		992		683	429	Pré x 60'   Pós x 60'   30' x 60'	975		587	Pré x Pós   Pré x 30'   Pós x 60'
930	Pré x 30'   Pós x 60'	496	Pré x 30'   Pós x 30'   Pós x 60'	752	Pré x 30'   Pós x 30'	409	Pré x Pós   Pós x 30'   Pós x 60'   30' x 60'	815	784		382	Pré x 60'   30' x 60'	719	Pré x Pós   Pré x 30'   Pós x 60'   30' x 60'
659	Pré x 30'   Pré x 60'	774		1077		683	Pré x Pós   Pré x 30'   Pós x 60'   30' x 60'	1101	1077		413		1023	
373	Pré x 30'   Pré x 60'	304	Pré x 60'   Pós x 30'   30' x 60'					263	478	Pré x 60'   Pós x 30'   Pós x 60'   30' x 60'				
499	Pré x 60'   30' x 60'	311	Pré x Pós   Pré x 30'   30' x 60'					473	409	Pré x 60'   Pós x 60'				
399	Pré x 60'   30' x 60'	811	Pré x Pós   Pré x 30'   Pré x 60'					944	647	Pré x 30'   30' x 60'				
809		692	Pré x Pós   Pré x 30'   Pós x 30'   30' x 60'					279	517	Pré x Pós   Pré x 30'   Pré x 60'				
								625	1049	Pós x 60'   30' x 60'				

Os números coloridos representam as massas/carga (m/z) nominais de cada metabólito que apareceram em mais de uma comparação entre treino. O símbolo ' representa minutos.

**Tabela 11.** Anotação dos marcadores selecionados nas três sessões de treino agudas (aeróbio, força, combinado) e na sessão aguda crônica de combinado do grupo eutrófico.

TA Eutróficos					TF Eutróficos				
Massa Nominal	Massa Exata	Classe	Espécie	Anotação	Massa Nominal	Massa Exata	Classe	Espécie	Anotação
382	382,3316	FA	FA	NA 23:2;O2	245	245,0809	FA	FA	FA 14:8;O2
469	469,2029	FA	FA	Glucosylgalactosyl hydroxyllysine	243	243,1380	FA	FA	FA 16:7
373	373,2585	FA	FA	FA 20:2;O4	1070	1070,3471	FA	FA	CoA 20:4;O
357	357,2788	FA	FA	FA 24:6	242	242,2114	FA	FA	FA 14:2
317	317,2087	FA	FA	FA 18:3;O	304	304,2846	FA	FA	FA 17:0;O
338	338,3417	FA	FA	NAE 20:0	383	383,3156	FA	FA	FA 23:2;O2
385	385,3101	FA	FA	FA 26:6	259	259,1693	FA	FA	FA 17:6
284	284,3312	FA	FA	2-Methyl-(Z)-7-octadecene	209	209,1512	FA	FA	FA 11:0
304	304,2846	FA	FA	FA 17:0;O	437	437,2146	FA	FA	FA 21:4;O6
311	311,1618	FA	FA	FA 18:6;O	227	227,1430	FA	FA	FA 16:6
611	611,4662	GL	DG	DG 32:0	393	393,2248	FA	FA	FA 20:3;O4
892	892,7439	GL	TAG	TG 54:8	409	409,1713	FA	FA	6-bromo-eicosa-5E,9Z-dienoic acid
953	953,7552	GL	TAG	TG 60:11	563	563,4670	GL	DG	DG 32:3
930	930,7600	GL	TAG	TG 57:10	1073	1073,7934	GL	TAG	TG 66:12
990	990,8529	GL	TAG	TG 61:8	923	923,7482	GL	TAG	TG 54:3
496	496,3398	GP	LPC	LPC 16:0(0:0/16:0)	1077	1077,8247	GL	TAG	TG 66:10
499	499,3507	GP	LPE	LPE 18:0	921	921,7302	GL	TAG	TG 54:4
464	464,3135	GP	LPE	LPE O-18:1;O	994	994,7776	GL	TAG	TG 62:13
759	759,5722	GP	PC	PC 33:3	1016	1016,7702	GL	TAG	TG 64:16
782	782,5686	GP	PC	PC 36:4	918	918,8411	GL	TAG	TG 55:2
786	786,6003	GP	PC	PC 36:2	1023	1023,5794	GP	CDP-DG	CDP-DG 36:2
809	809,6507	GP	PC	PC 38:5	1043	1043,5481	GP	CDP-DG	CDP-DG 38:6
783	783,5715	GP	PC	PC 35:5	520	520,3398	GP	LPC	LPC 18:2
808	808,5850	GP	PC	PC 37:7	825	825,6116	GP	PC	PC 38:5
774	774,5997	GP	PC	PC 35:1	763	763,5937	GP	PC	PC 33:1
660	660,5326	GP	PE	PE O-32:0	992	992,7421	GP	PC	PC 48:2
780	780,6628	GP	PE	PE 37:2	741	741,5487	GP	PE	PE O-36:5
806	806,5694	GP	PE	PE 41:6	752	752,5442	GP	PG	PG 33:1
639	639,5072	GP	PE	PE O-28:0	863	863,5121	GP	PG	PG 40:5
664	664,4351	GP	PE	PE 32:5	608	608,5610	SP	Cer	Cer 38:2;O3
752	752,5442	GP	PG	PG 33:1	683	683,7079	SP	Cer	Cer 43:0;O2
1103	1103,7564	SP	asialo-GM2	Hex(2)-HexNAc-Cer 38:1;O2	739	739,5164	SP	CerPE	CerPE 37:2;O2
675	675,5435	SP	CerPE	CerPE 35:1;O2	690	690,6004	SP	CerPE	CerPE 34:3;O3
685	685,5279	SP	CerPE	CerPE 36:2;O3	1197	1197,7959	SP	Hex(2)-HexNAc-Cer	Hex(2)-HexNAc-Cer 42:2;O2
692	692,5321	SP	CerPE	CerPE 34:2;O3	1002	1002,7771	SP	Hex2Cer	Hex2Cer 44:1;O2
1135	1135,6077	SP	GM3	Ganglioside GM3 (d18:1/12:0)	986	986,6846	SP	Hex2Cer	Hex2Cer 40:0;O2
1024	1024,6778	SP	Hex3Cer	Hex3Cer 34:1;O2	659	659,5220	SP	HexCer	HexCer 30:2;O2
659	659,5220	SP	HexCer	HexCer 30:2;O2	733	733,6219	SP	SM	SM 36:0;O2
712	712,5774	SP	HexCer	HexCer 35:2;O2	441	441,2038	ST	ST	ST 24:4;O5
785	785,6529	SP	SM	SM 40:2;O2					
813	813,6838	SP	SM	SM 42:2;O2					
731	731,6059	SP	SM	SM 36:1;O2					
703	703,5745	SP	SM	SM 34:1;O2					
811	811,6688	SP	SM	SM 40:0;O2					
399	399,2160	ST	ST	ST 24:6;O5					
1126		UN	UN	UN					
212		UN	UN	UN					

TC Eutróficos					TCC Eutróficos				
Massa Nominal	Massa Exata	Classe	Espécie	Anotação	Massa Nominal	Massa Exata	Classe	Espécie	Anotação
317	317,2087	FA	FA	FA 18:3;O	311	311,1618	FA	FA	FA 18:6;O
263	263,0890	FA	FA	FA 12:4;O3	315	315,2294	FA	FA	FA 19:3
279	279,1588	FA	FA	FA 16:4;O3	327	327,2294	FA	FA	FA 20:4
475	475,2836	FA	FA	leukotriene E4	331	331,2244	FA	FA	FA 19:3;O
336	336,3261	FA	FA	NA 22:2	382	382,3316	FA	FA	NA 23:2;O2
387	387,2506	FA	FA	FA 22:4;O2	393	393,2248	FA	FA	FA 20:3;O4
211	211,1305	FA	FA	FA 10:0;O	465	465,2463	FA	FA	Prostaglandin G2 2-glyceryl Ester
221	221,1512	FA	FA	FA 12:1	469	469,2029	FA	FA	Glucosylgalactosyl hydroxylysine
223	223,1668	FA	FA	FA 12:0	587	587,4670	GL	DG	DG 34:5
265	265,1798	FA	FA	FA 16:4;O	615	615,4983	GL	DG	DG 36:5
409	409,1713	FA	FA	6-bromo-eicosa-5E,9Z-dienoic acid	729	729,4855	GL	DG	DG 42:9
615	615,4983	GL	DG	DG 36:5	851	851,7123	GL	TAG	TG 52:6
1001	1001,7569	GL	TAG	TG 62:12	902	902,7286	GL	TAG	TG 55:10
987	987,7467	GL	TAG	TG 61:12	975	975,6899	GL	TAG	TG 59:12
736	736,6438	GL	TAG	TG 42:2	1016	1016,7702	GL	TAG	TG 64:16
1073	1073,7934	GL	TAG	TG 66:12	1041	1041,8820	GL	TAG	TG 64:6
944	944,7656	GL	TAG	TG 58:10	1045	1045,8560	GL	TAG	TG 63:5
1077	1077,8247	GL	TAG	TG 66:10	513	513,2935	GP	LPS	LPS 16:1
1049	1049,7934	GL	TAG	TG 64:10	515	515,3092	GP	LPS	LPS 16:0
1058	1058,5842	GP	CDP-DG	CDP-DG 40:4	719	719,5733	GP	PE	PE O-34:2
521	521,3350	GP	LPE	LPE 20:3	741	741,5487	GP	PE	PE O-36:5
478	478,3292	GP	LPE	LPE O-19:2	761	761,5885	GP	PC	PC 33:2
784	784,5861	GP	PC	PC 36:3	780	780,6628	GP	PE	PE 37:2
721	721,5490	GP	PE	PE 33:1	806	806,5694	GP	PE	PE 41:6
583	583,5772	SP	Cer	Cer 36:1;O2	1023	1023,5794	GP	CDP-DG	CDP-DG 36:2
683	683,7079	SP	Cer	Cer 43:0;O2	1094	1094,6707	GP	CDP-DG	CDP-DG(42:0)
625	625,5878	SP	Cer	Cer 38:2;O3	569	569,5252	SP	Cer	Cer 34:2;O3
567	567,5095	SP	Cer	Cer 34:3;O3	609	609,5929	SP	Cer	Cer 38:2;O2
701	701,5586	SP	CerPE	CerPE 37:2;O2	634	634,5745	SP	Cer	Cer 38:0;O3
645	645,4966	SP	CerPE	CerPE 33:2;O2	642	642,4939	SP	HexCer	HexCer 30:2;O2
647	647,5122	SP	CerPE	CerPE 33:1;O2	659	659,5220	SP	HexCer	HexCer 30:2;O2
1197	1197,7959	SP	Hex(2)-HexNAc-Cer	Hex(2)-HexNAc-Cer 42:2;O2	690	690,6004	SP	CerPE	CerPE 34:3;O3
972	972,7397	SP	Hex2Cer	Hex2Cer 42:2;O2	699	699,4788	SP	CerPE	CerPE 34:1;O2
1102	1102,7224	SP	Hex3Cer	Hex3Cer 38:1;O2	718	718,5910	SP	SM	SM 34:2;O2
1101	1101,7772	SP	NeuAcHexCer	NeuAcHexCer 42:2;O2	785	785,6529	SP	SM	SM 40:2;O2
718	718,5910	SP	SM	SM 34:2;O2	1155	1155,7247	SP	GM3	Ganglioside GM3 (d18:0/16:0)
815	815,6944	SP	SM	SM 42:1;O2	413	413,2662	ST	ST	ST 24:2;O4
453	453,3703	ST	ST	ST 29:1;O2	415	415,2819	ST	ST	ST 24:1;O4
497	497,3237	ST	ST	ST 29:3;O5	447	447,2717	ST	ST	ST 24:1;O6
473	473,3237	ST	ST	ST 27:1;O5	487	487,2302	ST	ST	ST 19:2;O2;GlcA
441	441,2038	ST	ST	ST 24:4;O5					
369	369,3516	ST	ST	ST 27:1;O					
443	443,3496	ST	ST	ST 27:0;O3					
365	365,2111	ST	ST	ST 24:6;O4					
429	429,2611	ST	ST	ST 24:2;O5					
207		UN	UN	UN					
593		UN	UN	UN					
203		UN	UN	UN					
517		UN	UN	UN					

**Tabela 12.** Principais metabólitos responsáveis pela segregação dos momentos (pré, pós, 30 min e 60 min) nos gráficos S-Plot, nos quatro treinos (TA, TF, TC e TCC) do grupo obesos.

TA Obesos						TF Obesos						TC Obesos						TCC Obesos						
Pré	Pré	Pré	Pós	Pós	30'	Pré	Pré	Pré	Pós	Pós	30'	Pré	Pré	Pré	Pós	Pós	30'	Pré	Pré	Pré	Pós	Pós	30'	
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
Pós	30'	60'	30'	60'	60'	Pós	30'	60'	30'	60'	60'	Pós	30'	60'	30'	60'	60'	Pós	30'	60'	30'	60'	60'	
209	227	209	227	214	214	228	209	227	209	209	228	206	224	209	206	209	344	251	253	215	215	203	200	
268	228	214	228	215	253	231	228	243	254	250	299	290	245	423	245	216	350	277	257	253	228	225	228	
275	305	215	305	266	259	250	231	254	259	266	328	343	343	429	294	294	384	279	297	254	259	231	254	
283	311	253	311	268	268	310	254	323	272	272	336	353	345	485	321	353	423	343	310	257	284	272	269	
327	391	301	391	270	270	356	257	328	274	274	355	361	377	537	322	360	448	385	345	268	302	275	275	
336	398	309	398	317	274	374	299	336	284	284	371	434	378	538	344	423	458	391	357	285	310	316	284	
359	406	395	406	325	283	383	346	346	328	299	375	486	393	593	345	434	478	423	373	301	347	319	310	
383	409	399	409	349	302	415	350	350	355	310	411	512	457	704	458	481	482	435	382	366	375	338	319	
397	442	413	442	391	371	420	368	365	399	369	453	563	461	706	502	484	494	442	391	435	403	356	336	
399	451	439	451	397	397	438	409	368	405	415	548	603	477	714	526	531	537	453	403	442	423	357	373	
405	611	516	611	521	409	462	427	369	416	451	559	668	478	743	545	630	598	469	435	469	439	366	385	
412	703	567	703	565	451	565	453	374	420	453	617	679	488	754	600	654	600	483	439	483	455	385	391	
421	721	611	721	595	601	645	504	375	567	462	692	698	505	832	608	687	615	507	442	548	499	391	406	
516	758	612	758	611	692	702	532	377	601	635	771	705	515	834	630	688	636	509	469	565	637	417	417	
521	759	664	759	642	721	711	548	438	648	675	903	718	523	867	632	705	685	587	471	567	639	423	455	
573	809	703	809	747	839	719	625	451	1013	694	987	787	563	879	644	714	704	609	509	587	655	513	595	
670	818	758	818	1125	1125	926	647	479	1071	701	1002	788	600	938	679	800	706	677	565	609	681	548	639	
692	851	831	851	1142	1142	939	670	567	1107	809	1022	795	629	971	723	869	707	692	567	633	699	593	642	
700	934	1048	934	1153	1143	1125	683	617	1125	831	1030	825	635	974	752	921	723	707	595	659	759	595	659	
837	979	1109	979	1187	1153	1153	703	647	1130	903		834	707	1062	788	936	732	713	655	677	813	612	677	
1000	1000	1125	1000		1187	1180	739	701	1167	919		853	718	1065	800	971	745	741	659	707	857	659	691	
1011	1018	1126	1018				939	739	1180	987		869	723	1093	851	974	797	809	692	713	919	699	774	
1018	1097	1142	1097				1000	749		1001		897	739	1095	853	1045	849	810	713	729	1001	851	851	
1112	1197	1150	1197				1070	831		1030		950	783	1114	869	1049	953	815	747	778	1023	895	873	
	1199	1151	1199				1153	879		1167		1045	797	1174	890	1062	1062	895	803	791	1030	897	994	
		1153					1195	913		1168		1050	826		898	1078	1102	979	857	809	1139	994	1055	
		1168						919		1180		1061	867		914	1114	1114	1001	923	815	1153	1001	1077	
		1169						987		1181		1078	884		921	1172	1174	1015	1030	895		1057	1089	
		1180						1000				1118	898		977	1174		1111	1070	1015		1089	1102	
		1187						1070				1138	914		1045			1124	1124	1030		1113	1159	
								1151				1182	936		1050			1126	1126	1124		1128	1199	
								1153				1193			1061							1138		
															1078							1163		
															1102							1179		
															1136							1199		
															1193									

Os números coloridos representam as massas/carga ( $m/z$ ) nominais de cada metabólito que apareceram em mais de uma comparação dentro do mesmo treino, enquanto os sem coloração representam metabólitos únicos de cada comparação. Os números em negrito estão relacionados ao primeiro momento de cada comparação (linha superior). O símbolo ' representa minutos.



**Tabela 13.** Metabólitos em comum entre as comparações de tempos intra e entre treinos no grupo obesos. Os números coloridos representam metabólitos comum entre os treinos

TA Obesos		TF Obesos		TC Obesos		TCC Obesos							
209	Pré x Pós   Pré x 60'	1000	Pré x Pós   Pré x 30'   Pós x 30'	231	Pré x Pós   Pré x 30'	272	Pré x Pós   Pré x 30'	509	Pré x Pós   Pré x 30'	435			
399		1018		939		274		692		442			
516		703		374		284		800		469			
521	Pré x Pós   Pós x 60'	758	Pré x 30'   Pré x 60'   Pós x 30'	438	Pré x Pós   Pré x 60'	1167	Pós x 30'   Pós x 60'	834	Pré x Pós   Pré x 60'	921	483	713	Pré x Pós   Pré x 30'   Pré x 60'
227	Pré x 30'   Pós x 30'   Pós x 60'	391	Pré x 30'   Pós x 30'   Pós x 60'	420	Pré x Pós   Pós x 30'	1153	Pré x Pós   Pré x 30'   Pré x 60'	206	869	587	1124		
228		611		1125		1180		679		1045		609	423
305		270		250		254		788		1078		707	1001
311		253		310		209		853		344		809	1030
398		214		415		903		1050					
406		1125		462		1030		1061		1102		1015	319
442		1142		346		355		1193		537		253	417
759		1153		350		336		353		704		257	851
809		1187		368		375		434		706		565	994
818		409		647		617		705		423		567	1089
851	451	739	987	867	1062	403	1199						
934	721	1000	328	245	1114	439	228						
979	283	1070	548	345	1174	655	284						
1097	692	567	299	898	478	857	455						
1197	268	369	453	914	707	357	639						
1199	397	451	228	936	797	215	254						
215	Pré x 60'   Pós x 60'	701	Pré x 60'   Pós x 60'	209	600	366	373						
		831		714	723	548	595						
		919		971		699	310						
				974		895	659						
						385	677						
							391						

Os números coloridos representam as massas/carga ( $m/z$ ) nominais de cada metabólito que apareceram em mais de uma comparação entre treinos. O símbolo ' representa minutos.

**Tabela 14.** Anotação dos marcadores selecionados nas três sessões de treino agudas (aeróbio, força, combinado) e na sessão aguda crônica de combinado do grupo obeso.

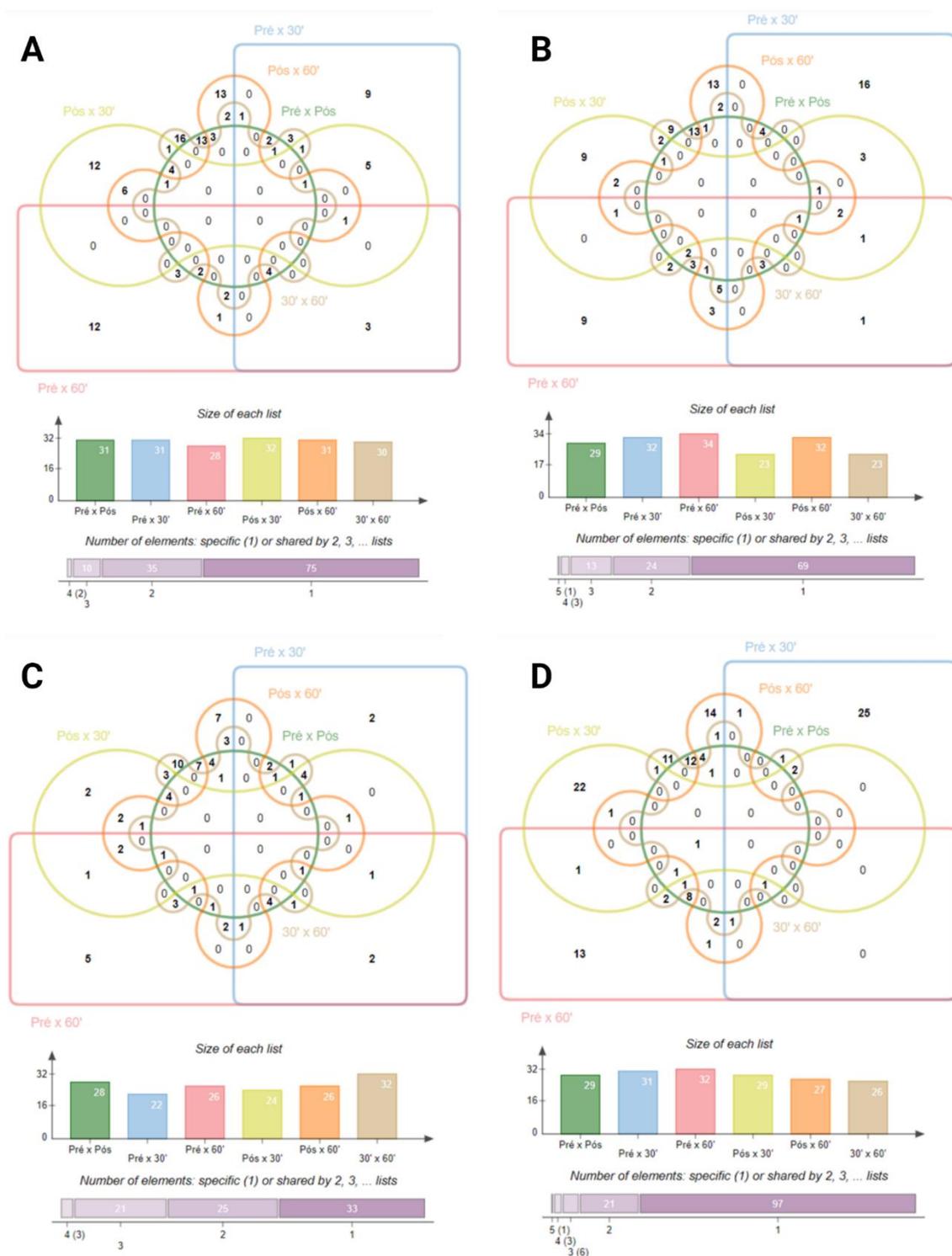
TA Obesos					TF Obesos				
227	227,1430	FA	FA	FA 16:6	310	310,1989	FA	FA	CAR 8:0
228	228,2322	FA	FA	Myristamide	462	462,3190	FA	FA	CAR 18:2;O
305	305,1877	FA	FA	FA 17:2	346	346,3316	FA	FA	FA 20:0;O
311	311,1618	FA	FA	FA 18:6;O	350	350,2302	FA	FA	10-nitro-9E-octadecenoic acid
398	398,2666	FA	FA	NA 23:5;O2	368	368,2431	FA	FA	FA 20:5;O3
406	406,2354	FA	FA	CAR 14:2	1070	1070,3470	FA	FA	CoA 20:4;O
442	442,2622	FA	FA	Leukotriene E3	451	451,2182	FA	FA	6-bromo-tricoso-5E,9Z-dienoic acid
391	391,2455	FA	FA	FA 21:3;O3	272	272,2584	FA	FA	2-amino-hexadecanoic acid
409	409,1713	FA	FA	6-bromo-eicosa-5E,9Z-dienoic acid	274	274,2740	FA	FA	FA 16:0
451	451,2182	FA	FA	6-bromo-tricoso-5E,9Z-dienoic acid	284	284,3312	FA	FA	2-Methyl-(Z)-7-octadecene
397	397,2585	FA	FA	FA 22:4;O4	209	209,1512	FA	FA	FA 11:0
611	611,4662	GL	DG	DG 32:0	355	355,1745	FA	FA	FA 16:2;O5
934	934,7804	GL	TAG	TG 57:8	336	336,3261	FA	FA	NA 22:2
979	979,8036	GL	TAG	TG 58:3	375	375,3258	FA	FA	FA 25:4
851	851,7123	GL	TAG	TG 52:6	328	328,1157	FA	FA	CAR 6:1;O2
1000	1000,5035	GP	CDP-DG	CDP-DG 34:2	299	299,1430	FA	FA	FA 22:12
1142	1142,7296	GP	CL	CI 48:2	228	228,2322	FA	FA	Myristamide
516	516,3085	GP	LPC	LPC 18:4	617	617,5139	GL	DG	DG 36:4
521	521,3350	GP	LPE	LPE 20:3	939	939,8425	GL	TAG	TG 58:4
759	759,5722	GP	PC	PC 33:3	919	919,7147	GL	TAG	TG 54:5
818	818,5653	GP	PC	PC 37:4	903	903,7489	GL	TAG	TG 56:8
1018	1018,7259	GP	PC	PC 54:12	987	987,7467	GL	TAG	TG 61:12
758	758,5687	GP	PC	PC 34:2	1000	1000,5040	GP	CDP-DG	CDP-DG 34:2
721	721,5490	GP	PE	PE 33:1	1030	1030,5530	GP	CDP-DG	CDP-DG 38:4
283	283,2069	PL	Prenol	Retinoic Acid	1167	1167,7890	GP	CL	CL(52:0)
692	692,5321	SP	CerPE	CerPE 34:2;O3	420	420,2873	GP	LPE	LPE O-16:1
1153	1153,6861	SP	GA1	Ganglioside GA1 (d18:1/12:0)	548	548,2748	GP	LPE	LPE 22:6
1097	1097,6527	SP	GM3	Ganglioside GM3 (d18:1/12:0)	438	438,2251	GP	LPS	LPS 13:0
1125	1125,6843	SP	GM3	Ganglioside GM3 (d18:1/14:0)	831	831,5706	GP	PI-Cer	IPC 34:0;O4
1197	1197,7959	SP	Hex(2)-HexNAc-Cer	Hex(2)-HexNAc-Cer 42:2;O2	567	567,5095	SP	Cer	Cer 34:3;O3
1199	1199,8115	SP	Hex(2)-HexNAc-Cer	Hex(2)-HexNAc-Cer 42:1;O2	647	647,5122	SP	CerPE	CerPE 33:1;O2
1187	1187,8503	SP	Hex(2)-HexNAc-Cer	Hex(2)-HexNAc-Cer 44:1;O2	739	739,5164	SP	CerPE	CerPE 37:2;O2
809	809,6507	SP	SM	SM 40:1;O2	701	701,5586	SP	CerPE	CerPE 37:2;O2
703	703,5745	SP	SM	SM 34:1;O2	1153	1153,6860	SP	GA1	Ganglioside GA1 (d18:1/12:0)
399	399,2160	ST	ST	ST 24:6;O5	1125	1125,6840	SP	GM3	Ganglioside GM3 (d18:1/14:0)
214		UN	UN	UN	374	374,2067	SP	SP	SPBP 16:1;O2
					415	415,2819	ST	ST	ST 24:1;O4
					369	369,3516	ST	ST	ST 27:1;O
					453	453,3703	ST	ST	ST 29:1;O2
					1180		UN	UN	UN

TC Obesos					TCC Obesos				
245	245,0809	FA	FA	FA 14:8;O2	483	483,3833	FA	FA	FA 32:6;O2
345	345,2424	FA	FA	FA 22:6;O	257	257,1900	FA	FA	FA 18:5
209	209,1512	FA	FA	FA 11:0	403	403,2326	FA	FA	FA 20:3;O6
344	344,2795	FA	FA	CAR 12:0	439	439,353	FA	FA	CAR 18:3
563	563,4670	GL	DG	DG 32:3	357	357,2788	FA	FA	FA 24:6
353	353,2662	GL	MG	MG 16:0	385	385,3101	FA	FA	FA 26:6
1061	1061,8873	GL	TAG	TG 64:4	442	442,2622	FA	FA	Leukotriene E3
867	867,6831	GL	TAG	TG 50:3	469	469,2029	FA	FA	Glucosylgalactosyl hydroxylysine
898	898,7820	GL	TAG	TG 54:5	275	275,1980	FA	FA	FA 16:2
914	914,7283	GL	TAG	TG 56:11	319	319,2244	FA	FA	FA 18:2;O
936	936,8907	GL	TAG	TG 56:0	228	228,2322	FA	FA	Myristamide
971	971,7121	GL	TAG	TG 62:16	284	284,3312	FA	FA	2-Methyl-(Z)-7-octadecene
921	921,7302	GL	TAG	TG 54:4	373	373,2585	FA	FA	FA 20:2;O4
869	869,6984	GL	TAG	TG 50:2	310	310,1989	FA	FA	CAR 8:0
1045	1045,8560	GL	TAG	TG 63:5	391	391,2455	FA	FA	FA 21:3;O3
1078	1078,8789	GL	TAG	TG(68:13)	587	587,4670	GL	DG	DG 34:5
853	853,7280	GL	TAG	TG 52:5	565	565,4826	GL	DG	DG 32:2
1062	1062,6110	GP	CDP-DG	CDP-DG(40:2)	417	417,2611	GL	MG	MG 20:4;O
478	478,3292	GP	LPE	LPE O-19:2	1015	1015,7151	GL	TAG	TG 62:13
834	834,6007	GP	PC	PC 40:6	895	895,7151	GL	TAG	TG 52:3
788	788,5551	GP	PC	PC O-36:5	1001	1001,7569	GL	TAG	TG 62:12
705	705,5611	GP	PC	PC O-30:2	994	994,7776	GL	TAG	TG 62:13
800	800,52248	GP	PC	PC 38:9	851	851,7123	GL	TAG	TG 52:6
704	704,5536	GP	PC	PC O-31:1	1030	1030,5529	GP	CDP-DG	CDP-DG 38:4
706	706,5362	GP	PC	PC 30:0	548	548,2748	GP	LPE	LPE 22:6
797	797,5781	GP	PC	PC 36:5	639	639,5072	GP	PE	PE O-28:0
974	974,6743	GP	PI	PI 43:4	677	677,4864	GP	PE	PE 30:2
1050	1050,7709	GP	PS-Nac	PS-Nac 36:1	857	857,5091	GP	PI	PI 34:2
630	630,6159	SP	Cer	Cer 40:0;O	609	609,5929	SP	Cer	Cer 38:2;O2
600	600,5326	SP	Cer	Cer 37:2;O2	567	567,5095	SP	Cer	Cer 34:3;O3
679	679,4829	SP	CerPE	CerPE 34:3;O2	713	713,7201	SP	Cer	Cer 44:0;O3
707	707,5069	SP	CerPE	CerPE 36:3;O2	595	595,5408	SP	Cer	Cer 36:3;O3
723	723,5407	SP	CerPE	CerPE 37:2;O2	692	692,5321	SP	CerPE	CerPE 34:2;O3
1193	1193,789	SP	GM3	Ganglioside GM3 (d18:0/20:0)	707	707,5069	SP	CerPE	CerPE 36:3;O2
1114	1114,6805	SP	GM3	Ganglioside GM3 (d18:1/12:0)	655	655,5173	SP	CerPE	CerPE 35:2;O2
1102	1102,7224	SP	Hex3Cer	Hex3Cer 38:1;O2	699	699,4788	SP	CerPE	CerPE 34:1;O2
1174	1174,7589	SP	Hex3Cer	Hex3Cer 42:1;O2	1199	1199,8115	SP	Hex(2)-HexNAc-Cer	Hex(2)-HexNAc-Cer 42:1;O2
714	714,5516	SP	HexCer	HexCer 34:2;O3	659	659,5220	SP	HexCer	HexCer 30:2;O2
434	434,2445	SP	S1P	Sphingosine 1-phosphate	809	809,6507	SP	SM	SM 40:1;O2
718	718,5910	SP	SM	SM 34:2;O2	815	815,6944	SP	SM	SM 42:1;O2
537	537,2330	ST	ST	ST 21:4;O5;GlcA	366	366,1134	ST	ST	2-Hydroxyestrone sulfate
423	423,1238	ST	ST	ST 19:2;O3;S	435	435,2507	ST	ST	ST 23:0;O5
					423	423,1238	ST	ST	ST 19:2;O3;S
					455	455,1609	ST	ST	15beta-hydroxycyproterone acetate
					1126		UN	UN	UN
					1124		UN	UN	UN
					1089		UN	UN	UN

**Tabela 15.** Principais metabólitos responsáveis pela segregação dos momentos (pré, pós, 30 min e 60 min) nos gráficos S-Plot, nos quatro treinos (TA, TF, TC e TCC) do grupo diabético tipo 2 (DM2).

