

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NUTRIÇÃO

ALISSON HENRIQUE MARINHO DE LIMA

RESPOSTAS METABÓLICAS DE ATLETAS DE FUTEBOL JUNIORES: UMA ABORDAGEM
METABOLÔMICA

(Volume 1)

MACEIÓ

2021

ALISSON HENRIQUE MARINHO DE LIMA

RESPOSTAS METABÓLICAS DE ATLETAS DE FUTEBOL JUNIORES: UMA
ABORDAGEM METABOLÔMICA

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Nutrição da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Nutrição.

Orientador: Prof. Dr. Gustavo Gomes de Araujo

Co-Orientadora: Prof^ª. Dr^ª. Thays de Ataíde e Silva

MACEIÓ

2021

Catálogo na fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

- L732r Lima, Alisson Henrique Marinho de.
 Respostas metabólicas de atletas de futebol juniores : uma abordagem
 metabolômica / Alisson Henrique Marinho de Lima. – Maceió, 2021.
 87 f. : il.
- Orientador: Gustavo Gomes de Araújo.
Co-orientadora: Thays de Ataíde e Silva.
Dissertação (Mestrado em Nutrição) – Universidade Federal de Alagoas.
Faculdade de Nutrição. Programa de Pós-Graduação em Nutrição. Maceió,
2021.
- Bibliografia: f. 60-68.
Apêndices: f. 70-79.
Anexo: f. 81-87.
1. Desempenho atlético. 2. Bioquímica. 3. Ciências da nutrição e do
esporte. 4. Carga interna (Educação física e treinamento). I. Título.

CDU: 796.015

MACEIÓ

2021

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer à Deus por tudo, acredito que sem ele não teria conseguido perseverar durante todo o processo do mestrado e acreditar que seria possível concluir. Posteriormente, gostaria de agradecer aos meus amigos da graduação, principalmente, Yasllan Moura, Ana Letícia e Maria Isabel pela paciência e apoio.

Gostaria de agradecer aos meus amigos de grupo de estudos, que são muitos (já brincaram comigo sobre isso) pelas piadas e momentos de apoios, foram essenciais. Dentre eles, Karol, Ciane, Rubens, Eduardo, Luisa, Lucas e Joyce (GETE), Higor, Victor, Vitor, Maryssa, Jean, Julia, Natally e Sara (GPCAE), Palloma e Marianna (LANEFE), Pamela, Ana Karla e Gisa (GPPH). Aos meus amigos de mestrado Elaine, Gaby, Jeniffer, Fernanda, Amanda e Luiza. Não poderia esquecer de agradecer aos funcionários do IEFE (Manuel, Severino, Caju, Ninha e Tia Severina) que sempre estavam dispostos a me ajudar com os espaços do instituto. Obrigado por tudo!

Aos meus professores, Prof. Dr. Pedro Balikian Jr que foi o primeiro a acreditar em mim e me guiar, apesar das loucuras e milhões de informações ao mesmo tempo. Ao Prof. Dr. Filipe Sousa e sua esposa Prof.^a Dr^a Natalia Rodrigues, pois foram sempre solícitos em tudo e sempre me ensinaram várias técnicas e conteúdos com muita paciência. Agradeço a Prof.^a Dr^a. Thays de Ataíde e Silva (minha coorientadora) que, desde a primeira reunião, acreditou e me fez acreditar que eu teria condições de finalizar bem o meu mestrado. Agradecer ao Prof. Dr. Adriano Eduardo Lima e Silva que, apesar das piadas horríveis, me ensinou muito e foi muito importante ao longo da minha formação na pós-graduação. Ao Prof. Dr. Gustavo Gomes de Araújo (meu orientador), sempre transparente e muito honesto em suas decisões, puxões de orelha e conselhos. Lembro de um questionamento que fiz (questão boba), o qual ele me respondeu: “a resposta tá aqui”, tirou um livro da bolsa e me deu. Sei que essa atitude não foi para desmerecer, mas para mostrar que podemos achar a resposta para várias perguntas com a leitura de livros e artigos.

Por fim, gostaria de agradecer à minha família por todo apoio. Em especial ao meu irmão Adsson que sempre me ajudou, do seu jeito, durante minha vida acadêmica. Além disso, sou grato aos meus avós Cicero Moreira e Maria Silvana pelos incentivos e por me fazerem acreditar em meus sonhos. Agradecer, eternamente, aos meus pais Adilson de Lima e Rosiane Marinho de Lima não tenho palavras para descrever tudo que fizeram por mim, amo vocês!!