TA DM2						TF DM2						TC DM2						TCC DM2						
Pré	Pré	Pré	Pós	Pós	30'	Pré	Pré	Pré	Pós	Pós	30'	Pré	Pré	Pré	Pós	Pós	30'	Pré	Pré	Pré	Pós	Pós	30'	
x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	x	
Pós	30'	60'	30'	60'	60'	Pós	30'	60'	30'	60'	x 60'	Pós	30'	60'	30'	60'	60'	Pós	30'	60'	30'	60'	60'	
235	218	200	209	209	218	235	239	235	246	200	306	200	200	200	230	244	228	219	209	230	209	219	209	
297	235	217	256	218	219	239	244	244	247	247	342	228	230	228	247	272	244	259	228	237	239	228	247	
324	270	235	290	228	228	244	246	303	290	306	385	230	254	230	299	343	270	279	241	247	282	247	259	
336	281	285	303	282	247	324	263	312	304	312	428	254	315	244	315	429	343	286	247	259	300	286	293	
355	336	324	354	330	281	325	306	324	306	325	430	272	328	251	336	451	366	342	259	279	307	310	314	
377	343	336	359	339	334	335	324	325	325	328	433	299	366	328	339	453	409	355	274	314	409	314	325	
391	366	339	362	346	338	336	325	328	346	340	483	315	395	336	430	454	432	413	283	327	429	323	409	
397	367	341	363	379	339	421	370	335	363	344	501	328	398	366	451	455	435	459	321	355	432	329	441	
401	377	421	374	381	341	424	379	345	369	369	549	339	451	427	453	469	469	469	325	357	433	340	458	
411	421	427	401	415	346	482	389	370	370	385	600	344	529	435	454	505	501	479	383	441	435	342	459	
415	438	428	449	453	362	529	427	382	450	438	605	398	532	441	505	527	529	485	397	447	453	343	465	
417	447	478	453	478	366	549	493	389	555	478	654	415	611	453	529	577	538	527	398	485	472	382	478	
420	456	506	471	488	382	556	497	399	556	481	729	430	617	454	538	583	579	576	399	509	491	391	565	
449	478	550	478	499	400	563	540	438	582	494	747	437	622	505	579	625	617	611	405	565	503	396	567	
488	479	554	479	545	408	571	545	462	611	501	833	443	645	512	590	661	622	614	409	567	614	413	597	
499	480	579	480	550	443	572	555	482	654	567	857	454	655	532	625	739	625	639	411	576	637	415	614	
526	482	607	482	551	448	577	571	483	677	577	871	455	719	567	645	782	633	642	412	611	661	439	617	
532	490	633	490	606	456	587	576	501	1005	600	903	469	749	611	721	809	634	661	425	614	676	441	661	
534	499	676	499	635	501	631	587	549	1048	660	943	475	782	655	749	810	645	699	451	661	677	447	677	
540	501	694	501	642	503	647	662	571	1090	676	1013	491	904	661	810	831	721	729	511	749	685	459	749	
576	532	700	534	660	506	706	677	577	1117	677	1048	532	960	719	820	958	739	749	548	810	696	499	817	
579	607	701	576	668	532	735	686	600	1163	747	1119	611	1151	749	831	1045	782	810	563	842	701	605	1080	
633	633	729	606	676	549	749	706	614	1166	779	1177	617		782	904	1128	809	861	612	857	780	617	1102	
638	657	742	642	685	554	823	749	642		782		661		809	960	1147	889	863	692	931	782	645	1119	
657	694	749	686	686	574	859	839	663		791		820		889		1166	904	904	703	947	807	661	1130	
659	701	861	786	711	676	923	945	677		820		958		1155		1169	913	1048	758	1057	839	696	1155	
677	706	939	804	804	719	943	1078	708		857		1103					932	1054	818	1064	1053	735		
701	786	985	831	831	974	1003	1117	729		871		1169					960	1057	864	1070	1118			
831	805		848	891	1025	1118	1136	857		923							1045	1189	1096	1071	1143			
876	1076		1071	1003	1144		1157	871		1013							1046		1112	1081				
891	1161		1099	1199			1163	943		1090							1143		1199	1118				
			1159				1197	1013		1117							1155			1189				
								1090																
								1117																

Os números coloridos representam as massas/carga ( $m/z$ ) nominais de cada metabólitos que apareceram em mais de uma comparação dentro do mesmo treino, enquanto os sem coloração representam metabólitos únicos de cada comparação. Os números em negrito estão relacionados ao primeiro momento de cada comparação (linha superior).



**Figura 27.** Diagramas de Venn representando os metabólitos em comum ou únicos nas 6 comparações entre os tempos pré, pós, 30 min e 60 min do grupo diabéticos tipo 2 (DM2), nos 4 treinos. **A** – Treino aeróbio (TA), **B** – treino de força (TF), **C** – treino combinado (TC), **D** – treino combinado crônico (TCC). Os números representam o número de metabólitos em cada comparação, sendo eles únicos ou compartilhados com os outros momentos. O símbolo ‘ representa minutos.

**Tabela 16.** Metabólitos em comum entre as comparações de tempos intra e entre treinos no grupo DM2. Os números coloridos representam metabólitos comum entre os treinos.

TA DM2			TF DM2			TC DM2			TCC DM2			
377	Pré x Pós	209	239		1090	254	Pré x Pós   Pré x 30'	453	Pré x 60'   Pós x 30'   Pós x 60'	279	325	Pré x 30'   30' x 60'
657	Pré x 30'	453	587		677	398		505		355	314	Pré x 60'   Pós x 60'
324		606	706	Pré x Pós   Pré x 30'	1117	299		230	Pré x Pós   Pré x 30'   Pré x 60'   Pós x 30'	485	441	30' x 60'
579	Pré x Pós	642	749		325	339	Pré x Pós   Pós x 30'	454	Pré x Pós   Pré x 60'   Pós x 30'   Pós x 60'	576	209	Pré x 30'   Pós x 30'
401		686	235		385	430		343		611	409	
449		804	335	Pré x Pós   Pré x 60'	747	820		739	Pós x 60'   30' x 60'	810	247	Pré x 30'   Pré x 60'
534	Pré x Pós	831	482		654	272		1045		1057	459	Pré x Pós   Pós x 60'
576	Pós x 30'	499	556	Pré x Pós   Pós x 30'	1048	455		538		1189	749	Pré x Pós   Pré x 60'
415		478	923	Pré x Pós   Pós x 60'	483	958	Pré x Pós   Pós x 60'	579	Pós x 30'   30' x 60'	219	614	Pré x Pós   Pré x 60'
488	Pré x Pós	228	389	Pré x 30'   Pré x 60'	729	1169		721		286	661	Pré x Pós   Pré x 60'
891	Pós x 60'	346	246		501	655		625	Pós x 30'   Pós x 60'   30' x 60'	342	259	Pré x Pós   Pré x 30'
421		362	555	Pré x 30'   Pós x 30'	600	719	Pré x 30'   Pré x 60'	435		413		
607	Pré x 30'	341	1163		857	336	Pré x 60'   Pós x 30'	889	Pré x 60'   30' x 60'	228	228	Pré x 30'   Pós x 60'
694	Pré x 60'	506	312		871	810	Pós x 30'   Pós x 60'	1155		1118	1118	Pré x 60'   Pós x 30'
479		554	328	Pré x 60'   Pós x 60'	1013	831		244		447	447	Pré x 60'   Pós x 60'
480		339	438	Pré x 30'   Pós x 30'   Pós x 60'   30' x 60'	306	200		809	Pré x 60'   Pós x 60'   30' x 60'	696	696	Pós x 30'   Pós x 60'
482	Pré x 30'	676	247	Pós x 30'   Pós x 60'	549	328	Pré x Pós   Pré x 30'   Pré x 60'	529	Pré x 30'   Pós x 30'   30' x 60'	617	617	Pós x 60'   30' x 60'
490	Pós x 30'	281	369		943	532		645		677	677	Pós x 30'   30' x 60'
786		366	244			611		960	Pré x 30'   Pós x 30'   30' x 60'	565	565	Pré x 60'   30' x 60'
550	Pré x 60'	456	324	Pré x Pós   Pré x 30'   Pré x 60'		661	Pré x Pós   Pré x 60'   Pós x 60'	366	Pré x 30'   Pré x 60'   30' x 60'	567	567	Pré x 60'   30' x 60'
235		218	571			749	Pré x 30'   Pré x 60'   Pós x 30'	782				
336	Pré x Pós	501	577	Pré x Pós   Pré x 60'   Pós x 60'		451	Pré x 30'   Pós x 30'   Pós x 60'	469	Pré x 30'   Pré x 60'   Pós x 60'   30' x 60'			
633	Pré x 30'	532	370	Pré x 30'   Pré x 60'   Pós x 30'		617	Pré x Pós   Pré x 30'   30' x 60'	228	Pré x Pós   Pós x 60'   30' x 60'			
	Pré x 60'											

Os números coloridos representam as massas/carga ( $m/z$ ) nominais de cada metabólito que apareceram em mais de uma comparação entre treinos. O símbolo ' representa minutos

**Tabela 17.** Anotação dos marcadores selecionados nas três sessões de treino agudas (aeróbio, força, combinado) e na sessão aguda crônica de combinado do grupo DM2.

TA DM2					TF DM2				
324	324.1572	FA	FA	CAR 8:1	235	235.2050	FA	FA	FA 16:2
449	449.2510	FA	FA	FA 23:4;O5	335	335.2217	FA	FA	FA 20:5;O2
480	480.3296	FA	FA	CAR 18:1;O2	246	246.2427	FA	FA	FA 14:0
235	235.2050	FA	FA	FA 16:2	312	312.1934	FA	FA	NA 18:5;O
336	336.3261	FA	FA	NA 22:2	328	328.1157	FA	FA	CAR 6:1;O2
209	209.1512	FA	FA	FA 11:0	247	247.1305	FA	FA	FA 13:3;O
228	228.2322	FA	FA	Myristamide	324	324.1572	FA	FA	CAR 8:1
346	346.3316	FA	FA	FA 20:0;O	370	370.3679	FA	FA	FA 23:1
362	362.2114	FA	FA	FA 24:12	325	325.2138	FA	FA	FA 20:5
339	339.1778	FA	FA	FOH 16:3;O5 / Prostaglandins	385	385.3101	FA	FA	FA 26:6
281	281.1747	FA	FA	FA 16:4;O2	483	483.3833	FA	FA	FA 32:6;O2
218	218.1387	FA	FA	CAR 3:0	587	587.4670	GL	DG	DG 34:5
607	607.4698	GL	DG	DG 32:0	556	556.4935	GL	DG	DG 30:1
534	534.2956	GP	LPC	LPC 16:0	555	555.4983	GL	DG	DG 31:0
490	490.2904	GP	LPE	LPE O-17:1;O	577	577.5190	GL	DG	DG 34:1
499	499.3507	GP	LPE	LPE 18:0	729	729.4855	GL	DG	DG 42:9
478	478.3292	GP	LPE	LPE O-19:2	549	549.4877	GL	DG	DG 32:1
501	501.2935	GP	LPS	LPS O-15:1;O	923	923.7482	GL	TAG	TG 54:3
482	482.2877	GP	PC	PC 14:0	1048	1048.9171	GL	TAG	TG 64:7
786	786.6003	GP	PC	PC 36:2	871	871.7143	GL	TAG	TG 50:1
804	804.5537	GP	PC	PC 38:7	1013	1013.8532	GL	TAG	TG 64:9
676	676.5271	GP	PC	PC O-29:1	943	943.7135	GL	TAG	TG 56:7
891	891.5358	GP	PI	PI O-38:6	1090	1090.6394	GP	CDP-DG	CDP-DG(42:2)
831	831.5706	GP	PI-Cer	IPC 34:0;O4	1117	1117.5573	GP	CDP-DG	CDP-DG(44:11)
456	456.1993	GP	PS	PS 12:0	438	438.2251	GP	LPS	LPS 13:0
579	579.5459	SP	Cer	Cer 36:3;O2	501	501.2935	GP	LPS	LPS O-15:1;O
576	576.4752	SP	Cer	Cer 34:1;O2	706	706.5362	GP	PC	PC 30:0
550	550.5194	SP	Cer	Cer 35:2;O2	482	482.2877	GP	PC	PC 14:0
606	606.5456	SP	Cer	Cer 38:3;O3	747	747.5623	GP	PC	PC 32:2
532	532.4700	SP	Cer	Cer 32:1;O2	677	677.4864	GP	PE	PE 30:2
657	657.4966	SP	CerPE	CerPE 34:3;O2	857	857.5091	GP	PI	PI 34:2
633	633.5004	SP	CerPE	CerPE 32:1;O2	749	749.5522	SP	SM	SM 34:2;5
701	701.5586	SP	CerPE	CerPE 37:2;O2	571	571.5408	SP	Cer	Cer 34:1;O3
694	694.5616	SP	HexCer	HexCer 35:2;O2	654	654.6159	SP	Cer	Cer 42:2;O
642	642.4939	SP	HexCer	HexCer 30:2;O2	600	600.5326	SP	Cer	Cer 37:2;O2
686	686.5533	SP	HexCer	HexCer 33:1;O2	1163	1163.7412	SP	NeuAcHex2Cer	NeuAcHex2Cer 36:1;O2
401	401.1725	ST	ST	ST 21:3;O5	389	389.2686	ST	ST	ST 24:3;O4
415	415.2819	ST	ST	ST 24:1;O4	369	369.3516	ST	ST	ST 27:1;O
488	488.2983	ST	ST	ST 24:1;O5;G					
421	421.3077	ST	ST	ST 27:3;O2					
479	479.3190	ST	ST	ST 28:2;O;S					
453	453.3703	ST	ST	ST 29:1;O2					
341	341.1150	ST	ST	ST 18:4;O4					
506	506.2911	ST	ST	ST 24:1;O3;T					
366	366.1134	ST	ST	2-Hydroxyestrone sulfate					
377	377.3203	ST	ST	ST 28:4;O					
554		UN	UN	UN					

TC DM2					TCC DM2				
398	398.2666	FA	FA	NA 23:5;O2	279	279.1588	FA	FA	FA 16:4;O3
299	299.143	FA	FA	FA 22:12	355	355.1745	FA	FA	FA 16:2;O5
339	339.1778	FA	FA	FOH 16:3;O5 / Prostaglandins	485	485.2082	FA	FA	12-cys-9-nitro-octadecenoic acid -
272	272.2584	FA	FA	2-amino-hexadecanoic acid	219	219.1718	FA	FA	(Z)-4-Dodecenal
336	336.3261	FA	FA	NA 22:2	286	286.2002	FA	FA	3-hydroxyoctanoyl carnitine
328	328.1157	FA	FA	CAR 6:1;O2	228	286.2002	FA	FA	3-hydroxyoctanoyl carnitine
315	315.2294	FA	FA	FA 19:3	325	325.2138	FA	FA	FA 20:5
451	451.2182	FA	FA	6-bromo-tricosa-5E,9Z-dienoic acid	314	314.2326	FA	FA	CAR 10:1
230	230.1387	FA	FA	CAR 4:1	209	209.1512	FA	FA	FA 11:0
469	469.2029	FA	FA	Glucosylgalactosyl hydroxylysine	409	409.1713	FA	FA	6-bromo-eicosa-5E,9Z-dienoic acid
228	228.2322	FA	FA	Myristamide	247	247.1305	FA	FA	FA 13:3;O
611	611.4662	GL	DG	DG 32:0	259	259.1693	FA	FA	FA 17:6
617	617.5139	GL	DG	DG 36:4	611	611.4662	GL	DG	DG 32:0
505	505.4251	GL	DG	DG 29:2	617	617.5139	GL	DG	DG 36:4
958	958.7905	GL	TAG	TG 59:10	565	565.4826	GL	DG	DG 32:2
1045	1045.856	GL	TAG	TG 63:5	810	810.6012	GP	PC	PC 38:4
904	904.744	GL	TAG	TG 55:9	696	696.4652	GP	PE	PE 33:5
960	960.7926	GL	TAG	TG 59:9	677	677.4864	GP	PE	PE 30:2
1169	1169.7393	GP	CL	CL 54:6	576	576.4752	SP	Cer	Cer 34:1;O2
430	430.2776	GP	LPC	LysoPC(10:0/0:0)	567	567.5095	SP	Cer	Cer 34:3;O3
810	810.6012	GP	PC	PC 38:4	614	614.5483	SP	Cer	Cer 38:2;O2
782	782.5686	GP	PC	PC 36:4	661	661.5279	SP	CerPE	CerPE 34:1;O2
719	719.5733	GP	PE	PE O-34:2	1118	1118.7925	SP	Hex3Cer	Hex3Cer 42:1;O2
721	721.5490	GP	PE	PE 33:1	1057	1057.6548	SP	NeuAcHexCer	NeuAcHexCer 36:1;O2
889	889.4990	GP	PG	PG 44:12	749	749.5522	SP	SM	SM 34:2;5
532	532.4700	SP	Cer	Cer 32:1;O2	413	413.2662	ST	ST	ST 24:2;O4
538	548.5013	SP	Cer	Cer 33:0;O2	447	447.2717	ST	ST	ST 24:1;O6
579	579.5459	SP	Cer	Cer 36:3;O2	441	441.2038	ST	ST	ST 24:4;O5
625	625.5878	SP	Cer	Cer 38:2;O3	459	459.3445	ST	ST	ST 27:0;O4
622	622.5381	SP	Cer	Cer 36:0;O4	1189		UN	UN	UN
655	655.5173	SP	CerPE	CerPE 35:2;O2	342		UN	UN	UN
661	661.5279	SP	CerPE	CerPE 34:1;O2					
739	739.5164	SP	CerPE	CerPE 37:2;O2					
645	645.4966	SP	CerPE	CerPE 33:2;O2					
1155	1155.7247	SP	GM3	Ganglioside GM3 (d18:0/16:0)					
820	820.6273	SP	HexCer	HexCer 40:2;O3					
831	831.5706	SP	PI-Cer	IPC 34:0;O4					
749	749.5522	SP	SM	SM 34:2;5					
809	809.6507	SP	SM	SM 40:1;O2					
455	455.1609	ST	ST	15beta-hydroxycyproterone acetate					
453	453.3703	ST	ST	ST 29:1;O2					
435	435.2507	ST	ST	ST 23:0;O5					
529	529.3290	ST	ST	1alpha,25-dihydroxy-2beta-(3-hydroxypropoxy)vitamin D3					
366	366.1134	ST	ST	2-Hydroxyestrone sulfate					
454		UN	UN						

## 6. DISCUSSÃO

Este estudo teve dois principais objetivos: analisar as respostas agudas ao TA, TF e TC e as respostas crônicas ao treinamento combinado (TCC) no metabolismo de indivíduos eutróficos, obesos e com diabetes tipo 2, utilizando a abordagem lipidômica. Secundariamente, também foram analisadas as variáveis antropométricas, composição corporal, marcadores bioquímicos e funcionais para relacioná-las às mudanças no perfil lipidômico. As hipóteses inicialmente levantadas foram parcialmente confirmadas, pois o TC crônico alterou as espécies lipídicas nos 3 grupos, e as sessões agudas de TA, TF e TC apresentaram diferentes respostas metabólicas em cada grupo, confirmando o esperado. Porém, em relação à combinação das respostas metabólicas do TA e TF no TC, apenas o grupo eutrófico e DM2 confirmaram a hipótese inicial, já o grupo obeso apresentou uma concorrência metabólica. Em relação à composição corporal, todos os grupos aumentaram a massa magra e diminuíram a massa gorda, mesmo sem alterações no peso corporal ou IMC. Além disso, as circunferências também apresentaram reduções significativas. Com esse tipo de treino, esperávamos que essa recomposição corporal acontecesse, mesmo sem mudanças ou intervenções nos hábitos alimentares.

A avaliação alimentar nos mostra alguns dados interessantes, como por exemplo de que o grupo eutrófico ingeriu em média a mesma quantidade de calorias, carboidratos e gorduras do grupo obeso. Olhando na Tabela 1, vemos que o grupo eutrófico possui em média 10% a mais de massa magra em sua composição corporal, comparado ao grupo obeso. Isso talvez possa contribuir para uma maior taxa metabólica basal, fazendo com que eles gastem mais energia ao longo do dia (MÜLLER; ENDERLE; BOSY-WESTPHAL, 2016). Observamos também que o grupo eutrófico antes do projeto fazia em média  $115,5 \pm 56,2$  minutos de atividade física por semana contra apenas  $86,7 \pm 50,8$  do grupo obeso, dessa forma, por serem mais ativos, também possuíam um gasto energético maior. Um outro ponto que não foi verificado seria em relação ao gasto energético total durante o dia, no qual a profissão desses voluntários e suas atividades diárias provavelmente influenciaram nesse balanço energético. Um último fator que poderia ser levado em consideração é o sub-relato que esse grupo obeso pode ter feito nos recordatórios alimentares. Uma revisão sistemática de 2019 indicou que pessoas com IMC maior do que 30 tem mais chances de sub-relatar o que comem em comparação a pessoas não obesas, podendo ser intencional ou mesmo não intencional, pois pessoas obesas em geral possuem a mania de “beliscar o dia todo”, podem esquecer de relatar alguns desses alimentos que certamente são ricos em calorias (WEHLING; LUSHER, 2019). Um outro estudo também comparou a utilização de recordatórios alimentares e água marcada, sendo observada uma subnotificação próxima de 30% em obesos (SCAGLIUSI; LANCHI, 2005). Portanto, acredita-se que o grupo obeso tenha subnotificado sua ingestão

alimentar nos recordatórios, principalmente porque o grupo DM2 apresentou diferença significativa no consumo de carboidratos e calorias totais em relação aos outros 2 grupos, mesmo com menor IMC e % massa gorda que o grupo obeso.

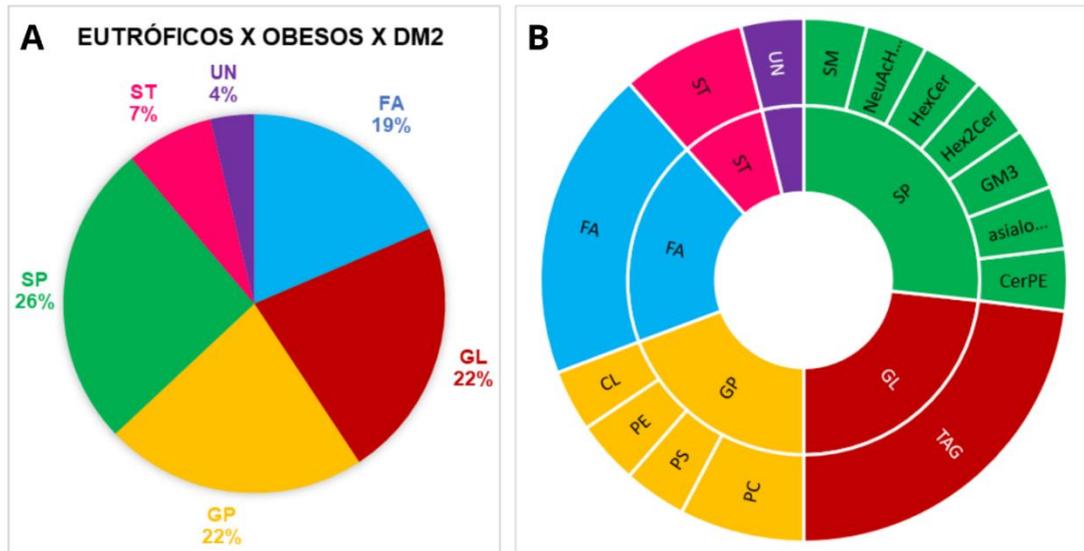
Um segundo resultado preocupante observado na avaliação alimentar foi o excesso de ingestão de carboidratos pelo grupo DM2. Muitos dos voluntários apresentavam um descontrole glicêmico antes de iniciar o projeto, mesmo fazendo a utilização dos medicamentos (metformina) para o controle da doença. Ao final do projeto eles tiveram uma redução da glicemia, insulina, HOMA-IR e hemoglobina glicada, como observado na Tabela 2, o que aponta para um efeito do exercício, uma vez que a dieta com alto teor de carboidratos foi mantida. Isso mostra a importância da inclusão de nutricionistas para ajustar a dieta dessas pessoas no SUS, uma vez que a maioria desses voluntários utilizavam o SUS para ter seus medicamentos e acompanhamento.

As variáveis bioquímicas nos mostram que o grupo eutrófico, apesar de ser considerado saudável pelo IMC, possui um nível de CT e LDL igual ao do grupo obeso e superior ao grupo diabético, o que evidencia que apenas peso não nos mostra se uma pessoa é saudável ou não. Em relação à comparação pré x pós-treino, não observamos nenhuma mudança significativa. Já o grupo obeso apresentou uma redução significativa na insulina, TG, CT e HOMA-IR (Tabela 1). Outro dado interessante na Tabela 1 é a concentração de insulina no grupo obeso, o qual apresentou valores maiores comparados não apenas aos eutróficos, mas também aos diabéticos, que já possuem uma condição de resistência crônica e tomavam medicamentos hipoglicemiantes. Concentrações elevadas de insulina plasmática em indivíduos obesos já foram relatadas estar mais relacionadas à adiposidade e altas concentrações de FAs circulantes do que apenas RI (VAN VLIET *et al.*, 2020). Já o grupo DM2 apresentou redução significativa na glicemia em jejum e hemoglobina glicada, o que contribuiu para a diminuição do HOMA, já que não houve diferença na insulina. Essa redução na glicemia foi causada pelo exercício físico, cujo mecanismo de translocação do Glut-4 já foi explicado anteriormente (FLORES-OPAZO; MCGEE; HARGREAVES, 2020).

Os dados de  $VO_2$ máx e 1RM mostram que todos os grupos apresentaram aumentos significativos nos pós-treino, mostrando que o treino foi eficiente para melhorar tanto a aptidão aeróbia como a força muscular. Observando os dados pré, vemos que apesar dos 3 grupos serem sedentários e de meia idade, o grupo eutrófico possui valores de  $VO_2$ máx maiores do que obesos e DM2, o que corrobora com um artigo que mostra que o  $VO_2$ máx tem uma associação negativa com massa gorda e uma forte associação positiva com a massa magra (VARGAS *et al.*, 2018).

### 6.1. Comparação metabólica basal dos 3 grupos

Os resultados obtidos na comparação dos 3 grupos mostraram diferentes classes e espécies de lipídios sendo as mais importantes na segregação dos grupos. Na Figura 28A podemos observar a distribuição das principais classes de lipídios, sendo a maior os SP (26%), seguidos de GL (22%), GP (22%), FA (19%) e ST (7%). Já na Figura 28B, observamos as principais espécies dentro de cada classe.



**Figura 28.** Representação das classes de lipídios e espécies na comparação basal dos 3 grupos. A - Distribuição em porcentagem das classes de lipídios. B – Representação das principais espécies de lipídios dentro das classes.

Dentre esses metabólitos, a Tabela 5 nos mostra qual está associado com cada grupo e é possível observar que o grupo eutrófico possui mais GPs (PC e PE), seguido por SP (HexCer e Hex2Cer). O grupo obeso apresentou espécies de GLs (TAGs), seguido por GP (PC e CL) e SP (NeuAcHex2Cer e SM). Já o grupo DM2 apresentou a maior diversidade de classes, sendo a maioria FAs, seguido por SP (gangliosídeos GM3, CerPE e asialo GM2) e STs. O grupo obeso possui a maior quantidade de massa gorda em relação aos outros grupos, portanto esse maior número de TAGs era esperado já que a forma mais comum de estoque de ácidos graxos é na forma de TAG, consistindo de uma molécula de glicerol ligada a 3 ácidos graxos esterificados. Os adipócitos estocam um grande número de TAGs, mas apesar da grande capacidade de estoque no tecido adiposo, quando excedida em casos de obesidade ou lipodistrofias, causa um acúmulo ectópico em outros tecidos como fígado, músculo, coração, pâncreas, levando a doença hepática não alcoólica (NAFLD) e RI (WANG, Huan; AIROLA; REUE, 2017).

Os TAGs não são considerados moléculas sinalizadoras, mas sabe-se que os lipídios produzidos a partir de sua síntese e degradação, como FAs, DAGs e Cers, podem contribuir para o desenvolvimento de RI, uma vez que causam disfunções na via de sinalização de insulina. O aumento da lipólise e liberação de ácidos graxos na corrente sanguínea estimula a síntese de TAG no fígado, causando estresse no retículo endoplasmático e estimulando a via inflamatória JNK (AL-SULAITI *et al.*, 2018). O esfingolipídio NeuAcHex2Cer é um gangliosídeo da família do GM3, considerado uma molécula pró-inflamatória, associada com obesidade e inflamação crônica, uma vez que a expressão desses gangliosídeos nos adipócitos é estimulada por citocinas inflamatórias como TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$  produzidos a partir da infiltração de macrófagos nos tecidos (INOKUCHI; KANO, 2022).

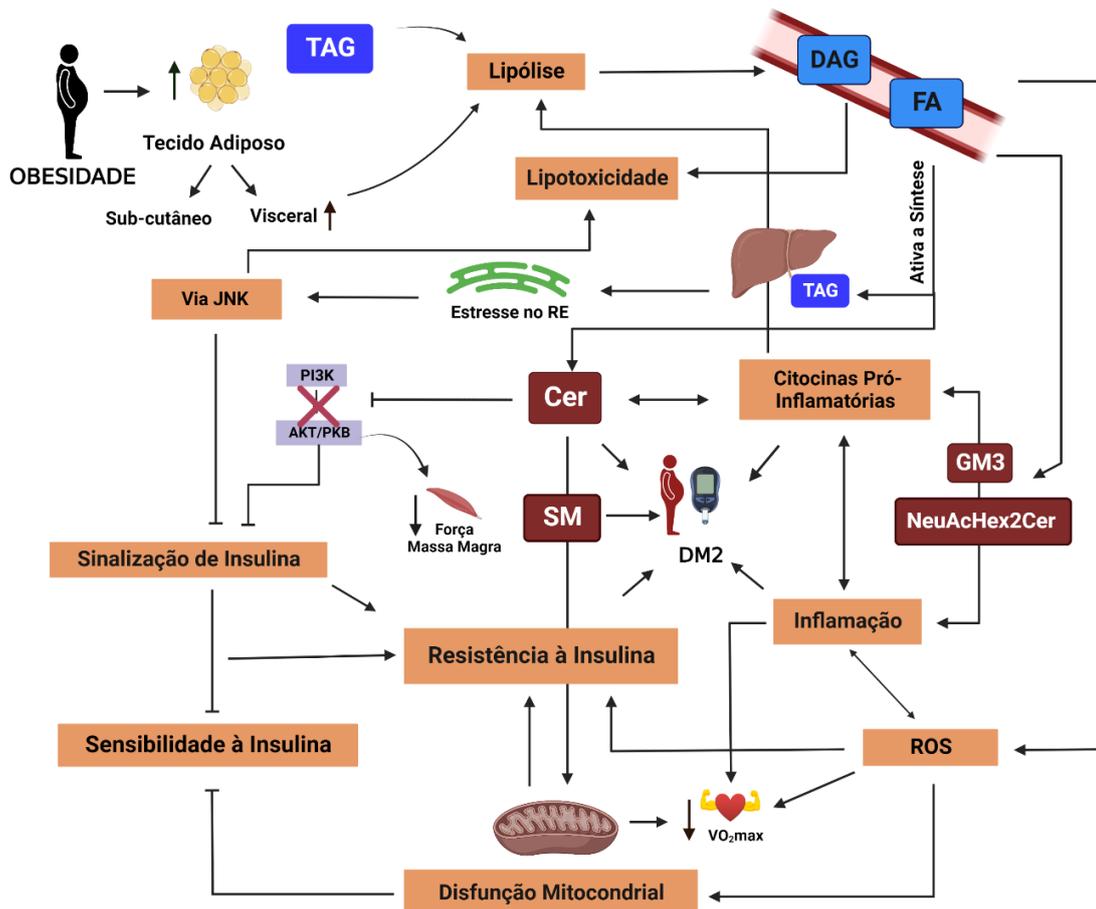
O grupo DM2 apresentou FAs como seus principais metabólitos na diferenciação dos grupos, seguido por SPs e STs. O metabolismo de FAs é afetado por vários fatores como idade, sexo, estado de saúde, fatores epigenéticos e genéticos. A RI causa uma alteração nas concentrações de FAs na circulação, pois em condições normais, a insulina se liga ao receptor e inativa a enzima hormônio lipase sensível (HSL) que promove a hidrólise de TAGs, liberando FAs e glicerol na corrente sanguínea. Quando há RI, ocorre um aumento na atividade da HSL, liberando mais ácidos graxos na corrente sanguínea, o que pode induzir a inflamação e disfunção endotelial (SHETTY; KUMARI, 2021). O mecanismo pelo qual o excesso de FAs causa RI ocorre devido ao acúmulo intracelular de DAGs e ROS, que vão ativar a proteína quinase C, promovendo a ativação de serinas/treonina quinases que irão reduzir a fosforilação da tirosina no receptor de insulina (IRS 1 e 2), comprometendo a via da IRS/fosfoinositol 3 quinase (PI3K), envolvida na sinalização da insulina, induzindo um estado de RI (SHETTY; KUMARI, 2021).

Além dos FAs, observamos os SPs ceramidas e gangliosídeos em voluntários DM2. As Cers podem ser sintetizadas através de três vias diferentes, a via de novo, que combina serina e palmitoil-CoA no RE; a via de salvamento (salvage), que consiste na quebra de SM ou glicosfingolipídios e a terceira é a via da esfingomielinase, onde ocorre a conversão de SMs em Cers nas membranas celulares (CARRARD; GALLART-AYALA; *et al.*, 2021). As ceramidas de membranas biológicas são responsáveis por estabelecer a estrutura da membrana celular e modular a distribuição de receptores e moléculas sinalizadoras. Eles afetam as vias de sinalização celular que medeiam o crescimento, proliferação, motilidade, adesão, diferenciação, senescência e apoptose (MANDAL *et al.*, 2021). Cers podem ser transformadas em SPs complexos e moléculas de sinalização, como ceramida-1-fosfato (C1P), SM ou glicosfingolipídios no aparelho de Golgi. Podem ser acilados formando

acilceramidas (HexCer, Hex2Cer, Hex3Cer, AHexCer), que se acumulam em gotículas lipídicas intracelulares (CARRARD et al., 2021).

Cers atuam como antagonistas na sinalização da insulina, inibindo a cascata de transdução de sinal através da inibição da PI3K, bloqueando a ativação da enzima anabólica Akt/PKB. Assim, ocorre uma interferência na captação de glicose, prejudicando o armazenamento de glicogênio ou TAG, ativando a proteína fosfatase 2A (PP2A) e citocinas pró-inflamatórias. Além disso, esses esfingolipídios também atrapalham o metabolismo lipídico, principalmente no fígado, inibindo a oxidação e estimulando a absorção de FAs (CHAURASIA; SUMMERS, 2015).

Alguns pesquisadores investigam a relação entre espécies moleculares de SPs no soro e plasma de pessoas com comorbidades como obesidade, RI, esteatose hepática, aterosclerose e risco cardiometabólico. Foram encontradas concentrações elevadas de SM, Cer e esfingosina em pacientes com DM2, obesidade e RI quando comparados a seus controles saudáveis. Assim, a presença de SPs na circulação pode ser considerada um potente biomarcador de risco para o desenvolvimento de DM2 (STIBAN; ROLES; LIPIDS, 2019). A Figura 29 traz um resumo dos principais mecanismos envolvendo as espécies de lipídios identificadas e suas relações com a obesidade e DM2.



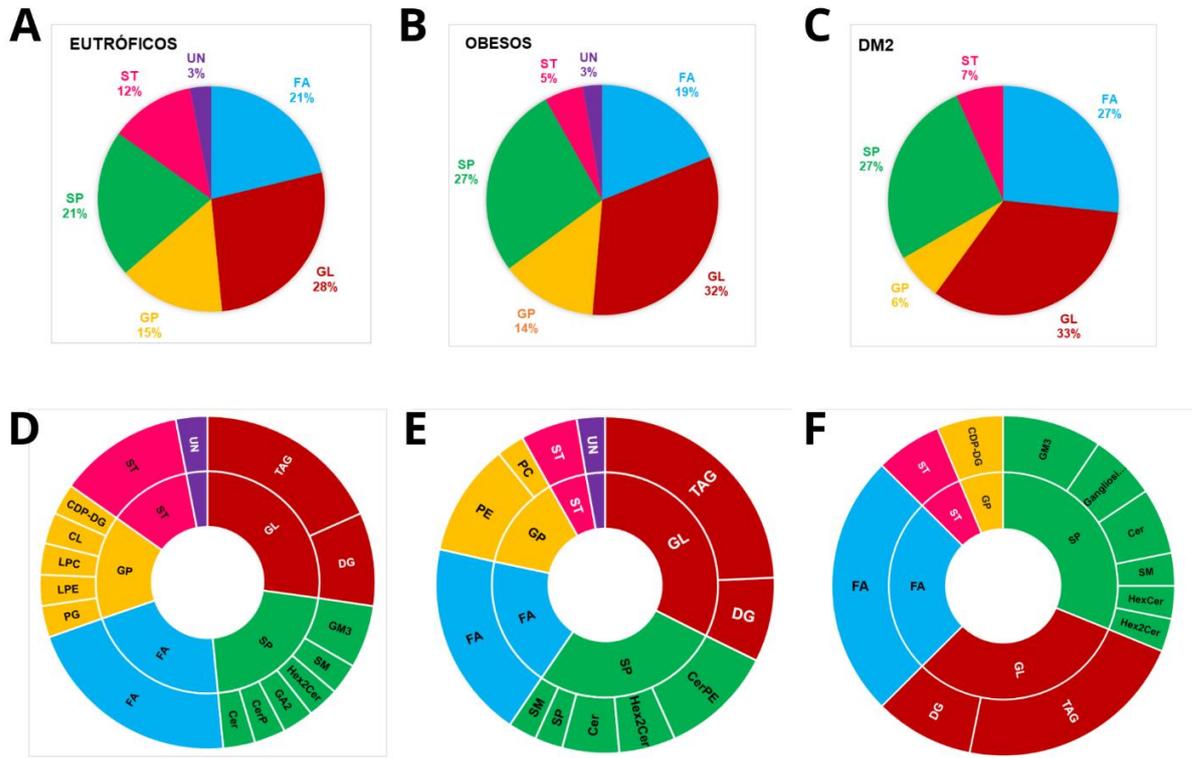
**Figura 29.** Resumo de alguns mecanismos envolvendo as espécies lipídicas relacionadas à obesidade e diabetes tipo 2 encontradas na comparação entre os 3 grupos. As espécies de lipídios em azul representam glicerolipídios e ácidos graxos, os vermelhos são esfingolipídios. Criada utilizando o *BioRender*.

## 6.2. Alterações Lipídicas Crônicas Promovidas pelo Treinamento Combinado

O TC foi eficaz para alterar a composição corporal dos 3 grupos, assim como melhorar o  $VO_2$ máx e força muscular como visto anteriormente. Na Figura 30 podemos ver as principais classes de lipídios alteradas em cada grupo e a distribuição das espécies de lipídios dentro das classes. Os três grupos apresentaram a classe de GLs em maior proporção, sendo os TAGs a principal espécie alterada. Ao contrário do esperado, várias espécies de TAGs com cadeias longas e insaturadas aumentaram na circulação ao invés de reduzir pós treinamento, como pode ser observado nas Tabelas 6, 7 e 8. Não há na literatura trabalhos com intervenção crônica de exercício mostrando esse aumento de TAGs com cadeias poli-insaturadas, porém sabe-se que o exercício físico é capaz de alterar enzimas de dessaturase e elongase, induzindo ao aumento de ácidos graxos insaturados e reduzindo os saturados (NONO NANKAM *et al.*, 2020). Além disso, o excesso de ácidos graxos livres na corrente sanguínea, decorrente da alta atividade lipolítica visceral em indivíduos obesos, por exemplo, causam diversos malefícios como lipotoxicidade, aumento de ROS, RI, entre outros (MIKA, A.; SLEDZINSKI, 2017), sendo assim, talvez esse aumento de TAGs poli-insaturados possa ser um mecanismo protetor do exercício, evitando o excesso de FAs na corrente sanguínea em repouso.

A segunda maior classe de lipídios alterada pelo exercício nos grupos foram os FAs e SPs. Nos eutróficos e diabéticos a proporção de FAs e SPs foi igual, sendo 20% e 24% respectivamente. Já no grupo obeso, os SPs tiveram 27% e os FAs 19% do total. Dentro dos SPs observamos as principais espécies sendo Cer, CerP, CerPE, GM3, SM, HexCer, Hex2Cer. As Cers têm associação com inflamação, onde algumas citocinas pró-inflamatórias (TNF- $\alpha$ ) podem aumentar a síntese de ceramidas, causando disfunções mitocondriais, o que inibe o consumo de oxigênio nos complexos da cadeia de transporte de elétrons, diminuindo potencial de membrana, levando a uma diminuição na produção de ATP através da utilização de ácidos graxos. Esses metabólitos também têm papel importante na produção de radicais livres, processos apoptóticos e modulação da expressão de genes (FIELD; GORDILLO; SCHERER, 2020). Altas concentrações de ceramidas foram relacionados a um comprometimento na sinalização da insulina, que pode ser causado por diferentes mecanismos, incluindo inflamação, estresse do RE e estresse oxidativo. Por esse motivo, concentrações reduzidas de Cers podem melhorar a sinalização da insulina, aumentando a

sensibilidade à insulina e reduzindo a RI (FIELD; GORDILLO; SCHERER, 2020).



**Figura 30.** Representação das classes de lipídios e espécies na comparação controle x treino dos 3 grupos. A, B e C - Distribuição em porcentagem das classes de lipídios. D, E e F – Representação das principais espécies de lipídios dentro das classes. A e D – grupo eutrófico, B e E – grupo obeso, C e F – grupo DM2.

A prática de exercício físico regular tem um conhecido efeito anti-inflamatório, reduzindo as citocinas pró-inflamatórias circulantes como IL-1, IL-6, TNF- $\alpha$ , e liberando anti-inflamatórias como IL-4, IL-10 (METSIOS; MOE; KITAS, 2020), o que contribui para reduzir a síntese de Cer. Para prevenir ou reverter a obesidade e a disfunção metabólica associada à obesidade, o exercício induz a liberação de moléculas circulantes, como miocinas, hepatocinas, osteocinas, citocinas imunes e adipocinas que regulam as vias metabólicas e a comunicação tecido a tecido por meio de efeitos autócrinos, parácrinos e endócrinos (GONZALEZ-GIL; ELIZONDO-MONTEMAYOR, 2020). O exercício aumenta o gasto energético e utiliza FAs como substrato metabólico, diminuindo as concentrações sanguíneas em indivíduos treinados e melhorando a sinalização da insulina, reduzindo a RI. Observamos na Figura 3 e Tabelas 6 a 8 que os 3 grupos reduziram algumas espécies de FA (especialmente o grupo DM2).

Outro lipídio interessante que foi detectado é o gangliosídeo GM3, um glicosfingolípido presente nas membranas plasmáticas, mediador da RI. O GM3 é conhecido

por causar modulação negativa da sinalização do receptor de insulina, afetando a cinética de difusão dos receptores de insulina nas membranas plasmáticas e regulando a transdução de sinal. Além disso, a sinalização da insulina é restaurada quando a biossíntese de GM3 é inibida (SATO *et al.*, 2008). As espécies séricas de gangliosídeos GM3 podem ter efeito tanto pró como anti-inflamatório, dependendo de sua cadeia acil. Os de cadeia longa (LCFA - 16:0 e 18:0) possuem papel anti-inflamatório, enquanto cadeias muito longas (VLFA - 22:0, 23:0, 24:0 e h24:0) estão relacionadas à inflamação e síndrome metabólica (INOKUCHI; KANO, 2022). Espécies VLFA de GM3 (22:0, 24:0 e h24:0) já foram reportadas como responsáveis pela produção de citocinas pró-inflamatórias mediadas por lipopolissacarídeos (LPS) como IL-6 e TNF- $\alpha$ . Já as espécies de LCFA (16:0, 18:0) inibiram a produção de citocinas mediada por LPS (KANO *et al.*, 2020). Podemos observar na Tabela 8 um aumento do gangliosídeo GM3 (d18:0/20:0) no grupo DM2 treinado, corroborando com o efeito anti-inflamatório do exercício, reduzindo a inflamação nesses voluntários.

Outras espécies de esfingolipídios como SM, HexCer, Hex2Cer, Hex3Cer podem estar relacionadas ao risco de desenvolver RI, disfunção endotelial e aterosclerose, relacionadas a doenças cardiometabólicas (CHEW *et al.*, 2019). O SM é o esfingolipídio mais abundante no plasma e nos tecidos, e concentrações elevadas têm sido correlacionadas com colesterol e doenças cardiovasculares em humanos na literatura (MATANES; TWAL; HAMMAD, 2019). Os SM regulam a hidrólise dos *pools* de PC das lipoproteínas VLDL, LDL e HDL pela lipase hepática (HL), e a depleção de SM estimula a hidrólise de PCs e TAGs, sendo considerado um inibidor de HL (HANNUN; OBEID, 2017).

Uma associação positiva entre Hex2Cer e a citocina anti-inflamatória IL-10 foi reportada por Mousa e colaboradores, independente de idade, sexo ou massa gorda. Esse glicosfingolipídio medeia a síntese de colesterol e já foi reportado em menores concentrações em condições associadas a inflamação crônica de baixo grau, como obesidade e DM2 (MOUSA *et al.*, 2019). Observando as Tabelas 6 a 8, percebemos que os 3 grupos aumentaram a intensidade do Hex2Cer após TC, corroborando com o estudo citado anteriormente. Provavelmente isso se deu pela ação anti-inflamatória do exercício, que foi capaz de reverter esse quadro inflamatório e elevar as concentrações séricas do Hex2Cer.

Em relação aos FAs, os três grupos apresentaram espécies com maiores intensidades no grupo treino, mas também apresentaram espécies que reduziram a intensidade pós TC, especialmente cadeias longas e insaturadas. Os FAs estão associados à síndrome metabólica, obesidade, RI e DM2, todos fatores de risco para DCV. As concentrações plasmáticas de FA estão relacionadas não apenas à ingestão deles, mas também ao equilíbrio entre a síntese, o armazenamento em forma de TAG e a lipólise. Indivíduos saudáveis têm o metabolismo do FA regulado, sendo o FA armazenado

eficientemente na forma de TAGs nos adipócitos e constituintes de todas as membranas celulares (glicerofosfolipídios). Quando a concentração nos adipócitos ultrapassa seu limiar, os FAs se acumulam como gotículas lipídicas nos órgãos de outras células, causando lipotoxicidade e produzindo citocinas pró-inflamatórias, levando a um estado inflamatório (SOBCZAK; BLINDAUER; STEWART, 2019).

O aumento da adiposidade leva ao aumento de FA no sangue, especialmente vindo dos depósitos de gordura visceral, que são altamente lipolíticos, liberando FA na corrente sanguínea. Altas concentrações de FA inibem a ação antilipolítica da insulina, aumentando a taxa de liberação de ácidos graxos livres na corrente sanguínea, levando a um estado de RI. O mecanismo pelo qual os FAs induzem a RI ocorre em parte devido ao acúmulo intracelular de TAGs e DAGs. A ativação de serinas/treonina quinases reduz a fosforilação da tirosina no receptor de insulina (IRS 1 e 2), comprometendo a via IRS/PI3K, envolvida na sinalização da insulina, induzindo um estado de RI (FRYK *et al.*, 2021). Além disso, os FAs geram ROS, principalmente pela ativação da NADPH oxidase via proteína quinase C (PKC), levando a um evento de estresse oxidativo (FORRESTER *et al.*, 2018).

Os FAs desempenham um papel fundamental no fornecimento de energia para o metabolismo durante o exercício físico, onde há aumento da demanda energética. Entretanto, a contribuição energética da oxidação de glicose ou gordura dependerá da disponibilidade de substrato (estado prandial), intensidade do exercício e estado de treinamento. A cinética de liberação de FA do tecido adiposo depende de sua estrutura molecular, sendo que a mobilização aumenta com o grau de insaturação e a oxidação ocorre mais rapidamente, em comparação com FA saturado. Assim, pode-se considerar que a composição de FAs nos adipócitos é tão importante quanto a quantidade (SEARS; PERRY, 2015).

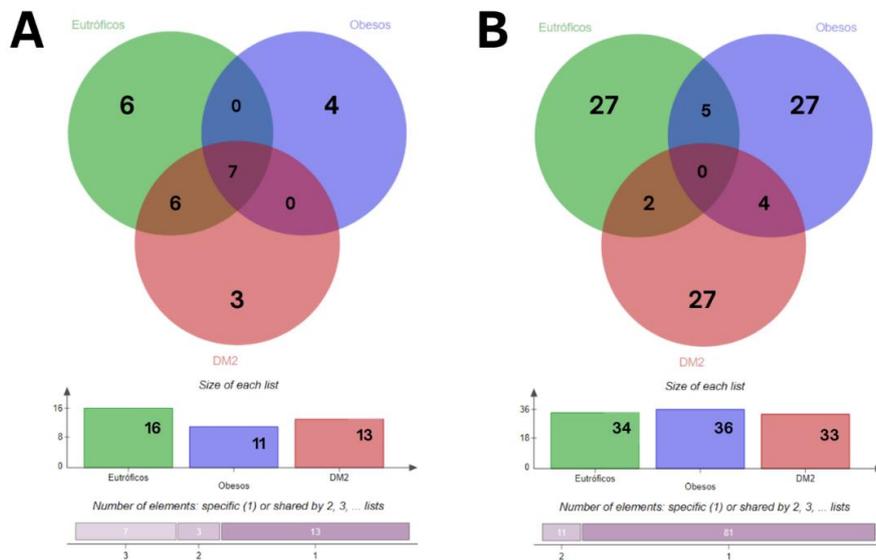
A classe dos GPs apareceu na mesma proporção em eutróficos e obesos (14%), porém, em menor quantidade no grupo DM2 (6%). Observamos que entre as espécies de GPs alteradas no grupo eutrófico está a lisofosfatidilcolina (LPC), em específico a LPC 16:0 que aumentou a intensidade pós TC. As LPCs circulantes são derivadas de PC e geradas pela lipase endotelial e pela lecitina colesterol aciltransferase (LCAT). A LPC 16:0 foi recentemente reportada por estimular a captação de glicose em adipócitos, independente da sinalização da insulina. Assim como a infusão de LPC 16:0 reduziu as concentrações de glicose no sangue de camundongos normais e camundongos com diabetes tipo 1 e 2 (MOUSA *et al.*, 2019). Nosso estudo corrobora com a literatura, a qual mostrou um aumento da LPC 16:0 e outras LPCs no soro de homens que realizam um treinamento aeróbico por 10 semanas (FELDER *et al.*, 2017). Outro trabalho também mostrou uma associação positiva entre LPCs e aptidão cardiorrespiratória (CARRARD; GUERINI; *et al.*, 2021). Sendo assim, confirmamos que esse aumento foi benéfico para o grupo eutrófico e provavelmente está relacionado ao

componente aeróbio do TC.

Outra espécie que também apresentou um aumento pós TC foi a lisofosfatidiletanolamina (LPE), o qual é um lisofosfolípido reconhecido como molécula sinalizadora intercelular. Esse achado corrobora com uma pesquisa realizada com ratos, na qual também observaram um aumento de LPE com o exercício, o qual pode contribuir para equilibrar a biossíntese do PE e reverter a disfunção mitocondrial (MONTERO-BULLON *et al.*, 2019). As espécies de PE também apresentaram um aumento no grupo obeso, corroborando com um trabalho com mulheres obesas que realizaram treinamento combinado de 12 semanas e viram aumento de espécies poli-insaturadas de PE no músculo esquelético (MENDHAM *et al.*, 2021). Além dos PCs, os PEs são os glicerofosfolípidios mais abundantes nas membranas mitocondriais. A relação PC:PE está associada à mobilização lipídica do músculo esquelético e à menor sensibilidade à insulina em homens com sobrepeso (FUNAI *et al.*, 2016). Esse estudo de Mendham e colaboradores mostrou que o aumento de PCs e PEs foi associado a alterações na função mitocondrial. Cadeias de ácidos graxos poli-insaturados em fosfolípidios aumentam a permeabilidade e fluidez da membrana celular, podendo ter repercussões diretas na função mitocondrial e na sensibilidade à insulina (MENDHAM *et al.*, 2021). Além desses benefícios, a suplementação de PE pode causar efeitos antioxidantes e antienvhecimento, já demonstrados através de mecanismos relacionados à hormese (conjunto de respostas adaptativas a desafios, através das quais o sistema melhora as suas funcionalidades e/ou a tolerância a desafios mais severos, de maior dimensão) e redução da sinalização à insulina/IGF-1 em *C. elegans* (PARK; KIM; PARK, 2021). O exercício foi capaz de aumentar as concentrações de PE em indivíduos obesos, o que pode ser extremamente positivo, já que essa população possui um processo de envelhecimento acelerado por conta da imunossenescência (SHIRAKAWA; SANO, 2021).

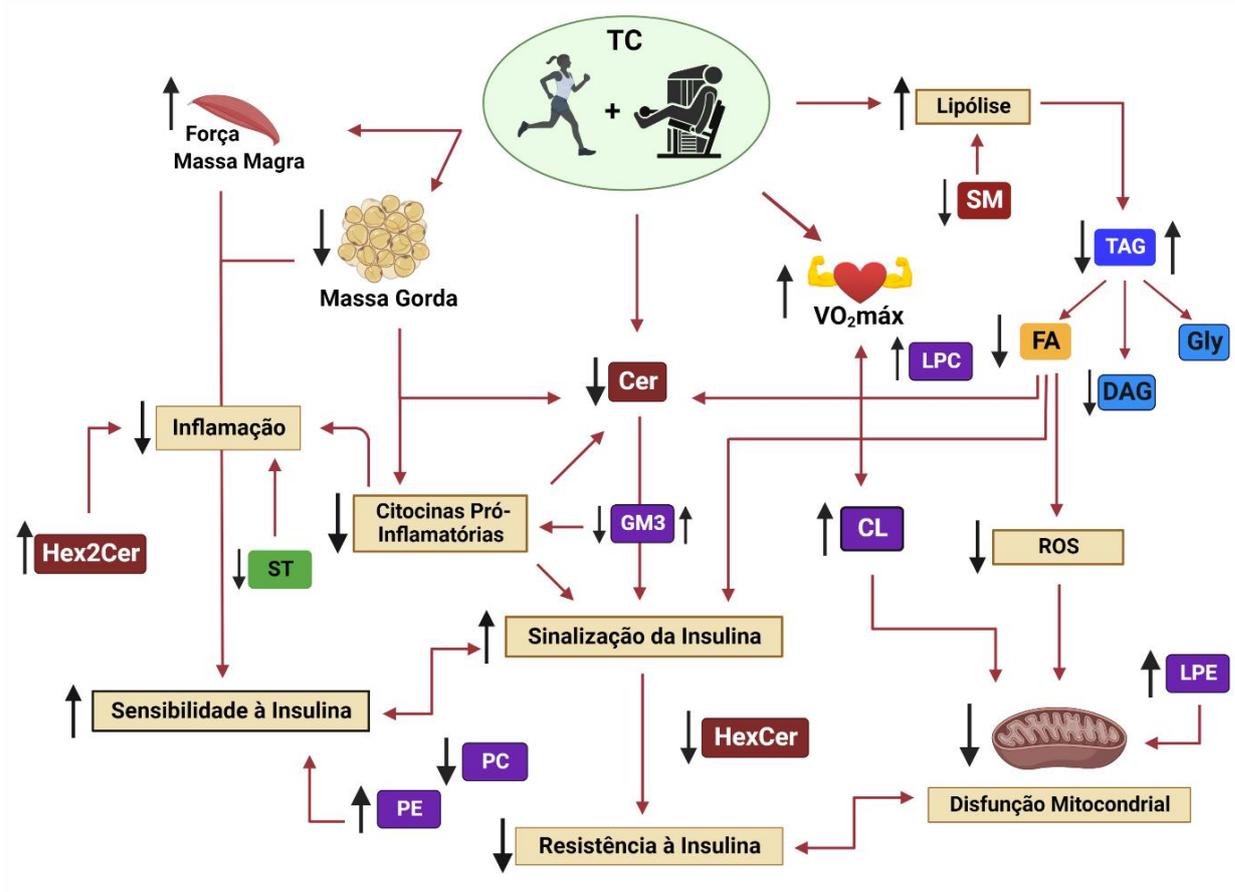
Por fim, a classe dos lipídios esteróis aparece em menor proporção nos 3 grupos. Entre esses esteróis, temos os ácidos biliares, os quais são moléculas sinalizadoras que regulam o metabolismo e a inflamação por meio do receptor nuclear farnesóide X (FXR) e do receptor 5 acoplado a proteína Takeda G (TGR5). Esses receptores ativam cascatas de sinalização que controlam a expressão gênica e atividade dos ácidos biliares, metabolismo de carboidratos, gasto energético e inflamação por atuar predominantemente não apenas em tecidos, mas também em órgãos periféricos (CHÁVEZ-TALAVERA *et al.*, 2017). Distúrbios metabólicos inflamatórios, como obesidade e DM2 estão associados a alterações no metabolismo de ácidos biliares, uma vez que a inflamação crônica modula o metabolismo hepático desses ácidos biliares, aumentando a concentração total em pacientes obesos e diabéticos (CHÁVEZ-TALAVERA *et al.*, 2017). Podemos observar que os 3 grupos reduziram algumas espécies de ST, isso pode ser devido ao papel anti-inflamatório do exercício.

Apesar dos 3 grupos apresentarem diferenças basais em seu lipidoma, como observado na Figura 8, podemos notar na Figura 31, que o TC promoveu alterações (aumentos e diminuições) semelhantes em 7 espécies de lipídios (FA, ST, DG, Cer, SM, TAG, Hex2Cer) entre os 3 grupos. Além disso, foram encontradas alterações em lipídios comuns entre os grupos eutrófico e obesos (FA 22:12, Hex2Cer 42:0;O2, FA 19:3, TG 62:12, ST 24:4;O5), obesos e DM2 (TG 62:13, TG 64:16, Hex2Cer 42:2;O2, FA 20:6) e entre eutróficos e DM2 (CDP-DG(43:2)). Isso nos confirma que apesar da individualidade biológica e as diferenças no metaboloma de cada grupo, o exercício os beneficiou promovendo alterações metabólicas comuns entre eles.



**Figura 31.** Diagrama de Venn mostrando as principais classes e espécies lipídicas em comum entre as comparações controle x treino dos três grupos. **A** – Espécies de lipídios em comum, **B** – metabólitos específicos em comum.