RESUMO

Observar os impactos metabólicos advindos de uma partida de futebol é de grande interesse na comunidade científica porque pode auxiliar na sistematização tanto de estratégias para otimizar a recuperação muscular pós exercício, quanto do treinamento para melhorar, ainda mais, as capacidades físicas dos atletas. Tais alterações ocorrem devido aos vários movimentos realizados ao longo do jogo, os quais, a depender da posição e participação do atleta na partida, podem acontecer em maiores ou menores proporções. Esses diferentes impactos podem ser observados, por meio de uma avaliação dos metabólitos presentes na urina, pela metabolômica, assim como utilizando as respostas perceptivas como a percepção subjetiva de esforço (PSE). Deste modo, pretendendo contribuir com a utilização desses métodos no âmbito esportivo o presente estudo apresenta um capítulo de revisão, abordando o panorama geral da metabolômica e sua aplicação no exercício, além da utilização da PSE para observar as respostas perceptivas após o exercício físico. Além disso, a presente dissertação também apresenta um artigo experimental com a utilização da técnica metabolômica aliada a PSE, com o objetivo de avaliar o impacto metabólico de duas partidas de futebol por meio da metabolômica e PSE em atletas juniores de uma equipe de futebol da série A do Campeonato Brasileiro.

Palavras-chave: Desempenho atlético, Bioquímica, Ciências da nutrição e do esporte, Carga interna.

ABSTRACT

Observing the metabolic impacts arising from a football match is of great interest to the scientific community. Such changes are due to the movements made during the game, in which they can occur in different magnitudes. This magnitude can be observed, through an evaluation of the metabolites present in the urine, by the metabolomics, as well as through perceptual responses such as the rating of perceived exertion (RPE). Thus, aiming to contribute to the use of these methods in sports, this study presents a review chapter, addressing the general overview of metabolomics and its application in exercise, in addition to the use of RPE to observe perceptual responses after physical exercise. Besides, the present dissertation also presents an experimental article using the metabolomics technique combined with RPE, in which has the aim is to evaluate the metabolic impact of two football matches through metabolomics and RPE tools in young athletes of a first division soccer team of the Brazilian championship.

Keywords: Performance. Biochemistry. Sports and nutrition science. Internal load.

SUMÁRIO

| | | |
|-----------|--|-----------|
| 1. | INTRODUÇÃO GERAL | 9 |
| 2. | REVISÃO DE LITERATURA..... | 12 |
| 2.1. | Metabolômica | 13 |
| 2.2. | Metabolômica e exercício..... | 15 |
| 2.2.1. | Exercícios de longa duração | 16 |
| 2.2.2. | Exercício de curta duração | 23 |
| 2.2.3. | Exercício Crônico | 26 |
| 2.3. | Percepção subjetiva de esforço..... | 28 |
| 3. | ARTIGO CIENTÍFICO PRINCIPAL | 32 |
| 3.1. | Introduction | 35 |
| 3.2. | Material and Methods..... | 37 |
| 3.2.1. | Participants | 37 |
| 3.2.2. | Experimental Design | 38 |
| 3.2.3. | Group division | 39 |
| 3.2.4. | Anthropometry | 39 |
| 3.2.4. | Yo-yo intermittent endurance test level 1..... | 40 |
| 3.2.5. | Metabolomics Analysis | 40 |
| 3.3. | Statistical analysis | 41 |
| 3.4. | Results | 42 |
| 3.5. | Discussion..... | 48 |
| 3.6. | Conclusion..... | 53 |
| 3.7. | References | 54 |
| 4. | REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 60 |
| 5. | APÊNDICES | 70 |
| | TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (T.C.L.E.) | 71 |
| | TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (T.C.L.E.) | 75 |
| | TERMO DE ASSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (T.A.L.E.) | 78 |
| 6. | ANEXOS | 81 |

1. INTRODUÇÃO GERAL

O futebol é um esporte que, ao longo de sua partida, requer a realização de uma série de movimentos como acelerações, desacelerações, saltos e *sprints*, movimentos esses responsáveis por alterações metabólicas de magnitudes diferentes nos atletas. Investigar os impactos fisiológicos, bioquímicos e metabólicos advindos de uma determinada tarefa em uma prática comum na ciência esportiva, (JAMNICK et al., 2020). No futebol não é diferente, geralmente são investigados o estresse fisiológico mensurando biomarcadores (creatina quinase, lactato, lactato desidrogenase, fosfato de creatina) (BANGSBO; IAIA; KRUSTRUP, 2007), além de variáveis de desempenho (saltos verticais, *sprints*, contração voluntária máxima) que podem ser utilizadas como indicadores de magnitude do estresse fisiológico (SILVA et al., 2018). Contudo, as medidas supracitadas podem simplificar os fenômenos fisiológicos e bioquímicos do corpo humano, pois o mesmo possui uma rede complexa de interações entre os sistemas orgânicos, as quais precisam ser compreendidas por meio de um ponto de vista amplificado e com maior precisão (GOMES et al., 2020).