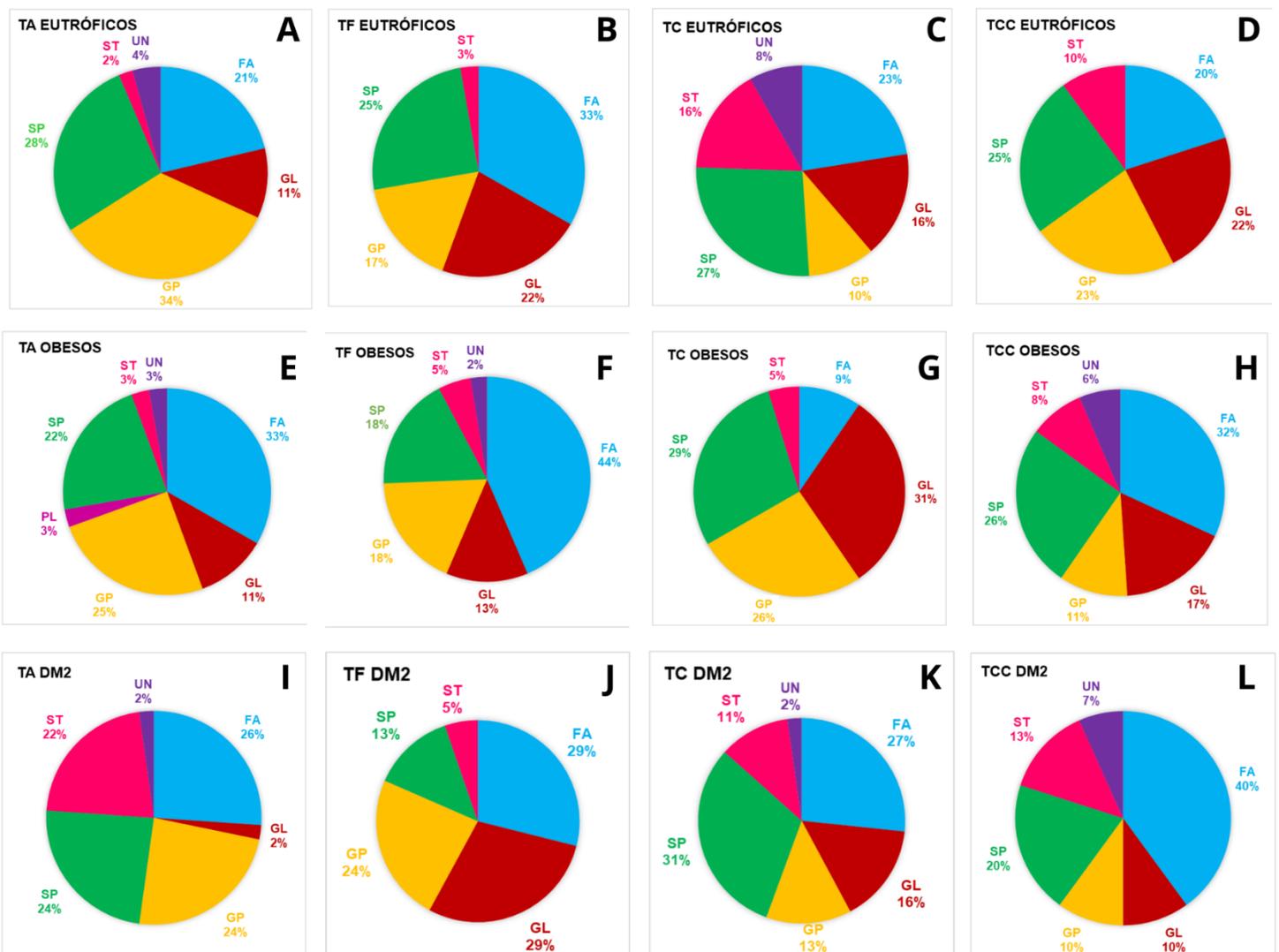
Sendo assim, mais uma evidência de que todos podem e devem se exercitar, não importando a sua condição basal. A Figura 32 traz um resumo das principais alterações promovidas no metabolismo pelo TC.



**Figura 32.** Resumo das principais alterações metabólicas causadas pelo TC. As setas em vermelho representam as direções e as relações entre os eventos. Já as setas em preto significam aumento (↑) ou diminuição (↓). As espécies de lipídios em azul representam glicerolípídios, em amarelo os ácidos graxos, os vermelhos são esfingolípídios e os roxos glicerofosfolípídios. Criada utilizando o *BioRender*.

### 6.3. Alterações Lipídicas Agudas

As sessões agudas de TA, TF e TC, assim como a sessão TCC, promoveram diferentes respostas metabólicas entre os grupos e momentos como observamos nas Figuras 13 a 24. Para facilitar a compreensão dessas alterações e tentar encontrar semelhanças e diferenças entre treinos e entre grupos, as Figuras 33 a 36 foram elaboradas a seguir. A Figura 33 traz o resumo das principais classes das espécies de lipídios alteradas nas sessões agudas nos 3 grupos. Em um primeiro momento observando a distribuição das classes, podemos confirmar que as diferentes sessões de treinos promoveram alterações em diferentes classes de lipídios.



**Figura 33.** Distribuição em porcentagem das classes de lipídios alteradas nas diferentes sessões agudas nos grupos eutrófico, obeso e DM2. **A, B, C e D** – Sessões aeróbica, força, combinada e combinada crônica, respectivamente, do grupo eutrófico. **E, F, G e H** – mesma ordem das sessões agudas no grupo obeso. **I, J, K, L** – mesma ordem das sessões agudas no grupo DM2.

### 6.3.1. Alterações lipídicas agudas TA, TF e TC em cada grupo

Observando os gráficos do grupo eutrófico (**A, B, C, D**) da Figura 33, é possível notar que o TA parece ter mobilizado mais GPs (33%) e SPs (27%) em comparação ao TF, TC e TCC. Entre esses GPs estão LPC, LPE, PCs e PEs. O LPC 16:0 aumentou após a sessão aeróbica, confirmando as informações acima discutidas, indicando que ele pode ser considerado um marcador da aptidão cardiorrespiratória (CARRARD; GUERINI; *et al.*, 2021). O LPE também apareceu aumentado pós TA e TC e, como já discutido, pode contribuir para reverter a disfunção mitocondrial (MONTERO-BULLON *et al.*, 2019). Essa mesma espécie de LPE 18:0 apareceu na sessão aeróbica do grupo DM2, que provavelmente tem uma maior disfunção mitocondrial, comparado ao grupo eutrófico. As espécies de PC e PE, sendo a

maioria poli-insaturadas, apareceram em todos os treinos e podem ter relação com o estudo previamente citado, de que essas cadeias podem aumentar a permeabilidade e fluidez da membrana celular e ter repercussões diretas na função mitocondrial e na sensibilidade à insulina (MENDHAM *et al.*, 2021). Não foi medida a sensibilidade à insulina após a sessão, mas acredita-se que todas as sessões promoveram uma melhora pelas alterações lipídicas apresentadas.

Entre os SPs e as espécies mais alteradas foram CerPEs, HexCer, Hex3Cer, GM3 e SM. Mas também é possível notar espécies de Cer e todos esses lipídios em todos os treinos do grupo eutrófico. A maioria das espécies de SMs foram reduzindo a intensidade após a sessão de TA, o que pode ser um bom indicativo de melhora da sensibilidade à insulina, pois já foi publicado que a redução de espécies de SM podem melhorar a sensibilidade à insulina (CHANG *et al.*, 2019). Já o gangliosídeo GM3, assim como HexCer e CerPE aumentaram a sua intensidade após a sessão aeróbia. O GM3 apareceu em comum na sessão aeróbia do grupo obeso, corroborando com Bergman e colaboradores que também viram um aumento do GM3 (BERGMAN *et al.*, 2015), e de alguns outros SPs, como Cers, que podem provavelmente estar relacionado com o aumento agudo da inflamação após a sessão de treino em indivíduos sedentários (BROWN, William M.C. *et al.*, 2015).

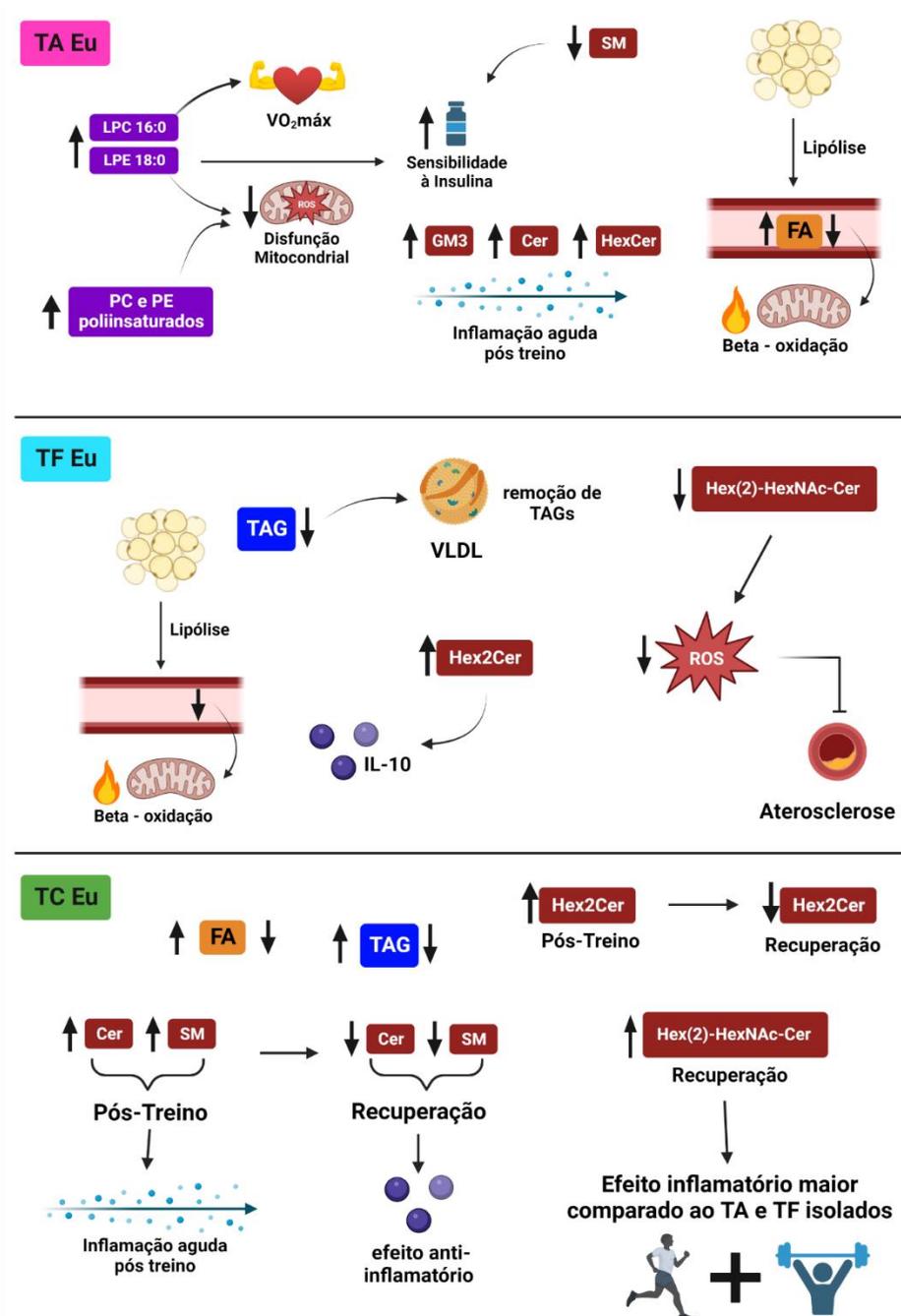
Algumas espécies de FAs mostraram aumento após a sessão, indicando uma maior lipólise no tecido adiposo e liberação de FAs na corrente sanguínea. Porém, outros apresentaram uma diminuição, mostrando um maior transporte do sangue para mitocôndrias musculares para ocorrer a beta-oxidação e transformação em ATP (Tabelas 9 e 11). Os FAs são os principais substratos energéticos durante o exercício de moderada intensidade entre 45% e 65% do  $VO_2$ máx, podendo ser substituído pela oxidação da glicose em intensidades maiores. Além disso, após uma sessão moderada de exercício aeróbio a taxa lipolítica se mantém aumentada por até 24 horas em comparação ao repouso (MUSCELLA *et al.*, 2020). Nossa sessão aeróbia tinha intensidade entre 40 – 65% do  $VO_2$ máx, o que nos leva a crer que tanto a lipólise, como a oxidação de FAs ocorreram durante e após a sessão, por isso essa oscilação entre as espécies de FAs.

Na sessão de TF é possível observar na Figura 33 que houve uma maior mobilização de FAs (32%) e de GL (22%) comparado ao TA. Um dado interessante que podemos ver nas Tabelas 9 e 11 é que a maioria das espécies de FAs do TF reduziram as intensidades no imediatamente pós, 30 min e 60 min, mostrando um aumento na oxidação de lipídios. Normalmente, estudos mostram um aumento na oxidação de FAs após sessões agudas de TF de alta intensidade, utilizando grandes grupos musculares (FARINATTI *et al.*, 2016), porém mesmo em uma sessão de moderada intensidade e misturando grandes e pequenos grupos musculares, pudemos observar esse aumento da oxidação e redução de

ácidos graxos da corrente sanguínea. Já as espécies de TAGs apresentaram um comportamento semelhante, sendo maior no momento pré em relação ao momento pós, porém apresentam uma maior intensidade novamente no momento 60 min. Essa redução de TAGs do plasma após uma sessão de intensa de TF, devido ao aumento da eficiência da remoção da TAGs pelas partículas VLDL já foi reportada previamente (MAGKOS *et al.*, 2008). Apesar de nossa sessão aguda de TF ser de intensidade moderada, também conseguimos ver uma melhor remoção dos TAGs do sangue. Porém, também observamos aumento dessas mesmas espécies ou de outras pós 30 min e 60 min.

Os SPs representaram 24% das espécies de lipídios mobilizadas no TF e entre elas vemos Hex2Cer aumentando a intensidade após a sessão, e o Hex(2)-HexNAc-Cer reduzindo a intensidade. Como já discutido anteriormente, o Hex2Cer é um gangliosídeo que foi relacionado a uma resposta anti-inflamatória. Já o Hex(2)-HexNAc-Cer, também conhecido como LacCer, é um glicoesfingolípido que possui funções na sinalização celular e atividades biológicas. Esse lipídio pode induzir a ativação de NADPH oxidase e gerar ROS, além de em neutrófilos e monócitos humanos, pode expressar integrinas (CD-11/CD18) que facilitam sua adesão e entrada no endotélio, levando à inflamação e aterosclerose (CHATTERJEE; BALRAM; LI, 2021). Sendo assim, podemos concluir que a sessão de TF moderada não produz um efeito inflamatório, como vemos em sessões intensas, mas sim anti-inflamatório.

O TC em eutróficos apresentou uma redução nas espécies de GPs alteradas e um aumento de STs em relação aos outros grupos. Em relação aos FAs, algumas espécies aumentaram e outras reduziram, assim como algumas espécies de TAGs que aumentaram a intensidade nos momentos 30 min e 60 min, porém, outras reduziram a intensidade pós-treino, comparado ao pré. Os SPs mostraram algumas espécies de Cers e SMs com aumento da intensidade após a sessão, e uma diminuição na recuperação (mesmo efeito no TF), o que potencializa achados que mostraram exatamente esse mesmo comportamento dos esfingolípídios após uma sessão aguda de 1h30min pedalando a 50% do  $VO_2$ máx (BERGMAN *et al.*, 2015). O Hex2Cer aumentou a intensidade após a sessão, porém reduziu novamente durante a recuperação, já o Hex(2)-HexNAc-Cer diferentemente do que visto no TF, apresentou uma maior intensidade no momento 60 min comparado ao pré e também ao pós. Esse resultado sugere que talvez a sessão de TC tenha promovido em efeito inflamatório maior após a sessão, por conta da união dos dois estímulos, em relação ao TA e TF isolado. O tempo e o volume das sessões eram iguais, sendo assim, talvez a realização de ambos estímulos na mesma sessão tenha gerado um maior estresse metabólico. A figura 34 traz um resumo dos principais achados em relação às sessões agudas do grupo eutrófico.



**Figura 34.** Resumo das principais alterações metabólicas agudas do treino aeróbio (TA), treino de força (TF), e treino combinado (TC), no grupo eutrófico (Eu). Criada utilizando o *BioRender*.

O grupo obeso apresentou uma distribuição das classes de lipídios diferente do grupo eutrófico (Figura 33 e Figura 35). No TA podemos observar uma porção maior de FAs (30%), assim como GPs (22%) e SP (20%). A maior parte das espécies de FAs reduziram a intensidade no momento pós-treino e recuperação, comparado ao momento pré, mostrando uma maior oxidação desses ácidos graxos durante o treino e nos 30 min e 60 min após. Já entre os GLs, DAGs e TAGs, ambos reduziram a intensidade no momento pós-treino comparado ao pré, e continuaram diminuindo após, diferentemente do resultado encontrado

no grupo eutrófico. Entre os GPs, vemos que a CL aumentou a intensidade no momento 60 min comparado ao pré sessão. A Cardiolipina é um GP totalmente relacionada à função mitocondrial, localizada na membrana interna das mitocôndrias, e necessária para a fosforilação oxidativa e síntese de ATP. São sensíveis a ROS e apresentam concentrações diminuídas em obesos e DM2 por conta da disfunção mitocondrial (DUDEK, 2017; EL-HAFIDI; CORREA; ZAZUETA, 2020). Esse aumento provavelmente está relacionado ao aumento da atividade da fosforilação na cadeia transportadora de elétrons para a síntese de ATP durante a sessão e na recuperação.

Em relação aos SPs, observamos um maior número de gangliosídeos (GA1 e GM3) e glicoesfingolipídios (Hex(2)-HexNAc-Cer) no grupo obeso comparado ao grupo eutrófico. Todos eles aumentaram a intensidade no momento após a sessão e 60 min comparado ao pré, o que nos mostra uma resposta inflamatória maior. Esse dado corrobora com um estudo que mostra que o exercício aeróbico agudo pode ser mais inflamatório do que o exercício de força, devido a ativação dos receptores de TLR2 e TLR4 por FAs não esterificados que sofrem um aumento transitório durante o TA. FAs com concentrações elevadas cronicamente ativam os TLRs e podem induzir a produção de citocinas pró-inflamatórias nos macrófagos, adipócitos, fígado e músculo (CAVALCANTE *et al.*, 2017). Indivíduos obesos já possuem uma maior concentração de citocinas pró-inflamatórias circulantes, devido à inflamação subclínica, além da presença de gangliosídeos, como observado. Apesar da sessão ser considerada de moderada intensidade, talvez para um indivíduo obeso e sedentário há muitos anos tenha gerado uma percepção de esforço grande, induzindo transitoriamente a inflamação.

O TF do grupo obeso apresentou 40% de FAs alterados, maior do que todos os grupos. Observando as Tabelas 12 e 14, nota-se que a maioria dos FAs são de cadeia longa e poli-insaturadas e o comportamento deles mostra um aumento no momento após a sessão de alguns, assim como diminuição nos momentos 30 min e 60 min. Porém, também há espécies com intensidades reduzidas no momento após a sessão comparado ao pré e aumento pós 60 min. Isso provavelmente nos sugere que está ocorrendo uma lipólise, liberando esses FAs que estão sendo oxidados após a sessão na recuperação, ou mesmo durante a sessão. Já os GLs, tanto o DAG, quanto os TAGs (cadeias longas e poli-insaturadas) aumentaram sua intensidade no momento pós-treino e continuaram aumentando na recuperação. Esse achado corrobora em partes com o estudo de Contrepois e colaboradores, onde também observaram um aumento em um subconjunto de TAGs de cadeias longas e poli-insaturadas após a sessão de exercício agudo aeróbico. Os autores especularam que isso possa refletir uma sinalização pró ou anti-inflamatória, pois alguns

desses TAGs possuíam ácido araquidônico, eicosapentaenóico e docohexaenóico em sua composição (CONTREPOIS *et al.*, 2020).

Já entre os SPs, os dois gangliosídeos reduziram a intensidade logo após a sessão de treino, porém aumentaram novamente após 30 min e 60 min, mesmo comportamento de alguns CerPE, mostrando uma possível resposta mais inflamatória nesses indivíduos obesos comparados aos eutróficos, devido a eles já terem essas citocinas pró-inflamatórias circulantes. Dentre os GPs, observamos que a CL novamente aumentou a intensidade nos momentos 30 min e 60 min comparados ao pré e pós, assim como na sessão de TA.

Interessantemente, o TC do grupo obeso apresentou uma distribuição das espécies bem diferente (Figura 33), tendo um grande aumento de GLs (28%), GPs (24%) e SPs (26%) e uma diminuição drástica nos FAs (9%). Ao contrário do TF, as espécies de TAGs (também de cadeias longas e poli-insaturadas) mobilizadas no TC apresentaram diferentes alterações, tendo 4 delas diminuindo a intensidade na recuperação em comparação ao pré e 4 aumentando. Vimos também 1 espécie que aumentou pós-treino e reduziu na recuperação e 2 que reduziram, mas voltaram a aumentar após 60 min. Isso pode novamente corroborar com o estudo anteriormente citado que propôs uma sinalização pró e anti-inflamatória da sessão possa causar essas diferenças, sendo alguns TAGs metabolizados para utilização de energia e outros aumentados.

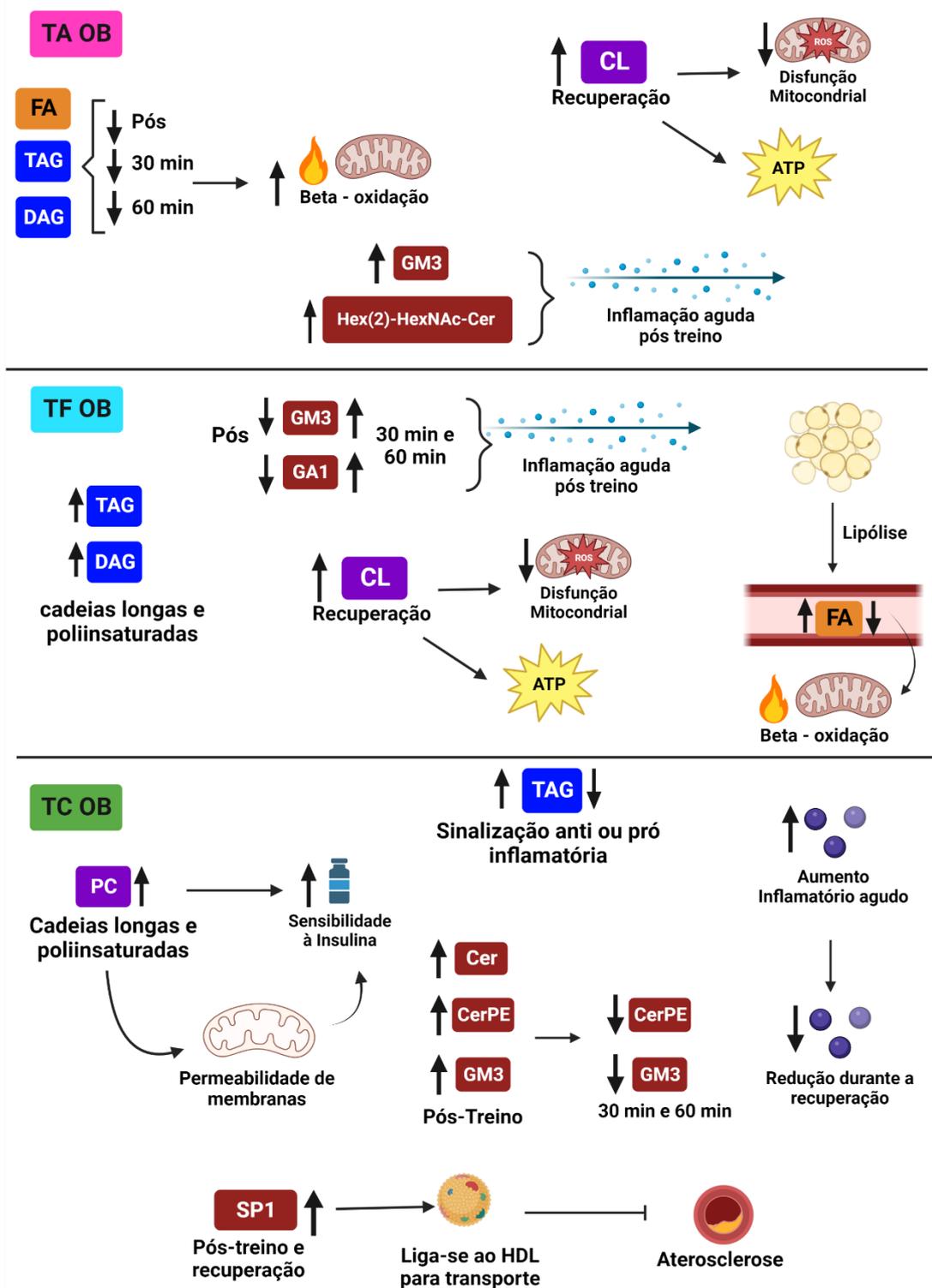
Os GPs apresentaram alterações principalmente nos PCs, ocorrendo um aumento no momento 60 min em quase todas as espécies de cadeias longas e poli-insaturadas. Como já discutido anteriormente, esse lipídio está presente nas membranas celulares, principalmente das mitocôndrias e estão relacionados à sensibilidade à insulina (MENDHAM *et al.*, 2021). O que nos leva a ideia de que a sessão de TC promove uma maior sensibilização da insulina comparado ao TA e TF isolados.

Entre os SPs, encontramos um aumento nas Cers pós-treino comparado ao pré, assim como aumento em espécies de CerPE (duas delas diminuíram no momento 30 min comparado ao momento pós). As espécies de gangliosídeos GM3 aumentaram a intensidade logo após a sessão de TC, porém reduziram a intensidade novamente nos momentos 30 min e 60 min comparado ao momento pós. Esse achado nos mostra que a sessão de TC pode ter gerado um efeito inflamatório imediatamente após a sessão, porém após 30 min e 60 min já vemos uma redução desses marcadores.

Uma espécie de lipídio que apareceu apenas nesse treino foi a SP1, a qual aumentou a sua intensidade no momento pós e no momento 60 min. A S1P é produzida pela fosforilação da esfingosina por uma das esfingosina quinases (SphK1 e SphK2). O transporte

dessas substâncias no sangue se dá pela ligação com HDL (50-60%) e albumina (30-40%). O restante liga-se ao LDL e VLDL. O metabolismo e atividade biológica da S1P circulante são fortemente dependentes do tipo de transportador, e essa associação ao HDL favorece os benefícios cardiovasculares na prevenção de aterosclerose e isquemia (KŚIAŹEK *et al.*, 2018). Alguns estudos já mostraram também elevação de concentrações de SP1 no plasma após a sessão de exercício aeróbio (remo até exaustão) (BARANOWSKI, Marcin *et al.*, 2015) e também em sujeitos destreinados após sessão de cicloergômetro a 70% do VO<sub>2</sub>máx (BARANOWSKI, M. *et al.*, 2011). Há controvérsias nos efeitos desse metabólito em relação à sinalização da insulina e RI, pois estudos mostram um efeito protetor, enquanto outros mostram uma piora no quadro metabólico (WIGGER *et al.*, 2021). A Figura 35 traz um resumo dos principais achados das respostas metabólicas agudas do grupo obeso.

O grupo DM2 apresenta uma distribuição de classes de lipídios bem equilibrada no TA, entre FA, GP, SP e ST (Figura 33). Observando os FAs, obteve-se o mesmo padrão de mudanças dos outros grupos, tendo um aumento de algumas espécies no momento pós comparado ao pré, e também no 60 min comparado ao momento pós (Tabelas 15 e 17). Já outras espécies apresentaram um aumento após a sessão, porém, uma diminuição durante a recuperação. Entre os GPs, vemos novamente o LPC 16:0 aumentando a intensidade, assim como no TA dos eutróficos e TC dos obesos, confirmando ser um lipídio relacionado à aptidão cardiorrespiratória e melhora da sinalização da insulina. Já as espécies de LPE apresentaram um aumento após a sessão, assim como na sessão de TA dos outros dois grupos, podendo ser considerado um marcador relacionado ao treino aeróbio. As espécies de PC de cadeias mais longas e poli-insaturadas apresentaram um aumento após a sessão, o que pode estar relacionado a uma melhora da fluidez das membranas mitocondriais, como anteriormente discutido. Porém, a espécie PC 14:0 de cadeia média e saturada apresentou redução após a sessão e durante a recuperação, o que é positivo, uma vez que cadeias saturadas de fosfolipídios podem aumentar a rigidez das membranas, causando um problema na fusão do Glut 4 para a o transporte de glicose, aumentando a RI (N.M. WEIJERS, 2012).



**Figura 35.** Resumo das principais alterações metabólicas agudas do treino aeróbico (TA), treino de força (TF), e treino combinado (TC), no grupo obeso (OB). Criada utilizando o *BioRender*.

Na classe dos SPs, a maioria das espécies de Cers e CerPEs aumentaram a intensidade no momento pós em relação ao pré, e também no momento 30 min e 60 min. Duas espécies de Cer (32:1 e 35:2) e uma de CerPE (34:3) apresentaram redução após a

sessão e durante a recuperação. Além disso, as 3 espécies de HexCer aumentaram a intensidade nos momentos 30 min e 60 min da recuperação. As hexosilceramidas pertencem ao grupo de cerebrosídeos dentro da classe dos SPs, e entre suas funções, são precursores chave para a biossíntese de dihexosilceramidas e para glicosídeos mais complexos, como globosídeos e gangliosídeos. HexCers são produzidas enzimaticamente pela glucosilceramida sintase de Cers. Além disso, são moléculas vitais para a função celular, atuando como componentes estruturais de membranas celulares e crescimento axonal dos neurônios (SILSIRIVANIT *et al.*, 2019). Uma associação negativa significativa entre o IMC e HexCers já foi demonstrada, sugerindo que os HexCers sejam convertidos de volta a Cers na obesidade, levando a uma diminuição em sua concentração (PIKÓ *et al.*, 2021). Essa reconversão em ceramidas talvez faça sentido, pois vimos um aumento das ceramidas no após a sessão e uma diminuição de HexCer, porém, durante a recuperação a intensidade aumentou, enquanto algumas ceramidas diminuíram.

Ao contrário do TA que apresentou baixa porcentagem de GLs (2%), o TF apresentou 27%, sendo majoritariamente DAGs e TAGs. Interessantemente, todas as espécies de DAGs reduziram as intensidades tanto no após a sessão comparado ao pré, como na recuperação comparado ao pré e pós. Os DAGs são moléculas relacionadas à indução de RI (CARTEE, 2015), portanto, a diminuição nessa população, a qual já é cronicamente resistente, é um ponto extremamente positivo, pois provavelmente a sessão através da contração muscular conseguiu aumentar a sensibilidade à insulina. Assim como os DAGs, os TAGs também reduziram as intensidades após a sessão de TF e também durante a recuperação em relação ao momento pré, diferentemente dos outros grupos. Provavelmente nessa população, a intensidade do treino foi suficiente para gerar a lipólise, quebrando os TAGs e utilizando alguns FAs na beta-oxidação para a produção de energia, pois observamos que entre os FAs (Tabela 17 e 15), algumas espécies reduziram a intensidade nos momentos 30 min e 60 min em relação ao pré. Porém, a maioria aumentou a intensidade durante a recuperação em comparação ao momento pré, fazendo sentido já que os DAGs e TAGs reduziram as intensidades e provavelmente liberaram ácidos graxos na corrente sanguínea (MUSCELLA *et al.*, 2020).