Deste modo, as ciências ômicas (genômica, transcriptômica, proteômica e metabômica) podem contribuir, com investigações mais globais, à respeito da influência do exercício físico sobre o organismo (NICHOLSON; WILSON, 2003). Dentre elas, a metabômica vem sendo explorada no exercício (BONGIOVANNI et al., 2019). A metabômica tem por definição a junção dos termos *metaboloma* (conjunto das moléculas de baixa densidade, ou seja, dos metabólitos) e “*Omics*” (advindo das ciências ômicas, anteriormente citada) (CANUTO et al., 2018). Essa análise permite a identificação e quantificação, por meio de técnicas como ressonância magnética nuclear (RMN) ou espectrometria de massas aliados a modelos estatísticos multivariados (HEANEY et al., 2017), de pequenas moléculas de baixa densidade (metabólitos) provenientes das reações químicas do corpo presentes no sangue, saliva, urina e suor (BONGIOVANNI et al., 2019).

Duas revisões sistemáticas, mostraram que o uso da metabômica foi capaz de identificar ~300 metabólitos relacionados a glicólise, lipólise, ciclo de Krebs, acilcarnitinas, proteínas e carboidratos em exercícios de várias intensidades e duração (SAKAGUCHI et al., 2019) e 196 metabólitos, dentre eles lactato, piruvato, intermediários do ciclo de krebs, ácidos graxos e corpos cetônicos após exercícios de resistência e resistido (SCHRANNER et al., 2020). Apresentando a robustez da técnica quando aplicada ao exercício. Porém, apesar de suas vantagens, a aplicação da metabômica ainda é escassa no futebol. Apenas dois estudos utilizaram tal técnica para avaliar alterações metabólicas nessa modalidade, onde foram analisadas as repostas bioquímicas presentes na saliva ao final de três partidas consecutivas de futebol feminino (RA et al., 2014) e a sua aplicação no monitoramento de

carga interna de treinamento, por meio da coleta de urina, com o objetivo de prevenção de lesão (QUINTAS et al., 2020). Assim, é necessário mais investigações à respeito de seu uso no futebol. Contudo, deve ser levado em consideração que essa técnica requer um alto nível de treinamento e investimento, explicando sua utilização limitada no futebol.

Uma ferramenta bastante acessível e de fácil aplicação é a escala de percepção subjetiva de esforço (PSE) (BORG, 1982). Ela é uma escala de 15 scores (BORG 6-20) ou 10 (BORG CR-10) que permite avaliar, com base em respostas subjetivas, a sensação de esforço (BORG, 1982). Isso é devido a sua correlação com alguns marcadores fisiológicos de esforço como lactato sanguíneo e frequência cardíaca (BORG; HASSMÉN; LAGERSTRÖM, 1987; NEELY et al., 1992; NOBLE et al., 1983; STEED; GAESSER; WELTMAN, 1994). No futebol, a PSE é constantemente utilizada para analisar os impactos físicos de uma partida de futebol ou sessões de treinamento no futebol (COUTTS et al., 2009; IMPELLIZZERI et al., 2004). Além disso, a PSE também foi utilizada em outras modalidades como pólo aquático (LUPO; CAPRANICA; TESSITORE, 2014) e esportes de combate (HADDAD et al., 2011; SLIMANI et al., 2017). Assim, a PSE parece ser uma boa ferramenta quando o objetivo é analisar a percepção da carga imposta por determinado exercício físico.

Deste modo, observando que os impactos metabólicos podem ser analisados por meio da metabolômica, assim como das respostas subjetivas (PSE), é de grande interesse investigar se as ferramentas se complementam a respeito dos estresses físicos advindos de uma partida de futebol. Para o nosso conhecimento nenhum estudo utilizou as duas ferramentas com objetivo de diferenciar as respostas de um determinado exercício físico. Assim, o estudo tem por objetivo avaliar o impacto metabólico de uma partida de futebol utilizando ferramenta objetiva (metabolômica) e subjetiva (PSE). Nossa hipótese é que os atletas com maiores valores de percepção de esforço, obtido pela avaliação da PSE, apresentem maiores alterações metabólicas.

2. REVISÃO DE LITERATURA

MARINHO, AH; SILVA, TA; ARAUJO, GG.