Entre os GPs e SPs no TF do grupo DM2, vemos uma redução de PCs e um aumento de PE nos momentos após a sessão, 30 min e 60 min minutos em comparação ao pré, os quais já foram discutidos anteriormente. Já o SM reduziu a intensidade após a sessão e na recuperação em relação ao momento pré, já a maioria das espécies de Cers e um gangliosídeo aumentaram suas intensidades no momento pós-treino e durante a recuperação comparado ao pré sessão. Além da hipótese da resposta inflamatória das sessões agudas de exercício, outra explicação levantada por autores para o aumento de ceramidas após a sessão

de exercício seria devido ao aumento de FAs na corrente sanguínea, decorrentes do exercício, favorecendo o aumento da síntese *de novo* de ceramidas (TAN-CHEN *et al.*, 2020).

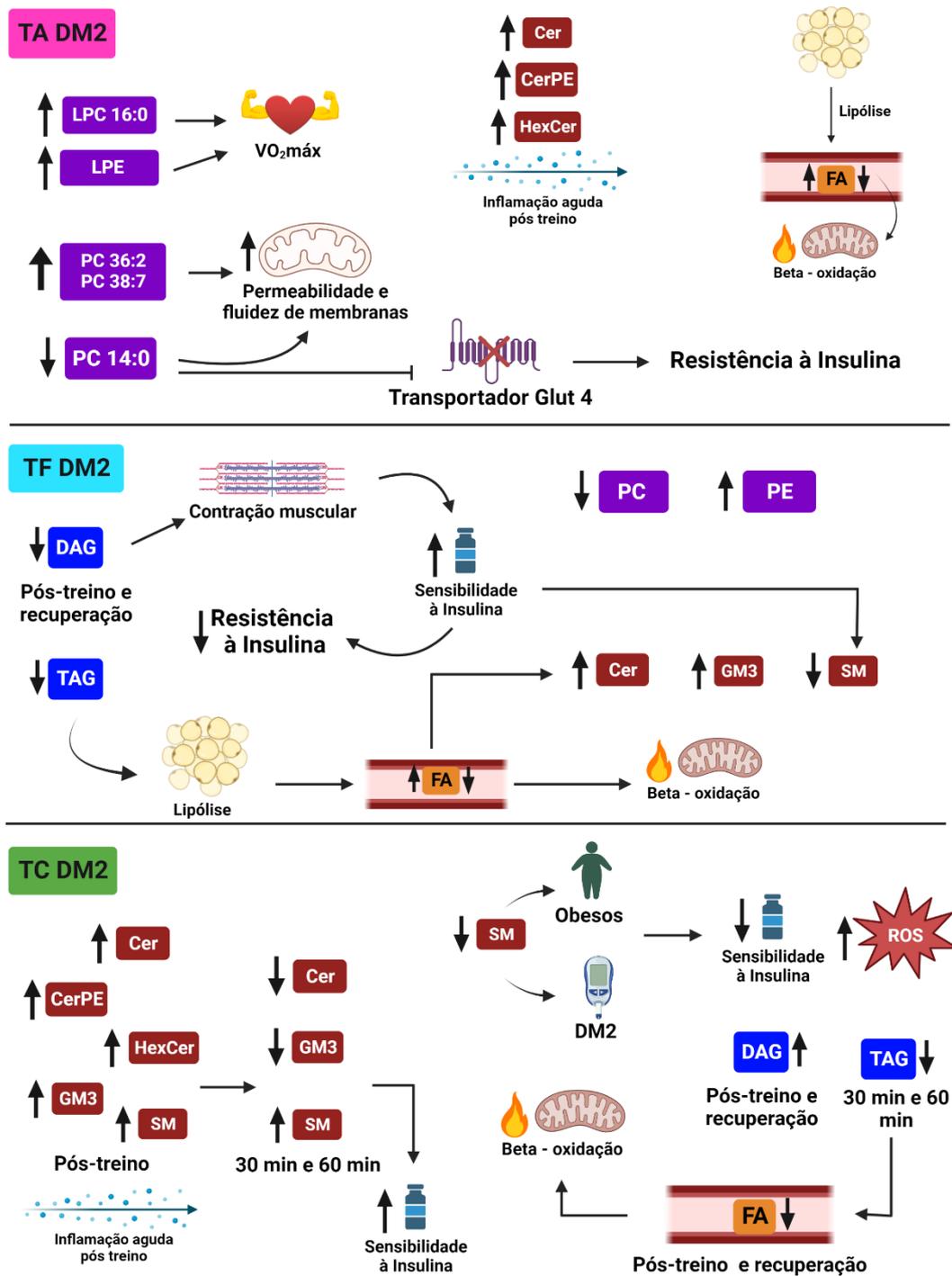
Observando a distribuição dos lipídios na sessão de TC do grupo DM2, vemos que em relação ao TF, houve uma redução na proporção de GLs e GPs e um aumento expressivo de SPs, entre eles Cers, CerPE, GM3, HexCer e SM. Os resultados dessa sessão aguda foram opostos aos vistos no TA e TF do mesmo grupo e também em relação ao grupo obeso. Porém, eles corroboraram com o grupo eutrófico, onde as espécies de Cers aumentaram a intensidade no momento pós em relação ao pré, entretanto, reduziram a intensidade principalmente no momento 60 min comparado ao momento pós e pré. O gangliosídeo GM3 também apresentou uma redução na intensidade no momento 30 min e 60 min comparado ao momento pós, mesmo efeito visto no grupo obeso. Já o SM, a mesma espécie que reduziu a intensidade no TF aumentou a intensidade tanto no momento pós, como durante a recuperação. Pacientes com pré-diabetes ou DM2 apresentavam concentrações de SMs significativamente reduzidas em comparação ao controle saudável. Os autores sugeriram que essa diminuição pode ser devida ao estresse oxidativo ou redução da sensibilidade à insulina (SOKOŁOWSKA *et al.*, 2022). Sendo assim, esse aumento promovido pelo TC no grupo DM2 é algo positivo, que pode ter ocorrido devido ao aumento da sensibilidade à insulina após a sessão.

Outro resultado que teve efeito inverso comparado ao TF foram os GLs, pois os DAGs aumentaram a intensidade no momento pós e recuperação comparado ao pré, e os TAGs apresentaram uma maior intensidade no momento pós, porém todos reduziram a intensidade no momento 60 min, mostrando uma possível quebra em DAGs e FAs. No entanto, a maioria das espécies de FAs reduziram as intensidades nos momentos pós, 30 min e 60 min comparados ao pré, mostrando uma maior oxidação desses ácidos graxos durante e após a sessão. Os GPs, PCs e PEs apresentaram o mesmo comportamento do grupo TF, uma redução dos PCs após a sessão e um aumento de PE durante a recuperação. Por fim, a CL também apresentou um aumento no momento 60 min comparado ao momento após a sessão, evidenciando um aumento da atividade mitocondrial. A Figura 36 traz um resumo dos principais achados das respostas metabólicas agudas do grupo DM2.

### **6.3.2. Alterações lipídicas Concorrentes ou Combinadas entre sessões e grupos**

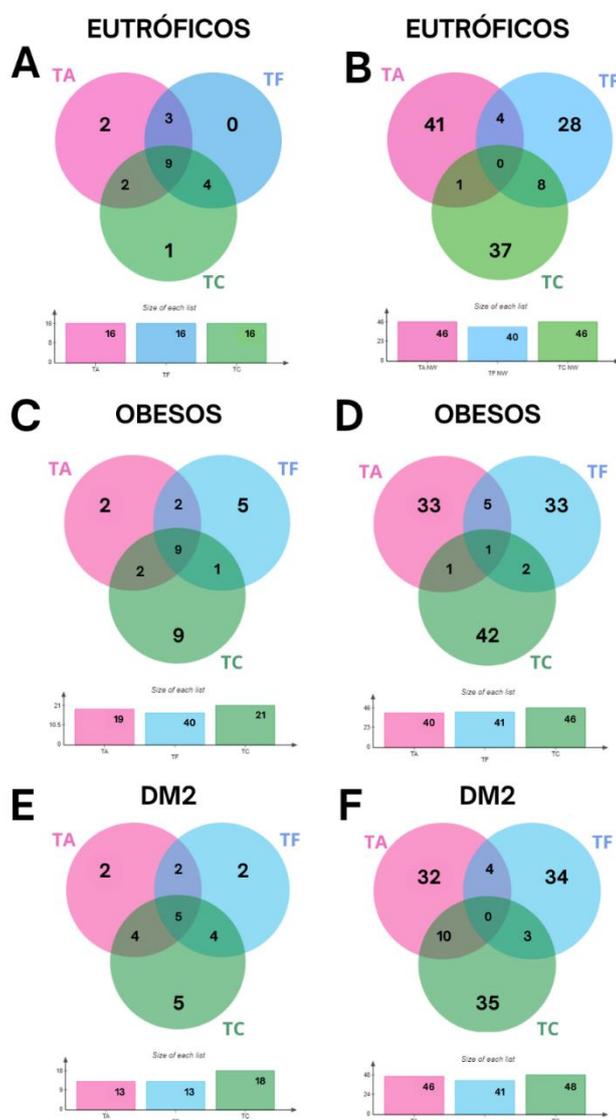
Baseado nos resultados obtidos das sessões agudas, podemos concluir que nem sempre os efeitos metabólicos das sessões TA e TF são combinados na sessão de TC, muitas

vezes a resposta metabólica apresenta resultados opostos, o que pode nos levar à antiga ideia de treinamento concorrente, mesmo em cargas moderadas. Na Figura 37 vemos que em relação às espécies de lipídios no grupo eutrófico, 9 foram as espécies em comum entre as 3 sessões, 3 exclusivas entre TA e TF, 4 entre TF e TC e 2 entre TA e TC. Já observando os metabólitos específicos alterados nas sessões agudas, 8 foram comuns entre TF e TC, 4 entre TA e TF e apenas 1 entre TA e TC. Assim, para esse grupo, os efeitos metabólicos entre TF e TC são mais semelhantes do que TA e TF e TA e TC.



**Figura 36.** Resumo das principais alterações metabólicas agudas do treino aeróbio (TA), treino de força (TF), e treino combinado (TC), no grupo diabético tipo 2 (DM2). Criada utilizando o *BioRender*.

No grupo obeso (Figuras 37C e D) tivemos também 9 espécies de lipídios em comum entre as 3 sessões, porém, apenas 2 entre TA e TF, 2 entre TA e TC e 1 entre TF e TC. Outro fator interessante, é que tanto o TF (5), quanto o TC (9) apresentaram mais espécies de lipídios exclusivas em comparação ao grupo eutrófico, levantando a hipótese de que talvez para obesos, a junção dos 2 treinos na mesma sessão produza efeitos concorrentes ao invés de combinados. Os metabólitos específicos mostram a mesma ideia, onde há apenas 1 em comum entre as 3 sessões e 5 em comum entre TA e TF.



**Figura 37.** Diagrama de Venn representando a quantidade de espécies de lipídios em comum entre as sessões de TA, TF e TC (A, C, E) nos grupos, e também a quantidade de lipídios específicos em comum entre as sessões (B, D, F).

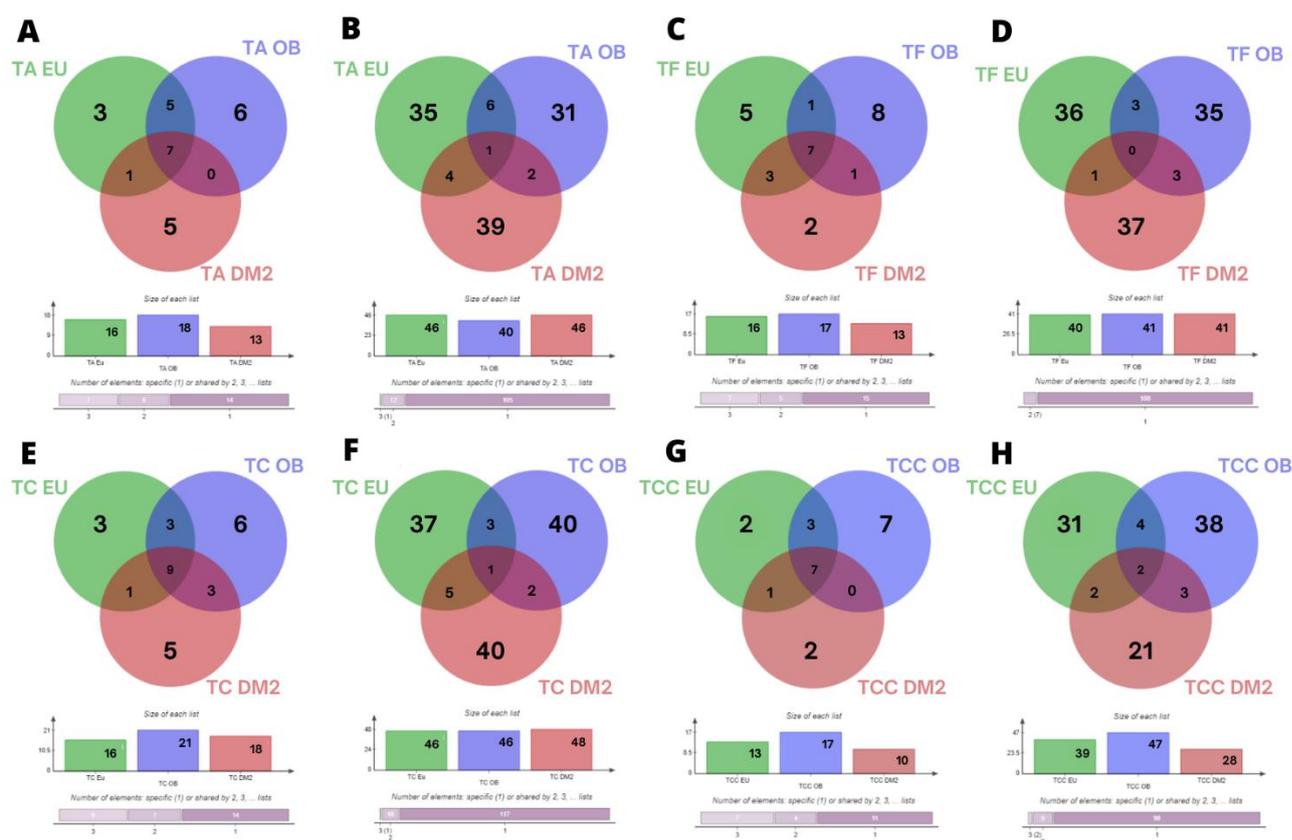
O grupo DM2 apresentou um maior equilíbrio entre as sessões, sendo 5 espécies em comum entre as 3 sessões, 2 espécies entre TA e TF, e 4 entre TA e TC, e TF e TC, mostrando que há uma maior combinação das alterações metabólicas no TC comparado ao grupo obeso. Porém, ao observarmos os metabólitos específicos, notamos que há 10 em comum entre as sessões de TA e TC, contra 3 entre TF e TC, mostrando um resultado oposto ao visto no grupo eutrófico. Em resumo, tanto o grupo eutrófico, quanto o grupo DM2 parecem ter um efeito combinado de TA e TF na sessão de TC, entretanto, no grupo eutrófico a resposta metabólica da sessão de TC é mais similar a resposta do TF do que de TA, e já no grupo DM2, a sessão de TA produz uma resposta metabólica mais similar ao TC do que ao TF. Já o grupo obeso teve um efeito concorrente de TA e TF na sessão de TC, produzindo mais alterações opostas do que semelhantes.

Observando a Tabela 1, no momento controle (quando eles realizaram as sessões agudas), vemos a diferença nos dados de composição corporal desses indivíduos. O grupo DM2 possui um IMC em média de 29, comparado a 32kg/m<sup>2</sup> dos obesos, assim como o percentual de massa gorda que era de 34% nos DM2 (média de 28kg de gordura), contra 42% nos obesos (39 kg de gordura). O excesso de tecido adiposo no grupo obeso provavelmente pode estar relacionado a um aumento de citocinas pró-inflamatórias circulantes, entre outros prejuízos que fizeram com que a resposta metabólica da sessão combinada fosse mais variável e inconsistente em relação aos outros grupos.

Ao compararmos as principais espécies de lipídios, e metabólitos específicos entre grupos em uma mesma sessão de exercício (Figura 38), nota-se diferenças nos números entre os diagramas de Venn. Todas as sessões apresentaram entre 6 e 8 espécies de lipídios em comum entre os 3 grupos, sendo no TA (FA, PC, LPE, ST, DG, CerPE, LPC), no TF (FA, TAG, CDP-DG, DG, ST, Cer), no TC (TAG, FA, DG, CerPE, SM, ST, Cer, PC). Pode-se classificar essas espécies de lipídios como as mais alteradas em cada tipo de treino. No entanto, há espécies exclusivas de cada grupo em cada treino e corroborando com o achado anterior, o grupo obeso apresentou o maior número delas comparado aos outros grupos. Outro ponto importante que deve ser destacado é que todos os voluntários DM2 tomavam metformina para o tratamento da doença e já foi visto que a metformina pode ter efeitos anti-inflamatórios, independente do status da diabetes (CAMERON *et al.*, 2016). Dessa forma, um potencial efeito anti-inflamatório sinérgico entre o medicamento e o exercício físico podem ter ocorrido no grupo DM2, o que os levou a ter melhores respostas na redução de espécies de lipídios relacionadas à inflamação, comparado ao grupo obeso por exemplo.

Nos últimos 10 anos, o número de trabalhos com metabólômica e exercício físico aumentou muito, porém ainda há poucos com foco na lipidômica. Este é o primeiro trabalho comparando as alterações metabólicas, principalmente focando em lipídios, em 3 diferentes

sessões agudas de exercícios em grupos com e sem comorbidades, de ambos os sexos. Uma revisão recente mostrou diversos tipos de metabólitos e vias que são afetadas pelo exercício/atividade física, sendo a maioria deles da glicólise, ciclo de Krebs, aminoácidos, alguns ácidos graxos, carnitinas e metabolismo de purinas (KELLY; KELLY; KELLY, 2020). Portanto não há como comparar se esses resultados estão corroborando com os achados da literatura, nos levando a concluir que algumas espécies de lipídios são características de cada tipo de treino, mas elas podem ser afetadas e variadas de acordo com a composição corporal, RI e outros fatores.

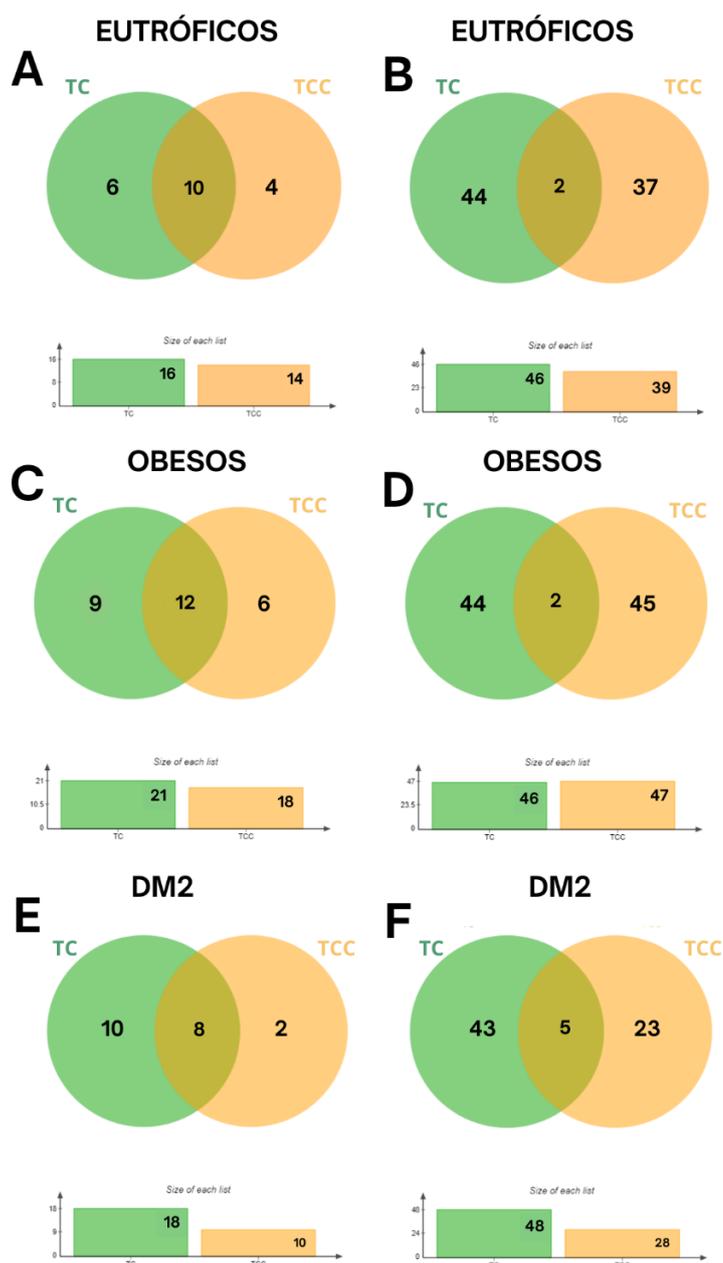


**Figura 38.** Diagramas de Venn representando o número de espécies de lipídios em comum entre grupos em cada treino (A,C,E,G) e o número de lipídios específicos comuns entre grupos em cada treino (B, D, F, H).

### 6.3.3. Alterações Metabólicas Agudas – Crônicas ao TC entre Grupos

A Figura 39 traz as comparações entre o número de espécies de lipídios em comum em cada grupo e a quantidade de metabólitos específicos em comum entre as sessões de TC aguda e TCC em cada grupo. Ao observar a Figura 33, já se nota uma diferença na distribuição das classes de lipídios entre as sessões de TC e TCC de cada grupo.

Sabe-se que o exercício físico praticado de maneira aguda e crônica tem diferentes respostas no metabolismo, e isso já foi mostrado extensivamente na literatura, assim como já foi demonstrado diferenças entre as respostas de sedentários e treinados ao exercício, em relação a citocinas e hormônios. Porém, nesse estudo foi realizada a mesma sessão aguda de exercício combinado nos 3 grupos antes de iniciarem o período de TC e na última sessão de treino após 16 semanas. Dessa forma, tem-se a alteração que o treinamento crônico promoveu na resposta metabólica aguda ao TC nos grupos.



**Figura 39.** Diagrama de Venn representando o número de espécies de lipídios em comum entre as sessões agudas de treinamento combinado (TC) e treinamento combinado crônico (TCC) (A, C, E) e o número de lipídios específicos em comum (B, D, F), em cada grupo.

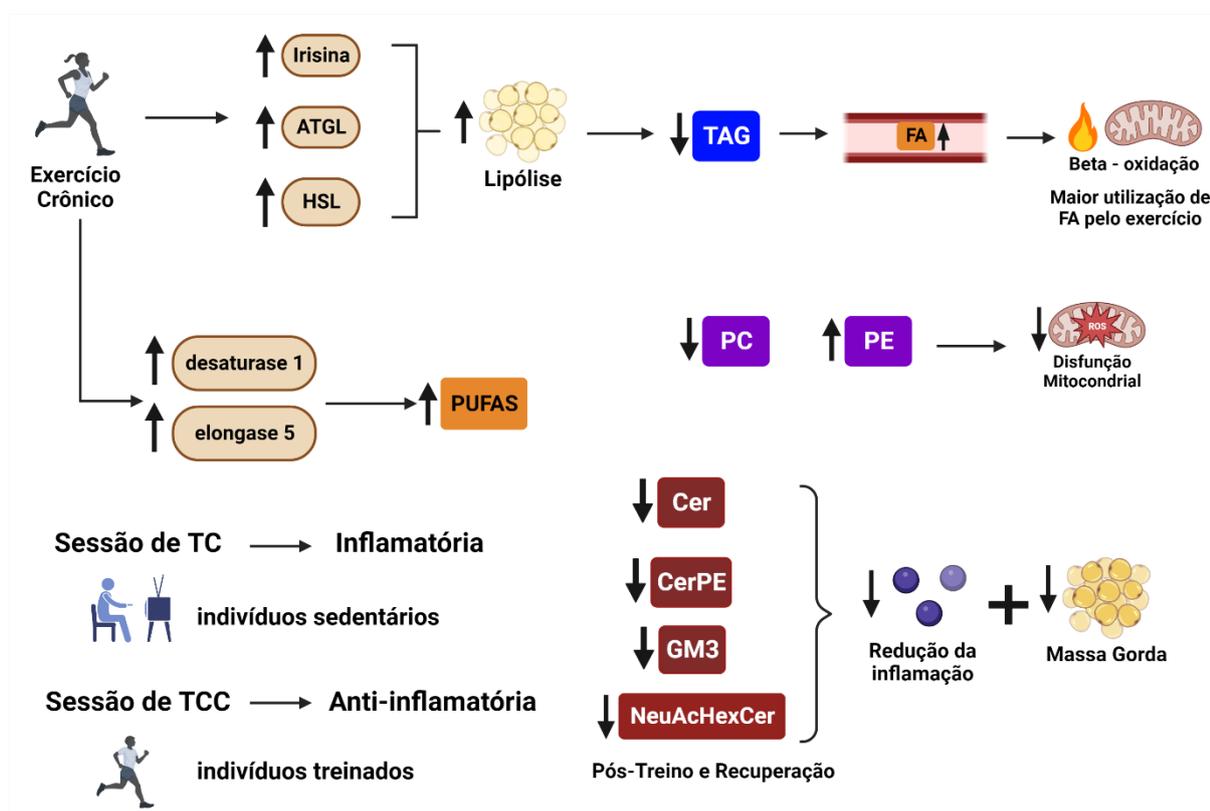
Nos eutróficos, nota-se principalmente uma pequena diminuição na porcentagem de FAs e SPs, e um aumento de GLs, GPs no TCC comparado ao TC (Figura 33). Os obesos apresentaram um aumento significativo de FAs, sendo 9% no TC e 30% no TCC, além de uma redução nos GPs e GLs em comparação ao TC. O grupo DM2 também apresentou um aumento nos FAs de 25% no TC para 40% no TCC. A redução de TAGs pós exercício é consequência do aumento da lipólise, o qual inicia na ATGL e continua com a HSL, após sua fosforilação. A taxa de lipólise é diminuída pela obesidade e dietas ricas em gordura saturadas, porém, o exercício crônico já demonstrou normalizar essa deficiência através da diminuição da fosforilação do HSL, estímulo da atividade das enzimas lipolíticas nos adipócitos de camundongos obesos, contribuição para aumento de ATGL no tecido adiposo humano e expressão de irisina, hormônio que induz a expressão de ATGL e HSL em adipócitos (MIKA, Adriana *et al.*, 2019). Outro efeito do treinamento já mostrado na literatura é um aumento da expressão de enzimas envolvidas no metabolismo de PUFA, FA desaturase 1 e enlongase 5 (ROCHA-RODRIGUES *et al.*, 2017). Essas informações corroboram com os achados que mostram que no TC havia um grande número de TAGs, porém poucos FAs, já após período crônico de TC, houve uma melhora na lipólise, reduzindo os TAGs e aumentando a quantidade de FAs mobilizados, principalmente poli-insaturados de cadeias longas.

Observando as diferenças entre os GPs do grupo obeso, todos os PCs que apareceram no TC, sumiram no TCC, e no lugar apareceram 2 espécies de PE. O aumento de PE, como anteriormente discutido, tem um papel antioxidante, contribuindo para a melhora da disfunção mitocondrial (PARK; KIM; PARK, 2021), o que é um efeito positivo que o treinamento crônico tem no organismo. Entre os SPs, diferentemente do TC, o TCC não apresentou mobilização de gangliosídeos GM3 e nem de Hex3Cer, porém houve um aumento de espécies de Cer e CerPE. Interessantemente, ao invés de aumentar as intensidades após a sessão e durante a recuperação, as Cers e CerPEs diminuíram as intensidades. Parece que o efeito crônico do exercício em reduzir as ceramidas, através da redução da inflamação e redução da massa gorda, influencia também na resposta aguda-crônica, e os indivíduos passam a ter uma resposta mais anti-inflamatória ao realizar uma sessão aguda de exercício de intensidade moderada.

O grupo DM2 foi o que apresentou menos espécies de lipídios em comum entre as sessões de TC e TCC (Figura 37E e 36F). Principalmente, não houveram espécies de TAGs, apenas DAGs e FAs, mostrando assim como no grupo obeso uma possível melhora na lipólise, quebrando esses TAGs e aumentando a concentração de DAGs e FAs. Porém, assim como na sessão de TC aguda, a sessão de TCC também promoveu um aumento da intensidade de Cers e CerPEs. O gangliosídeo NeuAcHexCer reduziu a intensidade no

momento pós e 60 min em comparação ao momento pré, demonstrando um possível efeito anti-inflamatório promovido pelo treinamento nessa população.

Em geral, podemos dizer que o efeito metabólico causado pela sessão aguda de TC realizada por indivíduos sedentários foi diferente do efeito agudo-crônico, quando esses mesmos indivíduos foram treinados. E interessante, foi possível observar que alguns efeitos inflamatórios (relacionados às espécies de lipídios mobilizadas) vistos nas sessões de TC quando os indivíduos eram sedentários foram contrários na sessão aguda-crônica, mostrando um efeito anti-inflamatório, evidenciando a importância da prática regular de exercício físico, mesmo que não haja alteração da dieta. A Figura 40 traz um resumo das principais alterações crônicas que o exercício pode promover no metabolismo, e seu impacto metabólico na sessão aguda crônica de TC.



**Figura 40.** Resumo das alterações metabólicas promovidas pelo exercício crônico e seu impacto na sessão aguda crônica de treinamento combinado (TCC). Criada utilizando o *BioRender*.

Em resumo, as sessões agudas apresentaram diferentes respostas entre treinos e grupos, porém, entre os principais achados, vimos em eutróficos um aumento pós sessão de TA nas espécies lipídicas relacionadas à inflamação, como Cers, gangliosídeos, SMs, mas também um aumento de LPC e LPE. Já a sessão de TF, ao contrário da literatura que mostra

um efeito inflamatório em sessões agudas de TF de alta intensidade, a sessão de intensidade moderada reduziu espécies de Hex(2)-HexNAc-Cer, relacionadas à inflamação e aumentou Hex2Cer, mostrando um efeito anti-inflamatório. Já o TC teve aumento de Hex(2)-HexNAc-Cer, Cers e SM, mostrando ser mais inflamatório ao metabolismo. Os obesos apresentaram aumento de CL pós sessão de TA e TF, relacionado ao aumento da atividade da fosforilação na cadeia transportadora de elétrons para a síntese de ATP. Todavia, também aumentaram intensidades de SPs relacionados à inflamação, como GM3, Cers e CerPE, mas depois reduziram na recuperação, além de um aumento de TAGs poli-insaturados no TF e TC. Os DM2 também apresentaram aumento de LPC e LPE, além de PCs de cadeias longas e poli-insaturadas. Espécies de Cer, CerPE, HexCer também aumentaram no TA. Já no TF, espécies de DAGs e TAGs reduzem sua intensidade, porém Cers aumentaram. O TC apresentou um aumento expressivo de Cers, CerPE, GM3, HexCer e SM, ao contrário do TA e TF nesse grupo. Porém também houve um aumento de PE e CL, mostrando uma melhora na atividade mitocondrial. Também foram observadas diferentes respostas entre os grupos para a mesma sessão de treino, comprovando que indivíduos com doenças crônicas, possuem uma alteração de suas respostas metabólicas ao exercício. Além disso, as sessões agudas de TC e agudas crônicas (TCC) apresentaram diferenças nas espécies lipídicas mobilizadas, como redução de GM3, Hex3Cer, Cers, CerPE no TCC, comparado ao TC, confirmando que os efeitos crônicos do treinamento físico no metabolismo podem alterar a resposta aguda a uma sessão de exercício.

#### **6.4. Perspectivas Futuras**

Para expandir ainda mais o conhecimento acerca do metabolismo no exercício físico, estudos futuros podem focar nessas classes de metabólitos alteradas, fazendo experimentos de metabolômica e ou *target*, variando volume, intensidade e tipos de protocolos de treino em diferentes populações com e sem comorbidades. Paralelamente, adicionar a utilização de métodos de separação para ter mais informações analíticas sobre as espécies moleculares desses lipídios, enriquecendo a identificação. Desse modo, esses marcadores encontrados poderão ser utilizados como alvos em novas terapias contra doenças crônicas em um futuro próximo, além de aprimorar as recomendações para prescrições mais assertivas e personalizadas de exercícios físicos visando a melhoria da saúde da população.

#### **6.5. Limitações**

Esse estudo possui algumas limitações, sendo a primeira delas em relação à seleção da amostra. O grupo eutrófico não era tão saudável quanto esperávamos, uma vez

que apesar de magros, possuíam alto percentual de gordura e exames clínicos no limite da normalidade, o que pode ter gerado algumas respostas metabólicas não esperadas para eutróficos. Isso ocorreu pela seleção dos grupos ter sido realizada baseada no IMC e não no percentual de gordura. Um segundo ponto foi a avaliação alimentar, a qual poderia ter sido melhor aplicada durante o estudo. Apesar de não ter ocorrido diferenças entre os momentos pré e pós controle e treino, o número de recordatórios alimentares avaliados foi pequeno, em relação ao número de voluntários, devido ao mau preenchimento (mesmo com o auxílio de um manual e explicações prévias). Como não havia um nutricionista envolvido durante o projeto, foi difícil identificar esses erros a tempo de corrigir.

Em relação à lipidômica, o preparo de amostra apenas com precipitação em metanol pode ter sido uma limitação para o foco em lipídios, pois seria mais adequado a extração com solventes orgânicos. Assim como a aquisição dos dados apenas no modo positivo, devido à quantidade de amostras e o tempo de utilização do equipamento no laboratório parceiro, pode ter levado a não detecção de algumas classes de lipídios. Não foram inseridas amostras de controle de qualidade (QC) durante o a aquisição dos dados, não sendo possível avaliar variações instrumentais. E por fim, a realização das análises por infusão direta, sem o acoplamento de um método de separação, não possibilitou uma anotação com maior confiabilidade dos lipídios.

## 7. CONCLUSÃO

O TC alterou o metabolismo dos 3 grupos, principalmente reduzindo espécies saturadas e monoinsaturadas de esfingolipídios, ácidos graxos, glicerolipídios e esteróis. Houve um aumento de glicerofosfolipídios associados ao aumento da aptidão cardiorrespiratória, sensibilidade à insulina, redução da inflamação e diminuição da disfunção mitocondrial. Essas mudanças observadas estão associadas aos benefícios à saúde promovidos pelo TC, como redução da massa gorda, glicemia de jejum, insulina, RI, colesterol e aumento da sensibilidade à insulina, massa magra, força e  $VO_2$ máx, os quais são essenciais para reduzir o risco de DCNTs.

As sessões agudas de TA, TF e TC apresentaram alterações nas espécies de esfingolipídios (Cer, CerPE, SM, GM3), glicerofosfolipídios (TAG, DAG), ácidos graxos e glicerofosfolipídios (PC, PE, LPC, LPE, CL). Os grupos eutrófico e DM2 apresentaram efeitos metabólicos combinados das sessões de TA e TF na sessão de TC, enquanto o grupo obeso apresentou resultados concorrentes entre as sessões. Além disso, as sessões agudas de TC e agudas crônicas (TCC) apresentaram diferenças nas espécies lipídicas mobilizadas (Cer,

CerPE, GM3, NeuAcHexCer, PC, PE, TAG e PUFAs) confirmando que os efeitos crônicos do treinamento físico no metabolismo podem alterar a resposta aguda a uma sessão de exercício.

Esse estudo trouxe diversos achados relacionados ao metabolismo lipídico que contribuem para um melhor entendimento dos mecanismos pelos quais o exercício é um excelente tratamento não farmacológico para DCNTs, onde ele exerce um efeito anti-inflamatório, melhorando a disfunção mitocondrial, a sensibilidade à insulina, e prevenindo RI, DM2 e doenças cardiovasculares, mesmo sem intervenção de dieta.

## Referências Bibliográficas

ADAMS, John M.; PRATIPANAWATR, Thongchai; BERRIA, Rachele; WANG, Elaine; DEFRONZO, Ralph A.; SULLARDS, M. Cameron; MANDARINO, Lawrence J. Ceramide Content Is Increased in Skeletal Muscle From Obese Insulin-Resistant Humans. **Diabetes**, vol. 53, no. 1, 2003. Available at: <http://diabetes.diabetesjournals.org/content/53/1/25.long#ref-22>. Accessed on: 25 Apr. 2017.

ADEVA-ANDANY, María M.; CARNEIRO-FREIRE, Natalia; SECO-FILGUEIRA, Mónica; FERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, Carlos; MOURIÑO-BAYOLO, David. Mitochondrial  $\beta$ -oxidation of saturated fatty acids in humans. **Mitochondrion**, vol. 46, p. 73–90, 1 May 2019. <https://doi.org/10.1016/J.MITO.2018.02.009>.

AGUIAR, Elroy J.; MORGAN, Philip J.; COLLINS, Clare E.; PLOTNIKOFF, Ronald C.; CALLISTER, Robin. Efficacy of interventions that include diet, aerobic and resistance training components for type 2 diabetes prevention: A systematic review with meta-analysis. **International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity**, vol. 11, no. 1, p. 1–10, 15 Jan. 2014. DOI 10.1186/1479-5868-11-2/FIGURES/3. Available at: <https://link.springer.com/articles/10.1186/1479-5868-11-2>. Accessed on: 2 Jan. 2023.

AL-SULAITI, Haya; DIBOUN, Ilhame; BANU, Sameem; AL-EMADI, Mohamed; AMANI, Parvaneh; HARVEY, Thomas M; DÖMLING, Alex S; LATIFF, Aishah; ELRAYESS, Mohamed A. Triglyceride profiling in adipose tissues from obese insulin sensitive, insulin resistant and type 2 diabetes mellitus individuals. **J Transl Med**, vol. 16, p. 175, 2018. DOI 10.1186/s12967-018-1548-x. Available at: <https://doi.org/10.1186/s12967-018-1548-x>. Accessed on: 28 Oct. 2021.

ARNER, Peter. Human fat cell lipolysis: Biochemistry, regulation and clinical role. **Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism**, vol. 19, no. 4, p. 471–482, 1 Dec. 2005. <https://doi.org/10.1016/J.BEEM.2005.07.004>.

BAECKE, J A; BUREMA, J; FRIJTERS, J E. A short questionnaire for the measurement of habitual physical activity in epidemiological studies. **The American journal of clinical nutrition**, vol. 36, no. 5, p. 936–42, Nov. 1982. Available at: <http://ajcn.nutrition.org/content/36/5/936.short>.

BARANOWSKI, M.; CHARMAS, M.; DŁUGOŁĘCKA, B.; GÓRSKI, J. Exercise increases plasma levels of sphingoid base-1 phosphates in humans. **Acta physiologica (Oxford, England)**, vol. 203, no. 3, p. 373–380, Nov. 2011. DOI 10.1111/J.1748-1716.2011.02322.X. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21535416/>. Accessed on: 15 Sep. 2022.

BARANOWSKI, Marcin; BŁACHNIO-ZABIELSKA, Agnieszka U.; CHARMAS, Małgorzata; HELGE, Jørn W.; DELA, Flemming; KSIAŻEK, Monika; DŁUGOŁĘCKA, Barbara; KLUSIEWICZ, Andrzej; CHABOWSKI, Adrian; GÓRSKI, Jan. Exercise increases sphingoid base-1-phosphate levels in human blood and skeletal muscle in a time- and intensity-dependent manner. **European Journal of Applied Physiology**, vol. 115, no. 5, p. 993, 1 May 2015. DOI 10.1007/S00421-014-3080-X. Available at: </pmc/articles/PMC4412691/>. Accessed on: 15 Sep. 2022.

BARBOSA, Antonio Daniel; SAVAGE, David B.; SINIOSSOGLU, Symeon. Lipid droplet–organelle interactions: emerging roles in lipid metabolism. **Current Opinion in Cell Biology**, vol. 35, p. 91–97, 1 Aug. 2015. <https://doi.org/10.1016/J.CEB.2015.04.017>.

BAUMAN, Adrian; AINSWORTH, Barbara E.; SALLIS, James F.; HAGSTRÖMER, Maria; CRAIG, Cora L.; BULL, Fiona C.; PRATT, Michael; VENUGOPAL, Kamalesh; CHAU, Josephine; SJÖSTRÖM, Michael. The Descriptive Epidemiology of Sitting. **American Journal of Preventive Medicine**, vol. 41, no. 2, p. 228–235, Aug. 2011. DOI 10.1016/j.amepre.2011.05.003. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.amepre.2011.05.003>.

BERGAMINI, Ettore; BIZZARRI, R.; CAVALLINI, G.; CERBAI, B.; CHIellini, E.; DONATI, A.; GORI, Z.; MANFRINI, A.; PARENTINI, I.; SIGNORIA, F.; TAMBURINI, I. Ageing and oxidative stress: A role for dolichol in the antioxidant machinery of cell membranes? **Journal of Alzheimer's Disease**, vol. 6, no. 2, p. 129–135, 1 Jan. 2004. <https://doi.org/10.3233/JAD-2004-6204>.

BERGMAN, Bryan C.; BROZINICK, Joseph T.; STRAUSS, Allison; BACON, Samantha; KEREGE, Anna; BUI, Hai Hoang; SANDERS, Phil; SIDDALL, Parker; KUO, Ming Shang; PERREAULT, Leigh. Serum sphingolipids: relationships to insulin sensitivity and changes with exercise in humans. **American Journal of Physiology-Endocrinology and Metabolism**, vol. 309, no. 4, p. E398–E408, 15 Aug. 2015. DOI 10.1152/ajpendo.00134.2015. Available at: <https://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpendo.00134.2015>. Accessed on: 30 Sep. 2020.

BERTON, Ricardo; CONCEIÇÃO, Miguel S.; LIBARDI, Cleiton A.; CANEVAROLO, Rafael R.; GÁSPARI, Arthur F.; CHACON-MIKAHIL, Mara Patrícia T.; ZERI, Ana C.; CAVAGLIERI, Cláudia R. Metabolic time-course response after resistance exercise: A metabolomics approach. **Journal of Sports Sciences**, vol. 35, no. 12, p. 1211–1218, 18 Jun. 2017. DOI 10.1080/02640414.2016.1218035. Available at: <https://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/02640414.2016.1218035>.

BLÜHER, Matthias. Obesity: global epidemiology and pathogenesis. **Nature Reviews Endocrinology**, vol. 15, no. 5, p. 288–298, 1 May 2019. DOI 10.1038/s41574-019-0176-8. Available at: [www.nature.com/nrendo](http://www.nature.com/nrendo). Accessed on: 28 Jan. 2021.

BONEN, Arend; MISKOVIC, Dragana; KIENS, Bente. Fatty acid transporters (FABPpm, FAT, FATP) in human muscle. **Canadian journal of applied physiology = Revue canadienne de physiologie appliquée**, vol. 24, no. 6, p. 515–523, 1999. DOI 10.1139/H99-033. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/10638339/>. Accessed on: 14 Jan. 2022.

BONFANTE, Ivan Luiz Padilha; CHACON-MIKAHIL, Mara Patrícia Traina; BRUNELLI, Diego Trevisan; GÁSPARI, Arthur Fernandes; DUFT, Renata Garbellini; LOPES, Wendell Arhur; BONGANHA, Valéria; LIBARDI, Cleiton Augusto; CAVAGLIERI, Cláudia Regina. Combined training, FNDC5/irisin levels and metabolic markers in obese men: A randomised controlled trial. **European Journal of Sport Science**, vol. 17, no. 5, p. 629–637, 13 Mar. 2017. DOI 10.1080/17461391.2017.1296025. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/28287024%0Ahttps://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/17461391.2017.1296025>.

BROWN, Lee E.; WEIR, Joseph P. ASEP procedures recommendation I: Accurate assessment of muscular strength and power. **Journal of Exercise Physiology Online**, vol. 4, no. 3, p. 1–21, 2001. Available at: <http://web.a.ebscohost.com.ez15.periodicos.capes.gov.br>.

BROWN, William M.C.; DAVISON, Gareth W.; MCCLEAN, Conor M.; MURPHY, Marie H. A Systematic Review of the Acute Effects of Exercise on Immune and Inflammatory Indices in Untrained Adults. **Sports Medicine - Open**, vol. 1, no. 1, p. 1–10, 1 Dec. 2015. DOI 10.1186/S40798-015-0032-X/FIGURES/2. Available at: <https://sportsmedicine-open.springeropen.com/articles/10.1186/s40798-015-0032-x>. Accessed on: 9 Sep. 2022.

BRUCE, R A; BLACKMON, J R; JONES, J W; STRAIT, G. EXERCISING TESTING IN ADULT NORMAL SUBJECTS AND CARDIAC PATIENTS. **Pediatrics**, vol. 32, p. SUPPL 742-56, Oct. 1963. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/14070531/>. Accessed on: 13 Jan. 2022.

BRUNELLI, DIEGO T.; CHACON-MIKAHIL, MARA PATRÍCIA T.; GÁSPARI, ARTHUR F.; LOPES, WENDELL ARTHUR; BONGANHA, VALÉRIA; BONFANTE, IVAN LUIZ P.; BELLOTTO, MARIA LUISA; LIBARDI, CLEITON AUGUSTO; CAVAGLIERI, CLÁUDIA REGINA. Combined Training Reduces Subclinical Inflammation in Obese Middle-Age Men. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, vol. 47, no. 10, p. 2207–2215, Oct. 2015. DOI 10.1249/MSS.0000000000000658. Available at: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00005768-201510000-00024>.

BULL, Fiona C.; AL-ANSARI, Salih S.; BIDDLE, Stuart; BORODULIN, Katja; BUMAN, Matthew P.; CARDON, Greet; CARTY, Catherine; CHAPUT, Jean Philippe; CHASTIN, Sebastien; CHOU, Roger; DEMPSEY, Paddy C.; DIPIETRO, Loretta; EKELUND, Ulf; FIRTH, Joseph; FRIEDENREICH, Christine M.; GARCIA, Leandro; GICHU, Muthoni; JAGO, Russell; KATZMARZYK, Peter T.; ... WILLUMSEN, Juana F. World Health Organization 2020 guidelines on physical activity and sedentary behaviour. **British Journal of Sports Medicine**, vol. 54, no. 24, p. 1451–1462, 1 Dec. 2020. DOI 10.1136/BJSPTS-2020-102955. Available at: <https://bjsm.bmj.com/content/54/24/1451>. Accessed on: 12 Jan. 2022.

CAMERON, Amy R.; MORRISON, Vicky L.; LEVIN, Daniel; MOHAN, Mohapradeep; FORTEATH, Calum; BEALL, Craig; MCNEILLY, Alison D.; BALFOUR, David J.K.; SAVINKO, Terhi; WONG, Aaron K.F.; VIOLLET, Benoit; SAKAMOTO, Kei; FAGERHOLM, Susanna C.; FORETZ, Marc; LANG, Chim C.; RENA, Graham. Anti-Inflammatory Effects of Metformin Irrespective of Diabetes Status. **Circulation Research**, vol. 119, no. 5, p. 652–665, 19 Aug. 2016. DOI 10.1161/CIRCRESAHA.116.308445/-DC1. Available at: <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/CIRCRESAHA.116.308445>. Accessed on: 4 Oct. 2022.

CAO, Haiming; GERHOLD, Kristin; MAYERS, Jared R.; WIEST, Michelle M.; WATKINS, Steven M.; HOTAMISLIGIL, Gökhan S. Identification of a Lipokine, a Lipid Hormone Linking Adipose Tissue to Systemic Metabolism. **Cell**, vol. 134, no. 6, p. 933–944, 19 Sep. 2008. DOI 10.1016/j.cell.2008.07.048.

Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18805087>. Accessed on: 25 Apr. 2017.

CARRARD, Justin; GALLART-AYALA, Hector; WEBER, Nadia; COLLEDGE, Flora; STREESE, Lukas; HANSEN, Henner; SCHMIED, Christian; IVANISEVIC, Julijana; SCHMIDT-TRUCKSÄSS, Arno. How Ceramides Orchestrate Cardiometabolic Health—An Ode to Physically Active Living. **Metabolites** **2021**, Vol. 11, Page 675, vol. 11, no. 10, p. 675, 30 Sep. 2021. DOI 10.3390/METABO11100675. Available at: <https://www.mdpi.com/2218-1989/11/10/675/htm>. Accessed on: 2 May 2022.

CARRARD, Justin; GUERINI, Chiara; APPENZELLER-HERZOG, Christian; INFANGER, Denis; KÖNIGSTEIN, Karsten; STREESE, Lukas; HINRICHS, Timo; HANSEN, Henner; GALLART-AYALA, Hector; IVANISEVIC, Julijana; SCHMIDT-TRUCKSÄSS, Arno. The Metabolic Signature of Cardiorespiratory Fitness: A Systematic Review. **Sports Medicine** **2021** **52:3**, vol. 52, no. 3, p. 527–546, 10 Nov. 2021. DOI 10.1007/S40279-021-01590-Y. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s40279-021-01590-y>. Accessed on: 7 Sep. 2022.

CARTEE, Gregory D. Mechanisms for greater insulin-stimulated glucose uptake in normal and insulin-resistant skeletal muscle after acute exercise. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, vol. 309, no. 12, p. E949–E959, 15 Dec. 2015. DOI 10.1152/AJPENDO.00416.2015/ASSET/IMAGES/LARGE/ZH10241574820004.JPEG. Available at: <https://journals.physiology.org/doi/10.1152/ajpendo.00416.2015>. Accessed on: 17 Sep. 2022.

CAVALCANTE, Paula Andréa Malveira; GREGNANI, Marcos Fernandes; HENRIQUE, Jessica Salles; ORNELLAS, Fábio Henrique; ARAÚJO, Ronaldo Carvalho. Aerobic but not Resistance Exercise Can Induce Inflammatory Pathways via Toll-Like 2 and 4: a Systematic Review. **Sports Medicine - Open**, vol. 3, no. 1, 2017. <https://doi.org/10.1186/s40798-017-0111-2>.

CHANG, Wenguang; HATCH, Grant M.; WANG, Yu; YU, Fei; WANG, Man. The relationship between phospholipids and insulin resistance: From clinical to experimental studies. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, vol. 23, no. 2, p. 702–710, 1 Feb. 2019. DOI 10.1111/JCMM.13984. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/jcmm.13984>. Accessed on: 9 Sep. 2022.

CHATTERJEE, Subroto; BALRAM, Amrita; LI, Wendy. Convergence: Lactosylceramide-Centric Signaling Pathways Induce Inflammation, Oxidative Stress, and Other Phenotypic Outcomes. **International journal of molecular sciences**, vol. 22, no. 4, p. 1–25, 2 Feb. 2021. DOI 10.3390/IJMS22041816. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33673027/>. Accessed on: 12 Sep. 2022.

CHAUASIA, Bhagirath; SUMMERS, Scott A. Ceramides - Lipotoxic Inducers of Metabolic Disorders. **Trends in Endocrinology and Metabolism**, vol. 26, no. 10, p. 538–550, 1 Oct. 2015. <https://doi.org/10.1016/J.TEM.2015.07.006>.

CHÁVEZ-TALAVERA, Oscar; TAILLEUX, Anne; LEFEBVRE, Philippe; STAELS, Bart. Bile Acid Control of Metabolism and Inflammation in Obesity, Type 2 Diabetes, Dyslipidemia, and Nonalcoholic Fatty Liver Disease. **Gastroenterology**, vol. 152, no. 7, p. 1679-1694.e3, 1 May 2017. <https://doi.org/10.1053/J.GASTRO.2017.01.055>.

CHEW, Wee Siong; TORTA, Federico; JI, Shanshan; CHOI, Hyungwon; BEGUM, Husna; SIM, Xueling; KHOO, Chin Meng; KHOO, Eric Yin Hao; ONG, Wei Yi; VAN DAM, Rob M.; WENK, Markus R.; SHYONG TAI, E.; HERR, Deron R. Large-scale lipidomics identifies associations between plasma sphingolipids and T2DM incidence. **JCI Insight**, vol. 4, no. 13, 11 Jul. 2019. DOI 10.1172/JCI.INSIGHT.126925. Available at: <https://pmc/articles/PMC6629294/>. Accessed on: 8 May 2022.

CHOE, Sung Sik; HUH, Jin Young; HWANG, In Jae; KIM, Jong In; KIM, Jae Bum. Adipose tissue remodeling: Its role in energy metabolism and metabolic disorders. **Frontiers in Endocrinology**, vol. 7, no. APR, p. 30, 13 Apr. 2016. <https://doi.org/10.3389/FENDO.2016.00030/BIBTEX>.

CHOOI, Yu Chung; DING, Cheryl; MAGKOS, Faidon. The epidemiology of obesity. **Metabolism**, vol. 92, p. 6–10, 1 Mar. 2019. <https://doi.org/10.1016/J.METABOL.2018.09.005>.

CHURCH, Tim. Exercise in Obesity, Metabolic Syndrome, and Diabetes. **Progress in Cardiovascular Diseases**, vol. 53, no. 6, p. 412–418, 1 May 2011. <https://doi.org/10.1016/J.PCAD.2011.03.013>.

CHURCH, Timothy S.; BLAIR, Steven N.; COCREHAM, Shannon; JOHANNSEN, Neil; JOHNSON, William; KRAMER, Kimberly; MIKUS, Catherine R.; MYERS, Valerie; NAUTA, Melissa; RODARTE, Ruben Q.; SPARKS, Lauren; THOMPSON, Angela; EARNEST, Conrad P. Effects of Aerobic and Resistance Training on Hemoglobin A<sub>1c</sub> Levels in Patients With Type 2 Diabetes. **JAMA**, vol. 304, no. 20, p. 2253, 24 Nov. 2010. DOI 10.1001/jama.2010.1710. Available at:

<http://jama.jamanetwork.com/article.aspx?doi=10.1001/jama.2010.1710>. Accessed on: 23 Apr. 2017.

COLBERG, Sheri R.; SIGAL, Ronald J.; YARDLEY, Jane E.; RIDDELL, Michael C.; DUNSTAN, David W.; DEMPSEY, Paddy C.; HORTON, Edward S.; CASTORINO, Kristin; TATE, Deborah F. Physical Activity/Exercise and Diabetes: A Position Statement of the American Diabetes Association. **Diabetes Care**, vol. 39, no. 11, p. 2065–2079, 25 Nov. 2016. DOI 10.2337/dc16-1728. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/27926890>. Accessed on: 8 Feb. 2019.

COLBERG, Sheri R; ALBRIGHT, Ann L; BLISSMER, Bryan J; BRAUN, Barry; CHASAN-TABER, Lisa; FERNHALL, Bo; REGENSTEINER, Judith G; RUBIN, Richard R; SIGAL, Ronald J; AMERICAN COLLEGE OF SPORTS MEDICINE; AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Exercise and type 2 diabetes: American College of Sports Medicine and the American Diabetes Association: joint position statement. Exercise and type 2 diabetes. **Medicine and science in sports and exercise**, vol. 42, no. 12, p. 2282–303, Dec. 2010. DOI 10.1249/MSS.0b013e3181eeb61c. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21084931>. Accessed on: 8 Oct. 2016.

CONTREPOIS, Kévin; MAHMOUDI, Salah; UBHI, Baljit K.; PAPSDORF, Katharina; HORNBERG, Daniel; BRUNET, Anne; SNYDER, Michael. Cross-Platform Comparison of Untargeted and Targeted Lipidomics Approaches on Aging Mouse Plasma. **Scientific Reports**, vol. 8, no. 1, p. 1–9, 2018. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-35807-4>.

CONTREPOIS, Kévin; WU, Si; MONEGHETTI, Kegan J.; HORNBERG, Daniel; AHADI, Sara; TSAI, Ming Shian; METWALLY, Ahmed A.; WEI, Eric; LEE-MCMULLEN, Brittany; QUIJADA, Jeniffer V.; CHEN, Songjie; CHRISTLE, Jeffrey W.; ELLENBERGER, Mathew; BALLIU, Brunilda; TAYLOR, Shalina; DURRANT, Matthew G.; KNOWLES, David A.; CHOUDHRY, Hani; ASHLAND, Melanie; ... SNYDER, Michael P. Molecular Choreography of Acute Exercise. **Cell**, vol. 181, no. 5, p. 1112–1130.e16, 28 May 2020. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2020.04.043>.

DÂMASO, Ana Raimunda; CAMPOS, Raquel Munhoz Da Silveira; CARANTI, Danielle Arisa; DE PIANO, Aline; FISBERG, Mauro; FOSCHINI, Denis; SANCHES, Priscila De Lima; TOCK, Lian; LEDERMAN, Henrique Manoel; TUFIK, Sergio; DE MELLO, Marco Túlio. Aerobic plus resistance training was more effective in improving the visceral adiposity, metabolic profile and inflammatory markers than aerobic training in obese adolescents. **Journal of sports sciences**, vol. 32, no. June, p. 1–11, 2014. DOI 10.1080/02640414.2014.900692. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24730354>.

DANAHER, Jessica; GERBER, Tracey; WELLARD, R. Mark; STATHIS, Christos G.; COOKE, Matthew B. The use of metabolomics to monitor simultaneous changes in metabolic variables following supramaximal low volume high intensity exercise. **Metabolomics**, vol. 12, no. 1, p. 1–13, 2016. <https://doi.org/10.1007/s11306-015-0883-7>.

DING, Ding; LAWSON, Kenny D.; KOLBE-ALEXANDER, Tracy L.; FINKELSTEIN, Eric A.; KATZMARZYK, Peter T.; VAN MECHELEN, Willem; PRATT, Michael. The economic burden of physical inactivity: a global analysis of major non-communicable diseases. **The Lancet**, vol. 388, no. 10051, p. 1311–1324, 2016. DOI 10.1016/S0140-6736(16)30383-X. Available at: [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)30383-X](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(16)30383-X).

DUDEK, Jan. Role of cardiolipin in mitochondrial signaling pathways. **Frontiers in Cell and Developmental Biology**, vol. 5, no. SEP, p. 1–17, 2017. <https://doi.org/10.3389/fcell.2017.00090>.

DUFT, R.G.; CASTRO, A.; BONFANTE, I.L.P.; LOPES, W.A.; DA SILVA, L.R.; CHACON-MIKAHIL, M.P.T.; LEITE, N.; CAVAGLIERI, C.R. Altered metabolomic profiling of overweight and obese adolescents after combined training is associated with reduced insulin resistance. **Scientific Reports**, vol. 10, no. 1, 2020. <https://doi.org/10.1038/s41598-020-73943-y>.

DUFT, Renata G.; CASTRO, Alex; BONFANTE, Ivan L.P.; BRUNELLI, Diego T.; CHACON-MIKAHIL, Mara P.T.; CAVAGLIERI, Cláudia R. Metabolomics Approach in the Investigation of Metabolic Changes in Obese Men after 24 Weeks of Combined Training. **Journal of Proteome Research**, vol. 16, no. 6, p. 2151–2159, 2 Jun. 2017. DOI 10.1021/acs.jproteome.6b00967. Available at: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jproteome.6b00967>.

EL-HAFIDI, Mohammed; CORREA, Francisco; ZAZUETA, Cecilia. Mitochondrial dysfunction in metabolic and cardiovascular diseases associated with cardiolipin remodeling. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease**, vol. 1866, no. 6, 2020. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2020.165744>.

ELDRIDGE, Alison L; PIERNAS, Carmen; ILLNER, Anne-Kathrin; GIBNEY, Michael J; GURINOVIĆ, Mirjana A; DE VRIES, Jeanne H M; CADE, Janet E. Evaluation of New Technology-Based Tools for Dietary Intake Assessment—An ILSI Europe Dietary Intake and Exposure Task Force Evaluation. **Nutrients**, vol. 11, no. 1, 2019. DOI 10.3390/nu11010055. Available at: <https://www.mdpi.com/2072-6643/11/1/55>.

FARINATTI, Paulo; CASTINHEIRAS, Antonio G; †2, Neto; AMORIM, Paulo R S. Oxygen Consumption and Substrate Utilization During and After Resistance Exercises Performed with Different Muscle Mass. **International Journal of Exercise Science**, vol. 9, no. 1, p. 77, 2016. Available at: </pmc/articles/PMC4882463/>. Accessed on: 12 Sep. 2022.

FELDER, Thomas K.; RING-DIMITRIOU, Susanne; AUER, Simon; SOYAL, Selma M.; KEDENKO, Ludmilla; RINNERHALER, Mark; CADAMURO, Janne; HASCHKE-BECHER, Elisabeth; AIGNER, Elmar; PAULWEBER, Bernhard; PATSCH, Wolfgang. Specific circulating phospholipids, acylcarnitines, amino acids and biogenic amines are aerobic exercise markers. **Journal of Science and Medicine in Sport**, vol. 20, no. 7, p. 700–705, 1 Jul. 2017. <https://doi.org/10.1016/J.JSAMS.2016.11.011>.

FENG, Jia; LU, Shiyin; OU, Biqian; LIU, Qian; DAI, Jiaxin; JI, Chunyan; ZHOU, Haiqing; HUANG, Hongke; MA, Yi. The Role of JNK Signaling Pathway in Obesity-Driven Insulin Resistance. **Diabetes, Metabolic Syndrome and Obesity: Targets and Therapy**, vol. 13, p. 1399, 2020. DOI 10.2147/DMSO.S236127. Available at: </pmc/articles/PMC7196768/>. Accessed on: 3 Oct. 2022.

FIEHN, Oliver. Metabolomics - The link between genotypes and phenotypes. **Plant Molecular Biology**, vol. 48, no. 1–2, p. 155–171, 2002. <https://doi.org/10.1023/A:1013713905833>.

FIEHN, Oliver; TIMOTHY GARVEY, W.; NEWMAN, John W.; LOK, Kerry H.; HOPPEL, Charles L.; ADAMS, Sean H. Plasma metabolomic profiles reflective of glucose homeostasis in non-diabetic and type 2 diabetic obese African-American women. **PLoS ONE**, vol. 5, no. 12, p. 1–10, 2010. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0015234>.

FIELD, Bianca C.; GORDILLO, Ruth; SCHERER, Philipp E. The Role of Ceramides in Diabetes and Cardiovascular Disease Regulation of Ceramides by Adipokines. **Frontiers in Endocrinology**, vol. 11, 2 Oct. 2020. DOI 10.3389/FENDO.2020.569250. Available at: </pmc/articles/PMC7564167/>. Accessed on: 28 Oct. 2021.

FIELDS, David A; HIGGINS, Paul B; HUNTER, Gary R. Assessment of body composition by air-displacement plethysmography: influence of body temperature and moisture. **Dynamic medicine : DM**, vol. 3, p. 3, 1 Apr. 2004. DOI 10.1186/1476-5918-3-3. Available at: </pmc/articles/PMC411054/>. Accessed on: 19 Oct. 2021.

FLORES-OPAZO, Marcelo; MCGEE, Sean L.; HARGREAVES, Mark. Exercise and GLUT4. **Exercise and Sport Sciences Reviews**, vol. 48, no. 3, p. 110–118, 1 Jul. 2020. DOI 10.1249/JES.0000000000000224. Available at: [https://journals.lww.com/acsm-essr/Fulltext/2020/07000/Exercise\\_and\\_Glut4.2.aspx](https://journals.lww.com/acsm-essr/Fulltext/2020/07000/Exercise_and_Glut4.2.aspx). Accessed on: 13 Oct. 2022.

FORRESTER, Steven J.; KIKUCHI, Daniel S.; HERNANDES, Marina S.; XU, Qian; GRIENGLING, Kathy K. Reactive oxygen species in metabolic and inflammatory signaling. **Circulation Research**, vol. 122, no. 6, p. 877–902, 1 Mar. 2018. DOI 10.1161/CIRCRESAHA.117.311401/-/DC1. Available at: <https://www.ahajournals.org/doi/abs/10.1161/CIRCRESAHA.117.311401>. Accessed on: 6 Sep. 2022.

FREITAS, Marcelo Conrado; CESCHINI, Fábio Luis; RAMALLO, Bianca Trovello. Resistência à insulina associada à obesidade: Efeitos anti-inflamatórios do exercício físico Insulin resistance associated with obesity: anti-inflammatory effects of physical exercise. **Ci. e Mov**, vol. 22, no. 3, p. 139–147, 2014. Available at: <https://portalrevistas.ucb.br/index.php/RBCM/article/viewFile/4769/3381>. Accessed on: 2 May 2017.

FRYK, Emanuel; OLAUSSON, Josefin; MOSSBERG, Karin; STRINDBERG, Lena; SCHMELZ, Martin; BROGREN, Helén; GAN, Li Ming; PIAZZA, Silvano; PROVENZANI, Alessandro; BECATTINI, Barbara; LIND, Lars; SOLINAS, Giovanni; JANSOON, Per Anders. Hyperinsulinemia and insulin resistance in the obese may develop as part of a homeostatic response to elevated free fatty acids: A mechanistic case-control and a population-based cohort study. **EBioMedicine**, vol. 65, 2021. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2021.103264>.

FUNAI, Katsuhiko; LODHI, Irfan J.; SPEARS, Larry D.; YIN, Li; SONG, Haowei; KLEIN, Samuel; SEMENKOVICH, Clay F. Skeletal Muscle Phospholipid Metabolism Regulates Insulin Sensitivity and Contractile Function. **Diabetes**, vol. 65, no. 2, p. 358–370, 1 Feb. 2016. DOI 10.2337/DB15-0659.

Available at: <https://diabetesjournals.org/diabetes/article/65/2/358/40162/Skeletal-Muscle-Phospholipid-Metabolism-Regulates>. Accessed on: 7 Sep. 2022.

GARBER, Carol Ewing; BLISSMER, Bryan; DESCHENES, Michael R.; FRANKLIN, Barry a.; LAMONTE, Michael J.; LEE, I. Min; NIEMAN, David C.; SWAIN, David P. Quantity and quality of exercise for developing and maintaining cardiorespiratory, musculoskeletal, and neuromotor fitness in apparently healthy adults: Guidance for prescribing exercise. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, vol. 43, no. 7, p. 1334–1359, 2011. <https://doi.org/10.1249/MSS.0b013e318213fefb>.

GELONEZE, B.; REPETTO, E.M.; GELONEZE, S.R.; TAMBASCIA, M.A.; ERMETICE, M.N. The threshold value for insulin resistance (HOMA-IR) in an admixed population. **Diabetes Research and Clinical Practice**, vol. 72, no. 2, p. 219–220, May 2006. DOI 10.1016/j.diabres.2005.10.017. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/16310881/>. Accessed on: 11 Jan. 2021.

GONZALEZ-GIL, Adrian M.; ELIZONDO-MONTEMAYOR, Leticia. The role of exercise in the interplay between myokines, hepatokines, osteokines, adipokines, and modulation of inflammation for energy substrate redistribution and fat mass loss: A review. **Nutrients**, vol. 12, no. 6, p. 1, 2020. <https://doi.org/10.3390/nu12061899>.

GONZÁLEZ-MUNIESA, Pedro; MÁRTINEZ-GONZÁLEZ, Miguel Angel; HU, Frank B.; DESPRÉS, Jean Pierre; MATSUZAWA, Yuji; LOOS, Ruth J.F.; MORENO, Luis A.; BRAY, George A.; MARTINEZ, J. Alfredo. Obesity. **Nature Reviews Disease Primers**, vol. 3, 2017. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2017.34>.

GOTO-INOUE, Naoko; YAMADA, Kenichiro; INAGAKI, Akiko; FURUICHI, Yasuro; OGINO, Shinya; MANABE, Yasuko; SETOU, Mitsutoshi; FUJII, Nobuharu L. Lipidomics analysis revealed the phospholipid compositional changes in muscle by chronic exercise and high-fat diet. **Scientific Reports**, vol. 3, no. 1, p. 1–9, 20 Nov. 2013. DOI 10.1038/srep03267. Available at: [www.nature.com/scientificreports](http://www.nature.com/scientificreports). Accessed on: 24 Nov. 2020.

GRIFFIN, Julian L; NICHOLLS, Andrew W. Metabolomics as a functional genomic tool for understanding lipid dysfunction in diabetes, obesity and related disorders. **Pharmacogenomics**, vol. 7, no. 7, p. 1095–1107, Oct. 2006. DOI 10.2217/14622416.7.7.1095. Available at: <http://www.futuremedicine.com/doi/abs/10.2217/14622416.7.7.1095>.

HALL, Grenita; LADDU, Deepika R.; PHILLIPS, Shane A.; LAVIE, Carl J.; ARENA, Ross. A tale of two pandemics: How will COVID-19 and global trends in physical inactivity and sedentary behavior affect one another? **Progress in Cardiovascular Diseases**, 2020. DOI 10.1016/j.pcad.2020.04.005. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7194897/>. Accessed on: 23 Nov. 2020.

HANNUN, Yusuf A.; OBEID, Lina M. Sphingolipids and their metabolism in physiology and disease. **Nature Reviews Molecular Cell Biology** 2017 19:3, vol. 19, no. 3, p. 175–191, 22 Nov. 2017. DOI 10.1038/nrm.2017.107. Available at: <https://www.nature.com/articles/nrm.2017.107>. Accessed on: 12 Jan. 2022.

HAUS, Jacob M; KASHYAP, Sangeeta R; KASUMOV, Takhar; ZHANG, Renliang; KELLY, Karen R; DEFONZO, Ralph A; KIRWAN, John P. Plasma Ceramides Are Elevated in Obese Subjects With Type 2 Diabetes and Correlate With the Severity of Insulin Resistance. **Diabetes**, vol. 58, no. February, p. 337–343, 2009. <https://doi.org/10.2337/db08-1228>.

HISHIKAWA, Daisuke; HASHIDATE, Tomomi; SHIMIZU, Takao; SHINDOU, Hideo. Diversity and function of membrane glycerophospholipids generated by the remodeling pathway in mammalian cells. **Journal of Lipid Research**, vol. 55, no. 5, p. 799–807, 2014. DOI 10.1194/jlr.R046094. Available at: </pmc/articles/PMC3995458/?report=abstract>. Accessed on: 11 Sep. 2020.

HODSON, Leanne; ROSQVIST, Fredrik; PARRY, Siôn A. The influence of dietary fatty acids on liver fat content and metabolism. **Proceedings of the Nutrition Society**, vol. 79, no. 1, p. 30–41, 2020. DOI 10.1017/S0029665119000569. Available at: <https://www.cambridge.org/core/journals/proceedings-of-the-nutrition-society/article/influence-of-dietary-fatty-acids-on-liver-fat-content-and-metabolism/109843C09CD25C592979E5DFCB0A7251>. Accessed on: 3 Oct. 2022.

HOLČAPEK, Michal; LIEBISCH, Gerhard; EKROOS, Kim. Lipidomic Analysis. **Analytical Chemistry**, vol. 90, no. 7, p. 4249–4257, 3 Apr. 2018. DOI 10.1021/acs.analchem.7b05395. Available at: <http://www.lipidmaps.org/data/structure/index.php>. Accessed on: 25 Aug. 2020.

HOLLAND, William L; MILLER, Russell A; WANG, Zhao V; SUN, Kai; BARTH, Brian M; BUI, Hai H; DAVIS, Kathryn E; BIKMAN, Benjamin T; HALBERG, Niils; RUTKOWSKI, Joseph M; WADE, Mark R; TENORIO, Vincent M; KUO, Ming-Shang; BROZINICK, Joseph T; ZHANG, Bei B; BIRNBAUM, Morris

J; SUMMERS, Scott A; SCHERER, Philipp E. Receptor-mediated activation of ceramidase activity initiates the pleiotropic actions of adiponectin. **Nature medicine**, vol. 17, no. 1, p. 55–63, 2011. DOI 10.1038/nm.2277. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nm.2277>.

HRYZDIUSZKO, Olga; VIANT, Mark R. Missing values in mass spectrometry based metabolomics: an undervalued step in the data processing pipeline. **Metabolomics**, vol. 8, no. S1, p. 161–174, 8 Jun. 2012. DOI 10.1007/s11306-011-0366-4. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s11306-011-0366-4>. Accessed on: 10 Jan. 2022.

INOKUCHI, Jin-ichi; KANO, Hirotaka. Pathophysiological Significance of GM3 Ganglioside Molecular Species With a Particular Attention to the Metabolic Syndrome Focusing on Toll-Like Receptor 4 Binding. **Frontiers in Molecular Biosciences**, vol. 0, p. 583, 30 May 2022. <https://doi.org/10.3389/FMOLB.2022.918346>.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **IDF DIABETES ATLAS Ninth edition**. [S. l.: s. n.], 2019.

JOHNSON, Caroline H; IVANISEVIC, Julijana; SIUZDAK, Gary. Metabolomics: beyond biomarkers and towards mechanisms. **Nature reviews. Molecular cell biology**, vol. 17, no. 7, p. 451–9, 16 Jul. 2016. DOI 10.1038/nrm.2016.25. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nrm.2016.25>.

JP, Karl; LM, Margolis; NE, Murphy; CT, Carrigan; JW, Castellani; EH, Madslie; HK, Teien; S, Martini; SJ, Montain; SM, Pasiakos. Military training elicits marked increases in plasma metabolomic signatures of energy metabolism, lipolysis, fatty acid oxidation, and ketogenesis. **Physiological reports**, vol. 5, no. 17, 12 Sep. 2017. DOI 10.14814/PHY2.13407. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28899914/>. Accessed on: 26 Oct. 2021.

KANO, Hirotaka; NITTA, Takahiro; GO, Shinji; INAMORI, Kei-ichiro; VEILLON, Lucas; NIHEI, Wataru; FUJII, Mayu; KABAYAMA, Kazuya; SHIMOYAMA, Atsushi; FUKASE, Koichi; OHTO, Umeharu; SHIMIZU, Toshiyuki; WATANABE, Taku; SHINDO, Hiroki; AOKI, Sorama; SATO, Kenichi; NAGASAKI, Mika; YATOMI, Yutaka; KOMURA, Naoko; ... INOKUCHI, Jin-ichi. Homeostatic and pathogenic roles of GM 3 ganglioside molecular species in TLR 4 signaling in obesity . **The EMBO Journal**, vol. 39, no. 12, 17 Jun. 2020. <https://doi.org/10.15252/EMBJ.2019101732>.

KEITH N FRAYN. **Metabolic Regulation: A Human Perspective**. Third. Oxford- UK: [s. n.], 2010.

KELLY, Rachel S.; KELLY, Michael P.; KELLY, Paul. Metabolomics, physical activity, exercise and health: A review of the current evidence. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease**, vol. 1866, no. 12, p. 165936, 1 Dec. 2020. <https://doi.org/10.1016/J.BBADIS.2020.165936>.

KNOPFHOLZ, José; DISSEROL, Caio César Diniz; PIERIN, Andressa Jardim; SCHIRR, Fernanda Letícia; STREISKY, Larissa; TAKITO, Lilian Lumi; MASSUCHETO LEDESMA, Patrícia; FARIA-NETO, José Rocha; OLANDOSKI, Marcia; DA CUNHA, Claudio Leinig Pereira; BANDEIRA, Antonio Milton. Validation of the friedewald formula in patients with metabolic syndrome. **Cholesterol**, vol. 2014, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/261878>.

KRUMSIEK, Jan; MITTELSTRASS, Kirstin; DO, Kieu Trinh; STÜCKLER, Ferdinand; RIED, Janina; ADAMSKI, Jerzy; PETERS, Annette; ILLIG, Thomas; KRONENBERG, Florian; FRIEDRICH, Nele; NAUCK, Matthias; PIETZNER, Maik; MOOK-KANAMORI, Dennis O.; SUHRE, Karsten; GIEGER, Christian; GRALLERT, Harald; THEIS, Fabian J; KASTENMÜLLER, Gabi. Gender-specific pathway differences in the human serum metabolome. **Metabolomics**, vol. 11, no. 6, p. 1815–1833, 4 Dec. 2015. DOI 10.1007/s11306-015-0829-0. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s11306-015-0829-0>.

KSIĄŻEK, M.; CHARMAS, M.; KLUSIEWICZ, A.; ZABIELSKI, P.; DŁUGOŁĘCKA, B.; CHABOWSKI, A.; BARANOWSKI, M. Endurance training selectively increases high-density lipoprotein-bound sphingosine-1-phosphate in the plasma. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, vol. 28, no. 1, p. 57–64, 1 Jan. 2018. DOI 10.1111/SMS.12910. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/sms.12910>. Accessed on: 15 Sep. 2022.

LAIR, Benjamin; LAURENS, Claire; VAN DEN BOSCH, Bram; MORO, Cedric. Novel Insights and Mechanisms of Lipotoxicity-Driven Insulin Resistance. **International Journal of Molecular Sciences** **2020, Vol. 21, Page 6358**, vol. 21, no. 17, p. 6358, 2 Sep. 2020. DOI 10.3390/IJMS21176358. Available at: <https://www.mdpi.com/1422-0067/21/17/6358/htm>. Accessed on: 4 Oct. 2022.

LEHMANN, Rainer; ZHAO, Xinjie; WEIGERT, Cora; SIMON, Perikles; FEHRENBACH, Elvira; FRITSCHKE, Jens; MACHANN, Jürgen; SCHICK, Fritz; WANG, Jiangshan; HOENE, Miriam; SCHLEICHER, Erwin D.; HÄRING, Hans Ulrich; XU, Guowang; NIESS, Andreas M. Medium chain acylcarnitines dominate the metabolite pattern in humans under moderate intensity exercise and support

lipid oxidation. **PLoS ONE**, vol. 5, no. 7, p. e11519, 12 Jul. 2010. DOI 10.1371/journal.pone.0011519. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20634953>. Accessed on: 17 Feb. 2020.

LIBARDI, CLEITON AUGUSTO; DE SOUZA, GIOVANA VERGÍNIA; CAVAGLIERI, CLAUDIA REGINA; MADRUGA, VERA APARECIDA; CHACON-MIKAHIL, MARA PATRÍCIA TRAINA. Effect of Resistance, Endurance, and Concurrent Training on TNF- $\alpha$ , IL-6, and CRP. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, vol. 44, no. 1, p. 50–56, Jan. 2012. DOI 10.1249/MSS.0b013e318229d2e9. Available at: <http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00005768-201201000-00007>.

LIBARDI, Cleiton Augusto; SOUZA, Giovana Verginia; GÁSPARI, Arthur Fernandes; DOS SANTOS, Claudinei Ferreira; LEITE, Sabrina Toffoli; DIAS, Rodrigo; FROLLINI, Anelena B; BRUNELLI, Diego Trevisan; CAVAGLIERI, Claudia Regina; MADRUGA, Vera Aparecida; CHACON-MIKAHIL, Mara P T. Effects of concurrent training on interleukin-6, tumour necrosis factor-alpha and C-reactive protein in middle-aged men. **Journal of sports sciences**, vol. 29, no. 14, p. 1573–81, Nov. 2011. DOI 10.1080/02640414.2011.609896. Available at: <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/02640414.2011.609896>.

LIEBISCH, Gerhard; FAHY, Eoin; AOKI, Junken; DENNIS, Edward A.; DURAND, Thierry; EJSING, Christer S.; FEDOROVA, Maria; FEUSSNER, Ivo; GRIFFITHS, William J.; KÖFELER, Harald; MERRILL, Alfred H.; MURPHY, Robert C.; O'DONNELL, Valerie B.; OSKOLKOVA, Olga; SUBRAMANIAM, Shankar; WAKELAM, Michael J.O.; SPENER, Friedrich. Update on LIPID MAPS classification, nomenclature, and shorthand notation for MS-derived lipid structures. **Journal of Lipid Research**, vol. 61, no. 12, p. 1539–1555, 1 Dec. 2020. DOI 10.1194/jlr.S120001025. Available at: <http://www.jlr.org/article/S002227520600177/fulltext>. Accessed on: 3 Oct. 2022.

LOPES, Wendell Arthur; LEITE, Neiva; DA SILVA, Larissa Rosa; BRUNELLI, Diego Trevisan; GÁSPARI, Arthur Fernandes; RADOMINSKI, Rosana Bento; CHACON-MIKAHIL, Mara Patrícia Traina; CAVAGLIERI, Cláudia Regina. Effects of 12 weeks of combined training without caloric restriction on inflammatory markers in overweight girls. **Journal of sports sciences**, vol. 34, no. 20, p. 1902–12, 17 Oct. 2016. DOI 10.1080/02640414.2016.1142107. Available at: <http://dx.doi.org/10.1080/02640414.2016.1142107> <http://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/02640414.2016.1142107>.

LYDIC, Todd A.; GOO, Young-Hwa. Lipidomics unveils the complexity of the lipidome in metabolic diseases. **Clinical and Translational Medicine**, vol. 7, no. 1, p. 4, 26 Dec. 2018. DOI 10.1186/s40169-018-0182-9. Available at: <https://link.springer.com/articles/10.1186/s40169-018-0182-9>. Accessed on: 22 Sep. 2020.

MAGKOS, Faidon; TSEKOURAS, Yiannis E.; PRENTZAS, Konstantinos I.; BASIOUKAS, Konstantinos N.; MATSAMA, Stergoula G.; YANNI, Amalia E.; KAVOURAS, Stavros A.; SIDOSSIS, Labros S. Acute exercise-induced changes in basal VLDL-triglyceride kinetics leading to hypotriglyceridemia manifest more readily after resistance than endurance exercise. **Journal of Applied Physiology**, vol. 105, no. 4, p. 1228–1236, Oct. 2008. DOI 10.1152/JAPPLPHYSIOL.90761.2008/ASSET/IMAGES/LARGE/ZDG0100881530003.JPEG. Available at: <https://journals.physiology.org/doi/10.1152/jappphysiol.90761.2008>. Accessed on: 12 Sep. 2022.

MAIORANA, Andrew; O'DRISCOLL, Gerard; GOODMAN, Carmel; TAYLOR, Roger; GREEN, Daniel. Combined aerobic and resistance exercise improves glycemic control and fitness in type 2 diabetes. **Diabetes Research and Clinical Practice**, vol. 56, no. 2, p. 115–123, 2002. DOI 10.1016/S0168-8227(01)00368-0. Available at: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0168822701003680>. Accessed on: 23 Apr. 2017.

MAMAS, Mamas; DUNN, Warwick B.; NEYSES, Ludwig; GOODACRE, Royston. The role of metabolites and metabolomics in clinically applicable biomarkers of disease. **Archives of Toxicology**, vol. 85, no. 1, p. 5–17, 2011. <https://doi.org/10.1007/s00204-010-0609-6>.

MANDAL, Nawajes; GRAMBERGS, Richard; MONDAL, Koushik; BASU, Sandip K.; TAHIA, Faiza; DAGOGO-JACK, Sam. Role of ceramides in the pathogenesis of diabetes mellitus and its complications. **Journal of Diabetes and its Complications**, vol. 35, no. 2, p. 107734, 1 Feb. 2021. <https://doi.org/10.1016/J.JDIACOMP.2020.107734>.

MATANES, Faris; TWAL, Waleed O.; HAMMAD, Samar M. Sphingolipids as biomarkers of disease. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, vol. 1159, p. 109–138, 2019. DOI 10.1007/978-3-030-21162-2\_7/FIGURES/1. Available at: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-21162-2\\_7/FIGURES/1](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-21162-2_7/FIGURES/1).

2\_7. Accessed on: 9 May 2022.

MEIKLE, Thomas G.; HUYNH, Kevin; GILES, Corey; MEIKLE, Peter J. Clinical lipidomics: realizing the potential of lipid profiling. **Journal of Lipid Research**, vol. 63, 1 Jan. 2021. DOI 10.1016/J.JLR.2021.100127. Available at: <http://www.jlr.org/article/S002227521001097/fulltext>. Accessed on: 3 Oct. 2022.

MENDHAM, Amy E.; GOEDECKE, Julia H.; ZENG, Yingxu; LARSEN, Steen; GEORGE, Cindy; HAUSSON, Jon; FORTUIN-DE SMIDT, Melony C.; CHIBALIN, Alexander V.; OLSSON, Tommy; CHORELL, Elin. Exercise training improves mitochondrial respiration and is associated with an altered intramuscular phospholipid signature in women with obesity. **Diabetologia**, vol. 64, no. 7, p. 1642–1659, 1 Jul. 2021. DOI 10.1007/S00125-021-05430-6/FIGURES/9. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00125-021-05430-6>. Accessed on: 7 Sep. 2022.

METSIOS, George S.; MOE, Rikke H.; KITAS, George D. Exercise and inflammation. **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**, vol. 34, no. 2, p. 101504, 1 Apr. 2020. <https://doi.org/10.1016/J.BERH.2020.101504>.

MIKA, A.; SLEDZINSKI, T. Alterations of specific lipid groups in serum of obese humans: a review. **Obesity Reviews**, vol. 18, no. 2, p. 247–272, 1 Feb. 2017. <https://doi.org/10.1111/OBR.12475>.

MIKA, Adriana; MACALUSO, Filippo; BARONE, Rosario; DI FELICE, Valentina; SLEDZINSKI, Tomasz. Effect of Exercise on Fatty Acid Metabolism and Adipokine Secretion in Adipose Tissue. **Frontiers in Physiology**, vol. 10, no. JAN, p. 26, 2019. DOI 10.3389/FPHYS.2019.00026. Available at: </pmc/articles/PMC6360148/>. Accessed on: 21 Sep. 2022.

MISRA, Biswapriya B. New software tools, databases, and resources in metabolomics: updates from 2020. **Metabolomics** 2021 17:5, vol. 17, no. 5, p. 1–24, 11 May 2021. DOI 10.1007/S11306-021-01796-1. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s11306-021-01796-1>. Accessed on: 25 Oct. 2021.

MISRA, Biswapriya B.; LANGEFELD, Carl; OLIVIER, Michael; COX, Laura A. Integrated omics: Tools, advances and future approaches. **Journal of Molecular Endocrinology**, vol. 62, no. 1, p. R21–R45, 1 Jan. 2019. DOI 10.1530/JME-18-0055. Available at: <https://doi.org/10.1530/JME-18-0055><https://jme.bioscientifica.com>. Accessed on: 10 Aug. 2020.

MONTERO-BULLON, Javier Fernando; MELO, Tânia; FERREIRA, Rita; PADRÃO, Ana Isabel; OLIVEIRA, Paula A.; DOMINGUES, M. Rosário M.; DOMINGUES, Pedro. Exercise training counteracts urothelial carcinoma-induced alterations in skeletal muscle mitochondria phospholipidome in an animal model. **Scientific Reports** 2019 9:1, vol. 9, no. 1, p. 1–11, 17 Sep. 2019. DOI 10.1038/s41598-019-49010-6. Available at: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-49010-6>. Accessed on: 7 Sep. 2022.

MORVILLE, Thomas; SAHL, Ronni E.; MORITZ, Thomas; HELGE, Jørn W.; CLEMMENSEN, Christoffer. Plasma Metabolome Profiling of Resistance Exercise and Endurance Exercise in Humans. **Cell Reports**, vol. 33, no. 13, p. 108554, 29 Dec. 2020. DOI 10.1016/j.celrep.2020.108554. Available at: <http://www.cell.com/article/S2211124720315436/fulltext>. Accessed on: 12 Oct. 2022.

MOURITSEN, Ole G.; BAGATOLLI, Luis A. **LIFE - AS A MATTER OF FAT**. 2nd ed. Cham: Springer International Publishing, 2016(The Frontiers Collection). DOI 10.1007/978-3-319-22614-9. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-319-22614-9>. Accessed on: 12 Jan. 2022.

MOUSA, Aya; NADERPOOR, Negar; MELLETT, Natalie; WILSON, Kirsty; PLEBANSKI, Magdalena; MEIKLE, Peter J.; DE COURTEN, Barbora. Lipidomic profiling reveals early-stage metabolic dysfunction in overweight or obese humans. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids**, vol. 1864, no. 3, p. 335–343, 1 Mar. 2019. <https://doi.org/10.1016/J.BBALIP.2018.12.014>.

MÜLLER, Manfred J.; ENDERLE, Janna; BOSY-WESTPHAL, Anja. Changes in Energy Expenditure with Weight Gain and Weight Loss in Humans. **Current obesity reports**, vol. 5, no. 4, p. 413–423, 1 Dec. 2016. DOI 10.1007/S13679-016-0237-4/FIGURES/3. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13679-016-0237-4>. Accessed on: 4 Oct. 2022.

MUSCELLA, Antonella; STEFANO, Erika; LUNETTI, Paola; CAPOBIANCO, Loredana; MARSIGLIANTE, Santo. The Regulation of Fat Metabolism during Aerobic Exercise. **Biomolecules** 2020, Vol. 10, Page 1699, vol. 10, no. 12, p. 1699, 21 Dec. 2020. DOI 10.3390/BIOM10121699. Available at: <https://www.mdpi.com/2218-273X/10/12/1699/htm>. Accessed on: 12 Sep. 2022.

N.M. WEIJERS, Rob. Lipid Composition of Cell Membranes and Its Relevance in Type 2 Diabetes Mellitus. **Current Diabetes Reviews**, vol. 8, no. 5, p. 390–400, 30 Jul. 2012. <https://doi.org/10.2174/157339912802083531>.

NELSON, David L.; COX, Michael M. **Lehninger Principles of Biochemistry 7th ed.** [S. l.: s. n.], 2018. <https://doi.org/10.1016/j.jse.2011.03.016>.

NONO NANKAM, Pamela A.; MENDHAM, Amy E.; VAN JAARSVELD, Paul J.; ADAMS, Kevin; FORTUIN-DE SMIDT, Melony C.; CLAMP, Louise; BLÜHER, Matthias; GOEDECKE, Julia H. Exercise Training Alters Red Blood Cell Fatty Acid Desaturase Indices and Adipose Tissue Fatty Acid Profile in African Women with Obesity. **Obesity**, vol. 28, no. 8, p. 1456–1466, 1 Aug. 2020. DOI 10.1002/OBY.22862. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/oby.22862>. Accessed on: 26 Sep. 2022.

OLIVER A. H. JONES. **Metabolomics and Systems Biology in Human Health and Medicine.** 1st ed. [S. l.: s. n.], 2014.

OREŠIČ, Matej; HÄNNINEN, Virve A.; VIDAL-PUIG, Antonio. Lipidomics: a new window to biomedical frontiers. **Trends in Biotechnology**, vol. 26, no. 12, p. 647–652, 2008. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2008.09.001>.

PARK, Suhyeon; KIM, Bo Kyoung; PARK, Sang Kyu. Supplementation with phosphatidylethanolamine confers anti-oxidant and anti-aging effects via hormesis and reduced insulin/IGF-1-like signaling in *C. elegans*. **Mechanisms of Ageing and Development**, vol. 197, p. 111498, 1 Jul. 2021. <https://doi.org/10.1016/J.MAD.2021.111498>.

PATTI, Gary J.; YANES, Oscar; SIUZDAK, Gary. Innovation: Metabolomics: the apogee of the omics trilogy. **Nature reviews. Molecular cell biology**, vol. 13, no. 4, p. 263–9, 22 Mar. 2012. DOI 10.1038/nrm3314. Available at: <http://dx.doi.org/10.1038/nrm3314>.

PECHLIVANIS, Alexandros; KOSTIDIS, Sarantos; SARASLANIDIS, Ploutarchos; PETRIDOU, Anatoli; TSALIS, George; MOUGIOS, Vassilis; GIKA, Helen G.; MIKROS, Emmanuel; THEODORIDIS, Georgios a. 1H NMR-based metabolomic investigation of the effect of two different exercise sessions on the metabolic fingerprint of human urine. **Journal of Proteome Research**, vol. 9, no. 12, p. 6405–6416, 2010. <https://doi.org/10.1021/pr100684t>.

PECHLIVANIS, Alexandros; KOSTIDIS, Sarantos; SARASLANIDIS, Ploutarchos; PETRIDOU, Anatoli; TSALIS, George; VESELKOV, Kirill; MIKROS, Emmanuel; MOUGIOS, Vassilis; THEODORIDIS, Georgios a. 1 H NMR Study on the Short- and Long-Term Impact of Two Training Programs of Sprint Running on the Metabolic Fingerprint of Human Serum. **Journal of Proteome Research**, vol. 12, no. 1, p. 470–480, 4 Jan. 2013. DOI 10.1021/pr300846x. Available at: <https://pubs.acs.org/doi/10.1021/pr300846x>.

PECHLIVANIS, Alexandros; PAPAIOANNOU, Konstantinos G.; TSALIS, George; SARASLANIDIS, Ploutarchos; MOUGIOS, Vassilis; THEODORIDIS, Georgios A. Monitoring the response of the human urinary metabolome to brief maximal exercise by a combination of RP-UPLC-MS and 1H NMR spectroscopy. **Journal of Proteome Research**, vol. 14, no. 11, p. 4610–4622, 2015. <https://doi.org/10.1021/acs.jproteome.5b00470>.

PEDERSEN, Bente Klarlund. Anti-inflammatory effects of exercise: role in diabetes and cardiovascular disease. **European Journal of Clinical Investigation**, vol. 47, no. 8, p. 600–611, 1 Aug. 2017. DOI 10.1111/ECI.12781. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/eci.12781>. Accessed on: 3 Oct. 2022.

PIERCY, Katrina L.; TROIANO, Richard P.; BALLARD, Rachel M.; CARLSON, Susan A.; FULTON, Janet E.; GALUSKA, Deborah A.; GEORGE, Stephanie M.; OLSON, Richard D. The physical activity guidelines for Americans. **JAMA - Journal of the American Medical Association**, vol. 320, no. 19, p. 2020–2028, 2018. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.14854>.

PIKÓ, Péter; PÁL, László; SZŰCS, Sándor; KÓSA, Zsigmond; SÁNDOR, János; ÁDÁNY, Róza. Obesity-Related Changes in Human Plasma Lipidome Determined by the Lipidizer Platform. **Biomolecules**, vol. 11, no. 2, p. 1–20, 1 Feb. 2021. DOI 10.3390/BIOM11020326. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/33669967/>. Accessed on: 16 Sep. 2022.

PINCKARD, Kelsey; BASKIN, Kedryn K.; STANFORD, Kristin I. Effects of Exercise to Improve Cardiovascular Health. **Frontiers in Cardiovascular Medicine**, vol. 6, p. 69, 4 Jun. 2019. <https://doi.org/10.3389/FCVM.2019.00069/BIBTEX>.

PINU, Farhana R.; BEALE, David J.; PATEN, Amy M.; KOUREMENOS, Konstantinos; SWARUP, Sanjay; SCHIRRA, Horst J.; WISHART, David. Systems Biology and Multi-Omics Integration: Viewpoints from the Metabolomics Research Community. **Metabolites**, vol. 9, no. 4, p. 76, 18 Apr. 2019. DOI 10.3390/metabo9040076. Available at: <https://www.mdpi.com/2218-1989/9/4/76>. Accessed on: 10 Aug. 2020.

PSYCHOGIOS, Nikolaos; HAU, David D.; PENG, Jun; GUO, An Chi; MANDAL, Rupasri; BOUATRA, Souhaila; SINELNIKOV, Igor; KRISHNAMURTHY, Ramanarayan; EISNER, Roman; GAUTAM, Bijaya; YOUNG, Nelson; XIA, Jianguo; KNOX, Craig; DONG, Edison; HUANG, Paul; HOLLANDER, Zsuzsanna; PEDERSEN, Theresa L.; SMITH, Steven R.; BAMFORTH, Fiona; ... WISHART, David S. The human serum metabolome. **PLoS ONE**, vol. 6, no. 2, 2011. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0016957>.

QUEHENBERGER, Oswald; DENNIS, Edward A. The Human Plasma Lipidome. **New England Journal of Medicine**, vol. 365, no. 19, p. 1812–1823, 10 Nov. 2011. DOI 10.1056/NEJMra1104901. Available at: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMra1104901>. Accessed on: 10 Aug. 2020.

RAI, Sneha; BHATNAGAR, Sonika. Novel Lipidomic Biomarkers in Hyperlipidemia and Cardiovascular Diseases: An Integrative Biology Analysis. **OMICS: A Journal of Integrative Biology**, vol. 21, no. 3, p. 132–142, 1 Mar. 2017. DOI 10.1089/omi.2016.0178. Available at: <http://www.liebertpub.com/doi/10.1089/omi.2016.0178>. Accessed on: 12 Aug. 2020.

RIDGWAY, N; MCLEOD, R. **Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes**. 6th ed. [S. l.]: Elsevier Science, 2015. Available at: <https://books.google.com.br/books?id=f1VlrgEACAAJ>.

RIDGWAY, Neale D. Phospholipid Synthesis in Mammalian Cells. **Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes**. [S. l.]: Elsevier, 2016. p. 209–236. DOI 10.1016/B978-0-444-63438-2.00007-9. Available at: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780444634382000079>. Accessed on: 6 May 2021.

ROCHA-RODRIGUES, Sílvia; RODRÍGUEZ, Amaia; BECERRIL, Sara; RAMÍREZ, Beatriz; GONÇALVES, Inês O.; BELEZA, Jorge; FRÜHBECK, Gema; ASCENSÃO, António; MAGALHÃES, José. Physical exercise remodels visceral adipose tissue and mitochondrial lipid metabolism in rats fed a high-fat diet. **Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology**, vol. 44, no. 3, p. 386–394, 1 Mar. 2017. DOI 10.1111/1440-1681.12706. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1111/1440-1681.12706>. Accessed on: 21 Sep. 2022.

SALEK, Reza M.; STEINBECK, Christoph; VIANT, Mark R.; GOODACRE, Royston; DUNN, Warwick B. The role of reporting standards for metabolite annotation and identification in metabolomic studies. **GigaScience**, vol. 2, no. 1, p. 1, 2013. <https://doi.org/10.1186/2047-217X-2-13>.

SANTORO, Anna; MCGRAW, Timothy E.; KAHN, Barbara B. Insulin action in adipocytes, adipose remodeling, and systemic effects. **Cell Metabolism**, vol. 33, no. 4, p. 748–757, 2021. DOI 10.1016/j.cmet.2021.03.019. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.cmet.2021.03.019>.

SATO, Takashige; NIHEI, Yutaka; NAGAFUKU, Masakazu; TAGAMI, Seiichi; CHIN, Rina; KAWAMURA, Mitsunobu; MIYAZAKI, Shigeru; SUZUKI, Makoto; SUGAHARA, Shu ichi; TAKAHASHI, Yasuyuki; SAITO, Atsuko; IGARASHI, Yasuyuki; INOKUCHI, Jin ichi. Circulating levels of ganglioside GM3 in metabolic syndrome: A pilot study. **Obesity Research & Clinical Practice**, vol. 2, no. 4, p. 231–238, 1 Dec. 2008. <https://doi.org/10.1016/J.ORCP.2008.06.001>.

SAÚDE, MINISTÉRIO DA; SAÚDE, Secretaria de Vigilância em; VIGILÂNCIA, Departamento de Análise em Saúde e; TRANSMISSÍVEIS, de Doenças Não. **VIGITEL BRASIL 2021 VIGITEL BRASIL 2021**. [S. l.: s. n.], 2022.

SCAGLIUSI, Fernanda Baeza; LANCHÁ, Antonio Herbert. Estudo do gasto energético por meio da água duplamente marcada: fundamentos, utilização e aplicações. **Revista de Nutrição**, vol. 18, no. 4, p. 541–551, 2005. DOI 10.1590/S1415-52732005000400009. Available at: <http://www.scielo.br/j/rn/a/dnP6jrdXSzpcpM4tRJVnPSr/?lang=pt>. Accessed on: 4 Oct. 2022.

SCHWARTZ, Michael W.; SEELEY, Randy J.; ZELTSER, Lori M.; DREWNOWSKI, Adam; RAVUSSIN, Eric; REDMAN, Leanne M.; LEIBEL, Rudolph L. Obesity pathogenesis: An endocrine society scientific statement. **Endocrine Reviews**, vol. 38, no. 4, p. 267–296, 1 Aug. 2017. DOI 10.1210/ER.2017-00111. Available at: <https://academic.oup.com/edrv/267>. Accessed on: 23 Nov. 2020.

SEALE, Patrick. Brown adipose tissue biology and therapeutic potential. **Frontiers in Endocrinology**, vol. 4, no. 1, 2013. DOI 10.3389/fendo.2013.00014. Available at:

<http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fendo.2013.00014/abstract>. Accessed on: 7 Oct. 2016.

SEARS, Barry; PERRY, Mary. The role of fatty acids in insulin resistance. **Lipids in Health and Disease**, vol. 14, no. 1, p. 1–9, 2015. DOI 10.1186/s12944-015-0123-1. Available at: <http://dx.doi.org/10.1186/s12944-015-0123-1>.

SHETTY, Shilpa S.; KUMARI, Suchetha. Fatty acids and their role in type-2 diabetes (Review). **Experimental and Therapeutic Medicine**, vol. 22, no. 1, p. 1–6, 1 Jul. 2021. DOI 10.3892/ETM.2021.10138. Available at: <http://www.spandidos-publications.com/10.3892/etm.2021.10138/abstract>. Accessed on: 25 Aug. 2022.

SHIRAKAWA, Kohsuke; SANO, Motoaki. T Cell Immunosenescence in Aging, Obesity, and Cardiovascular Disease. **Cells** 2021, Vol. 10, Page 2435, vol. 10, no. 9, p. 2435, 15 Sep. 2021. DOI 10.3390/CELLS10092435. Available at: <https://www.mdpi.com/2073-4409/10/9/2435/htm>. Accessed on: 7 Sep. 2022.

SHOELSON, S. E. Inflammation and insulin resistance. **Journal of Clinical Investigation**, vol. 116, no. 7, p. 1793–1801, 3 Jul. 2006. DOI 10.1172/JCI29069. Available at: <http://www.jci.org/cgi/doi/10.1172/JCI29069>. Accessed on: 7 Oct. 2016.

SILSIRIVANIT, Atit; PHOOMAK, Chatchai; TEERAVIROTE, Karuntarat; WATTANAVISES, Sasiprapa; SEUBWAI, Wunchana; SAENGBONMEE, Charupong; ZHAN, Zhaoqi; INOKUCHI, Jin ichi; SUZUKI, Akemi; WONGKHAM, Sopit. Overexpression of HexCer and LacCer containing 2-hydroxylated fatty acids in cholangiocarcinoma and the association of the increase of LacCer (d18:1-h23:0) with shorter survival of the patients. **Glycoconjugate Journal**, vol. 36, no. 2, p. 103–111, 19 Mar. 2019. DOI 10.1007/S10719-019-09864-4/TABLES/3. Available at: <https://link.springer.com/article/10.1007/s10719-019-09864-4>. Accessed on: 16 Sep. 2022.

SOBCZAK, Amélie I S; BLINDAUER, Claudia A; STEWART, Alan J. Changes in Plasma Free Fatty Acids Associated with Type-2 Diabetes. **Nutrients**, 2019. DOI 10.3390/nu11092022. Available at: [www.mdpi.com/journal/nutrients](http://www.mdpi.com/journal/nutrients). Accessed on: 28 Oct. 2021.

SOKOLOWSKA, Emilia; BLACHNIO-ZABIELSKA, Agnieszka. The Role of Ceramides in Insulin Resistance. **Frontiers in Endocrinology**, vol. 10, p. 577, 21 Aug. 2019. DOI 10.3389/fendo.2019.00577. Available at: [www.frontiersin.org](http://www.frontiersin.org). Accessed on: 12 Aug. 2020.

SOKOŁOWSKA, Emilia; CAR, Halina; FIEDOROWICZ, Anna; SZELACHOWSKA, Małgorzata; MILEWSKA, Anna; WAWRUSIEWICZ-KURYLONEK, Natalia; SZUMOWSKI, Piotr; KRZYŻANOWSKA-GRYCEL, Edyta; POPŁAWSKA-KITA, Anna; ŻENDZIAN-PIOTROWSKA, Małgorzata; CHABOWSKI, Adrian; KRĘTOWSKI, Adam; SIEWKO, Katarzyna. Sphingomyelin profiling in patients with diabetes could be potentially useful as differential diagnostics biomarker: A pilot study. **Advances in Medical Sciences**, vol. 67, no. 2, p. 250–256, 1 Sep. 2022. <https://doi.org/10.1016/J.ADVMS.2022.06.001>.

STIBAN, Johnny; ROLES, Intertwined; LIPIDS, Enigmatic. **Bioactive Ceramides in Health and Disease**. [S. l.: s. n.], 2019. vol. 1159, . DOI 10.1007/978-3-030-21162-2. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/978-3-030-21162-2>.

SWINNEN, Johannes V.; DEHAIRS, Jonas. A beginner's guide to lipidomics. **The Biochemist**, vol. 44, no. 1, p. 20–24, 8 Feb. 2022. DOI 10.1042/BIO\_2021\_181. Available at: [/biochemist/article/44/1/20/230687/A-beginner-s-guide-to-lipidomics](http://biochemist/article/44/1/20/230687/A-beginner-s-guide-to-lipidomics). Accessed on: 3 Oct. 2022.

TAN-CHEN, Sophie; GUITTON, Jeanne; BOURRON, Olivier; LE STUNFF, Hervé; HAJDUCH, Eric. Sphingolipid Metabolism and Signaling in Skeletal Muscle: From Physiology to Physiopathology. **Frontiers in Endocrinology**, vol. 11, p. 491, 7 Aug. 2020. <https://doi.org/10.3389/FENDO.2020.00491/XML/NLM>.

THE WORLD OBESITY FEDERATION. Projections of Obesity Prevalence in 2030. **World Obesity Atlas 2022**, no. March, p. 18–41, 2022. .

TURPIN-NOLAN, Sarah M.; BRÜNING, Jens C. The role of ceramides in metabolic disorders: when size and localization matters. **Nature Reviews Endocrinology**, vol. 16, no. 4, p. 224–233, 1 Apr. 2020. DOI 10.1038/s41574-020-0320-5. Available at: [www.nature.com/nrendo](http://www.nature.com/nrendo). Accessed on: 6 May 2021.

VAN MEER, Gerrit; VOELKER, Dennis R.; FEIGENSON, Gerald W. Membrane lipids: Where they are and how they behave. **Nature Reviews Molecular Cell Biology**, vol. 9, no. 2, p. 112–124, Feb. 2008. DOI 10.1038/nrm2330. Available at: [/pmc/articles/PMC2642958/?report=abstract](http://pmc/articles/PMC2642958/?report=abstract). Accessed on: 11 Sep. 2020.

VAN VLIET, Stephan; KOH, Han-Chow E.; PATTERSON, Bruce W.; YOSHINO, Mihoko; LAFOREST, Richard; GROPLER, Robert J.; KLEIN, Samuel; MITTENDORFER, Bettina. Obesity Is Associated With Increased Basal and Postprandial  $\beta$ -Cell Insulin Secretion Even in the Absence of Insulin Resistance. **Diabetes**, vol. 69, no. 10, p. 2112–2119, 1 Oct. 2020. DOI 10.2337/db20-0377. Available at: <https://diabetes.diabetesjournals.org/content/69/10/2112>. Accessed on: 28 Oct. 2021.

VANCE, JEAN E.; VANCE, Dennis E. **Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes - 6th Edition**. [S. l.: s. n.], 2016. Available at: <https://www.elsevier.com/books/biochemistry-of-lipids-lipoproteins-and-membranes/unknown/978-0-444-63438-2>. Accessed on: 16 Sep. 2020.

VARGAS, Valentine Z; LIRA, Claudio A. B. de; VANCINI, Rodrigo L; RAYES, Angeles B. R.; ANDRADE, Marília S. Fat mass is negatively associated with the physiological ability of tissue to consume oxygen. **Motriz: Revista de Educação Física**, vol. 24, no. 4, p. 101808, 23 Nov. 2018. DOI 10.1590/s1980-6574201800040010. Available at: [http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S1980-65742018000400705&lng=en&lng=en](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1980-65742018000400705&lng=en&lng=en). Accessed on: 23 Aug. 2022.

VILLAREAL, Dennis T.; AGUIRRE, Lina; GURNEY, A. Burke; WATERS, Debra L.; SINACORE, David R.; COLOMBO, Elizabeth; ARMAMENTO-VILLAREAL, Reina; QUALLS, Clifford. Aerobic or Resistance Exercise, or Both, in Dieting Obese Older Adults. **The New England journal of medicine**, vol. 376, no. 20, p. 1943–1955, 18 May 2017. DOI 10.1056/NEJMOA1616338. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28514618/>. Accessed on: 2 Jan. 2023.

VOET, DONALD; VOET, JUDITH G.; PRATT, Charlotte W. **Fundamentals of biochemistry: life at the molecular level**. 5th ed. [S. l.]: John Wiley & Sons, 2016.

VOET, DONALD; VOET, JUDITH G. **BIOCHEMISTRY . 4th edition**. 4th ed. [S. l.]: John Wiley & Sons, Inc., 2011. Available at: <http://localhost:8080/xmlui/handle/123456789/53>. Accessed on: 11 Jan. 2022.

WANG, Huan; AIROLA, Michael V.; REUE, Karen. How lipid droplets “TAG” along: Glycerolipid synthetic enzymes and lipid storage. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular and Cell Biology of Lipids**, vol. 1862, no. 10, p. 1131–1145, 1 Oct. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.bbali.2017.06.010>.

WANG, Jianing; WANG, Chunyan; HAN, Xianlin. Tutorial on lipidomics. **Analytica Chimica Acta**, vol. 1061, p. 28–41, Jul. 2019. DOI 10.1016/j.aca.2019.01.043. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.aca.2019.01.043>. Accessed on: 18 Aug. 2020.

WANG, Yating; SHEN, Li; XU, Danyan. Aerobic exercise reduces triglycerides by targeting apolipoprotein C3 in patients with coronary heart disease. **Clinical Cardiology**, vol. 42, no. 1, p. 56–61, 1 Jan. 2019. DOI 10.1002/CLC.23104. Available at: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.1002/clc.23104>. Accessed on: 26 Oct. 2021.

WEHLING, Helena; LUSHER, Joanne. People with a body mass index  $\geq 30$  under-report their dietary intake: A systematic review. **Journal of health psychology**, vol. 24, no. 14, p. 2042–2059, 1 Dec. 2019. DOI 10.1177/1359105317714318. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28810493/>. Accessed on: 22 Aug. 2022.

WENK, M R. The emerging field of lipidomics. **Nat Rev Drug Discov**, vol. 4, no. 7, p. 594–610, 2005. DOI 10.1038/nrd1776. Available at: [http://www.nature.com/nrd/journal/v4/n7/abs/nrd1776\\_fs.html;jsessionid=571E45BFE2417753A0256D98D95379A7](http://www.nature.com/nrd/journal/v4/n7/abs/nrd1776_fs.html;jsessionid=571E45BFE2417753A0256D98D95379A7).

WHILLIER, Stephney. Exercise and Insulin Resistance. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, vol. 1228, p. 137–150, 2020. DOI 10.1007/978-981-15-1792-1\_9/COVER. Available at: [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-15-1792-1\\_9](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-15-1792-1_9). Accessed on: 3 Oct. 2022.

WIGGER, Dominik; SCHUMACHER, Fabian; SCHNEIDER-SCHAULIES, Sibylle; KLEUSER, Burkhard. Sphingosine 1-phosphate metabolism and insulin signaling. **Cellular Signalling**, vol. 82, 1 Jun. 2021. <https://doi.org/10.1016/J.CELLSIG.2021.109959>.

WISHART, D. S. Metabolomics: The principles and potential applications to transplantation. **American Journal of Transplantation**, vol. 5, no. 12, p. 2814–2820, 2005. <https://doi.org/10.1111/j.1600-6143.2005.01119.x>.

YANG, Kui; HAN, Xianlin. Lipidomics: Techniques, Applications, and Outcomes Related to Biomedical Sciences. **Trends in Biochemical Sciences**, vol. 41, no. 11, p. 954–969, Nov. 2016. DOI 10.1016/j.tibs.2016.08.010. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibs.2016.08.010>. Accessed on: 18

Aug. 2020.

YANG, Li; LI, Min; SHAN, Yabing; SHEN, Sensen; BAI, Yu; LIU, Huwei. Recent advances in lipidomics for disease research. **Journal of Separation Science**, vol. 39, no. 1, p. 38–50, 1 Jan. 2016. DOI 10.1002/jssc.201500899. Available at: <http://doi.wiley.com/10.1002/jssc.201500899>. Accessed on: 10 Aug. 2020.

YEBOAH, Joseph; MCNAMARA, Coleen; JIANG, Xian-Cheng; TABAS, Ira; HERRINGTON, David M; BURKE, Gregory L; SHEA, Steven. Association of plasma sphingomyelin levels and incident coronary heart disease events in an adult population: Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. **Arteriosclerosis, thrombosis, and vascular biology**, vol. 30, no. 3, p. 628–33, Mar. 2010. DOI 10.1161/ATVBAHA.109.199281. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20032291>. Accessed on: 2 May 2017.

ZAFEIRIDIS, Andreas; CHATZIOANNOU, Anastasia Chrysovalantou; SARIVASILIOU, Haralambos; KYPAROS, Antonios; NIKOLAIDIS, Michalis G.; VRABAS, Ioannis S.; PECHLIVANIS, Alexandros; ZOUMPOULAKIS, Panagiotis; BASKAKIS, Constantinos; DIPLA, Konstantina; THEODORIDIS, Georgios A. Global Metabolic Stress of Isoeffort Continuous and High Intensity Interval Aerobic Exercise: A Comparative <sup>1</sup> H NMR Metabonomic Study. **Journal of Proteome Research**, , p. acs.jproteome.6b00545, 4 Oct. 2016. DOI 10.1021/acs.jproteome.6b00545. Available at: <http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/acs.jproteome.6b00545>. Accessed on: 11 Oct. 2016.

ZAMBONI, Nicola; SAGHATELIAN, Alan; PATTI, Gary J. Defining the Metabolome: Size, Flux, and Regulation. **Molecular Cell**, vol. 58, no. 4, p. 699–706, 2015. DOI 10.1016/j.molcel.2015.04.021. Available at: <http://dx.doi.org/10.1016/j.molcel.2015.04.021>.

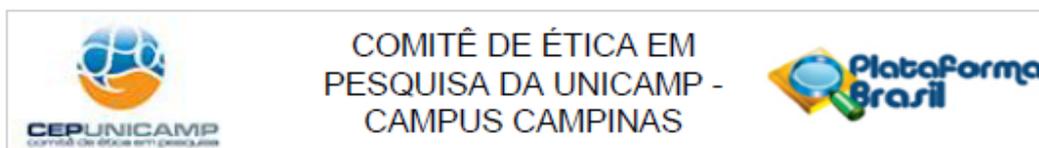
ZHANG, Shucha; LIU, Lingyan; STEFFEN, Debora; YE, Tao; RAFTERY, Daniel. Metabolic profiling of gender: Headspace-SPME/GC-MS and 1H NMR analysis of urine. **Metabolomics**, vol. 8, no. 2, p. 323–334, 7 Apr. 2012. DOI 10.1007/s11306-011-0315-2. Available at: <http://link.springer.com/10.1007/s11306-011-0315-2>.

ZHANG, Yan; ZHANG, Tianyi; LIANG, Yan; JIANG, Lianzhou; SUI, Xiaonan. Dietary Bioactive Lipids: A Review on Absorption, Metabolism, and Health Properties. **Cite This: J. Agric. Food Chem**, vol. 69, p. 8943, 2021. DOI 10.1021/acs.jafc.1c01369. Available at: <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.1c01369>. Accessed on: 12 Jan. 2022.

ZHAO, Xueheng; NIU, Liang; CLERICI, Carlo; RUSSO, Roberta; BYRD, Melissa; SETCHELL, Kenneth D.R. Data analysis of MS-based clinical lipidomics studies with crossover design: A tutorial mini-review of statistical methods. **Clinical Mass Spectrometry**, vol. 13, p. 5–17, 1 Aug. 2019. <https://doi.org/10.1016/J.CLINMS.2019.05.002>.

ZÜLLIG, Thomas; TRÖTZMÜLLER, Martin; KÖFELER, Harald C. Lipidomics from sample preparation to data analysis: a primer. **Analytical and Bioanalytical Chemistry**, vol. 412, no. 10, p. 2191–2209, 10 Apr. 2020. DOI 10.1007/s00216-019-02241-y. Available at: <https://doi.org/10.1007/s00216-019-02241-y>. Accessed on: 24 Aug. 2020.

## ANEXO 1 – Comitê de Ética



### PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

#### DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

**Título da Pesquisa:** Respostas do treinamento Combinado sobre a inflamação, metabolismo, tecido adiposo branco e marrom de obesos diabéticos tipo 2 com excesso de peso.

**Pesquisador:** Cláudia Regina Cavagliari

**Área Temática:**

**Versão:** 2

**CAAE:** 55952516.6.0000.5404

**Instituição Proponente:** Faculdade de Educação Física

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

#### DADOS DO PARECER

**Número do Parecer:** 1.597.626

#### Apresentação do Projeto:

**Resumo:** O objetivo do presente estudo será analisar as respostas agudas e crônicas do treinamento combinado sobre inflamação, fatores metabólicos e marcadores séricos, moleculares e de imagem relacionados ao tecido adiposo marrom (TAM) e browning do tecido adiposo branco (TAB) em diabéticos tipo 2. A amostra será composta por indivíduos diabéticos tipo 2, de ambos os sexos e índice de massa corporal (IMC)  $<35\text{kg/m}^2$ , distribuídos em grupo controle (GC; n=15) e grupo treinamento combinado (TC; n=15). Nos momentos pré e pós-período experimental serão realizadas análises funcionais (força muscular, aptidão aeróbia e taxa metabólica de repouso), de composição corporal (Pletismografia), bioquímicas (clínicos básicos, incretinas, metabolômica, inflamatórios e estimulantes de TAM e browning), imagem (Tomografia por Emissão de Pósitrons acoplado a Tomografia Computadorizada (PET-CT)) e moleculares (genes relacionados a morfologia/funcionalidade de células adiposas subcutâneas). As análises séricas de indutores de TAM e browning também serão realizadas logo após, pós 30 minutos e pós 1 hora da primeira e última sessão de treinamento. O programa de TC será composto pela realização do treinamento de força (~30 min, 1-3 séries de 8 a 12 repetições, 50 a 75% de 1RM, de 1 a 1 min. e 30 seg. de intervalo) seguido de treinamento aeróbio (35 min. em 50-60% do  $\text{VO}_2\text{máx}$ ) na mesma sessão, realizados 3 vezes semanais, durante 16 semanas. Espera-se que com o programa de TC proposto

**Endereço:** Rua Tessália Vieira de Camargo, 126  
**Bairro:** Barão Geraldo **CEP:** 13.083-887  
**UF:** SP **Município:** CAMPINAS  
**Telefone:** (19)3521-8938 **Fax:** (19)3521-7187 **E-mail:** cep@fcm.unicamp.br

## ANEXO 2 – Emenda Comitê de Ética



**PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP**

**DADOS DA EMENDA**

**Título da Pesquisa:** RESPOSTAS DO TREINAMENTO COMBINADO SOBRE A INFLAMAÇÃO, FATORES METABÓLICOS E MARCADORES SÉRICOS, MOLECULARES E DE IMAGEM RELACIONADOS AO TECIDO ADIPOSEO MARROM E BROWNING DO TECIDO ADIPOSEO BRANCO EM INDIVÍDUOS SAUDÁVEIS, COM EXCESSO DE PESO E DIABETES TIPO 2.

**Pesquisador:** Cláudia Regina Cavaglieri

**Área Temática:**

**Versão:** 4

**CAAE:** 55952516.6.0000.5404

**Instituição Proponente:** Faculdade de Educação Física

**Patrocinador Principal:** Financiamento Próprio

**DADOS DO PARECER**

**Número do Parecer:** 2.030.070

**Apresentação do Projeto:**

**Resumo:** O objetivo do presente estudo será verificar o efeito do treinamento combinado sobre inflamação, fatores metabólicos e marcadores séricos, moleculares e de imagem relacionados ao tecido adiposo marrom (TAM) e browning do tecido adiposo branco (TAB) de indivíduos com excesso de peso diabéticos tipo 2 e as diferenças nas respostas agudas e crônicas destas variáveis entre indivíduos saudáveis, com excesso de peso e diabetes tipo 2. A amostra será composta por indivíduos saudáveis, com excesso de peso e diabetes tipo 2, de ambos os sexos e índice de massa corporal (IMC) entre 18,5-34,9 kg/m<sup>2</sup>, distribuídos em grupo controle com diabetes tipo 2 (GCd; n=15), grupo controle com excesso de peso (GCo n=15), grupo controle saudável (GCs n=15), grupo treinamento combinado com diabetes tipo 2 (TCd; n= 15), grupo treinamento combinado saudáveis (TCs, n=15), grupo treinamento combinado com excesso de peso (TCo, n=15). Nos momentos pré e pós-período experimental serão realizadas análises funcionais (força muscular, aptidão aeróbia e taxa metabólica de repouso), de composição corporal (Pletismografia), bioquímicas (clínicos básicos, incretinas, metabólica, inflamatórios e estimulantes de TAM e browning), imagem (Tomografia por Emissão de Pósitrons acoplado a Tomografia

**Endereço:** Rua Tessália Vieira de Camargo, 126

**Bairro:** Barão Geraldo

**CEP:** 13.083-887

**UF:** SP

**Município:** CAMPINAS

**Telefone:** (19)3521-8936

**Fax:** (19)3521-7187

**E-mail:** cep@fcm.unicamp.br

## ANEXO 3 – Clinical Trial

08/11/2017

Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos


 USUÁRIO: ivanlpb | SUBMISSÕES: 001 | PENDÊNCIAS: 000 | Perfil Painel | SAIR 

PT | ES | EN

NOTÍCIAS | SOBRE | AJUDA | CONTATO

[BUSCA AVANÇADA](#)

[HOME](#) / [ENSAIOS REGISTRADOS](#) /

**RBR-62n5qn**

**Respostas do treinamento combinado sobre a inflamação, fatores metabólicos e marcadores séricos, moleculares e de imagem relacionados ao tecido adiposo marrom e browning do tecido adiposo branco de indivíduos saudáveis, com excesso de peso e Diabetes tipo 2**

Data de registro: 13 de Set. de 2017 às 14:52

Last Update: 1 de Nov. de 2017 às 12:15

**Tipo do estudo:**

Intervenções

**Título científico:**

**PT-BR**  
 Respostas do treinamento combinado sobre a inflamação, fatores metabólicos e marcadores séricos, moleculares e de imagem relacionados ao tecido adiposo marrom e browning do tecido adiposo branco de indivíduos saudáveis, com excesso de peso e Diabetes tipo 2

**EN**  
 Combined training answers on inflammation, metabolic factors and serum, molecular and image markers related to brown adipose tissue and browning of white adipose tissue in healthy individuals, with overweight and type 2 Diabetes

**Identificação do ensaio**

Número do UTM: U1111-1202-1476

**Título público:**

**PT-BR**  
 Respostas do treinamento físico sobre o metabolismo e gordura corporal de indivíduos com peso normal, em excesso e Diabetes tipo 2

**EN**  
 Physical training answers on metabolism and body fat of individuals with normal weight, overweight and type 2 Diabetes

**Acrônimo científico:****Acrônimo público:****Identificadores secundários:**

2.030.070

Órgão emissor: Comitê de Ética em Pesquisa da UNICAMP - Campus Campinas

55952516.6.0000.5404

Órgão emissor: Plataforma Brasil

**Patrocinadores**

Patrocinador primário: Faculdade de Educação Física da Universidade Estadual de Campinas

**Patrocinadores secundários:**

<http://www.ensaioclinicos.gov.br/rg/RBR-62n5qn/>

1/9