2.1. Metabolômica

Há muito tempo, a busca pela compreensão das respostas orgânicas é de grande interesse na comunidade científica (KUSONMANO; VONGSANGNAK, 2016). Porém, as análises de biofluidos (sangue, saliva, urina, suor, fezes e líquido cérebro-espinhal) para compreender os efeitos de uma dada intervenção ou condição patológica nos processos bioquímicos dos indivíduos, ocorriam numa abordagem reducionista (MUSHTAQ et al., 2014), uma vez que se limitava em algumas moléculas a conclusão das complexas interações metabólicas do organismo humano (KADDURAH-DAOUK; KRISTAL; WEINSHILBOUM, 2008; MUSHTAQ et al., 2014). Deste modo, as ciências ômicas (genômica, transcriptômica, proteômica e metabolômica) podem contribuir, por meio de investigações mais globais do organismo (NICHOLSON; WILSON, 2003)

Dentre essas ciências, a metabolômica tem sido bastante relevante na comunidade científica (JOHNSON; IVANISEVIC; SIUZDAK, 2016). Ela consiste do estudo de um conjunto e composição de pequenas moléculas (ou seja, metabólitos) num dado sistema de interesse (JOHNSON; IVANISEVIC; SIUZDAK, 2016). Os metabólitos são subprodutos, de baixo peso molecular, provenientes das diversas reações bioquímicas (degradação e/ou síntese de moléculas/tecidos/células) do corpo humano (HEANEY et al., 2017; KUSONMANO; VONGSANGNAK, 2016). Por meio da análise desses subprodutos, é possível alcançar conclusões acerca dos impactos fisiológicos que alguma intervenção, seja nutricional ou terapêutica, desencadeou no indivíduo (DUNN; ELLIS, 2005; KOAY et al., 2020).

O avanço tecnológico permitiu implantar uma técnica que avalia quantitativamente, assim como qualitativamente, os metabólitos dos organismos, denominada metabolômica (KUSONMANO; VONGSANGNAK, 2016). A metabolômica é uma ciência multidisciplinar que busca detalhar, de maneira integrada, as respostas bioquímicas das diferentes vias metabólicas (TRIVEDI; HOLLYWOOD; GOODACRE, 2017). Para tanto, devem ser utilizadas metodologias, suficientemente, robustas para observar o maior número possível de metabólitos (KADDURAH-DAOUK; KRISTAL; WEINSHILBOUM, 2008), assim, obtendo uma representatividade próxima do real fenômeno metabólico do organismo investigado.

Dentre as técnicas analíticas utilizadas, duas são bastante conhecidas. A primeira análise é a espectroscopia de Ressonância Magnética Nuclear (RMN), a qual avalia a interação entre o biofluido selecionado (sangue, saliva, urina, suor, fezes e líquido cérebro-espinhal), um forte campo eletromagnético gerado pelo aparelho e pulsos de radiofrequência, permitindo a separação e identificação de metabólitos em uma dada amostra (HEANEY et al.,

2017). A segunda, a Espectrometria de massas (EM), ioniza os metabólitos e os separa de acordo com as razões massa/carga de cada subproduto (HEANEY et al., 2017). A escolha da metodologia que será aplicada depende das condições estruturais bem como metodológicas de cada uma das técnicas, pois, tanto a RMN, assim como a EM possui vantagens e desvantagens quando comparadas entre si (EMWAS, 2015).

A RMN necessita de um tempo de preparação menor para as amostras que serão analisadas, possui uma reprodutibilidade alta, consegue identificar ~40 a 200 metabólitos (dependendo da resolução do espectro), além de permitir que o pesquisador avalie mais de uma vez as amostras coletadas, porém, essa ferramenta tem uma baixa seletividade e sensibilidade nas análises, tornando difícil, em alguns momentos, a interpretação dos dados (EMWAS, 2015). Por outro lado, EM requer um tempo mais prolongado para preparar as amostras, tem menor reprodutibilidade e as amostras são destruídas durante as análises; contudo, essa técnica consegue identificar mais que 500 metabólitos (EMWAS, 2015). Então, ambas as técnicas possuem vantagens e desvantagens, cabendo ao pesquisador escolher a melhor metodologia para o atual contexto de sua pesquisa (KADDURAH-DAOUK; KRISTAL; WEINSHILBOUM, 2008).

Além disso, existem dois tipos de estratégias para identificar metabólitos, são as denominadas *targets/metabolic profiling* e *untargets/metabolic fingerprinting strategies* (HEANEY et al., 2017; JOHNSON; IVANISEVIC; SIUZDAK, 2016). A primeira busca analisar moléculas pré-selecionadas pelos pesquisadores de acordo com as possíveis repostas, processos ou vias metabólicas que regulam uma ou mais funções biológicas esperadas (HEANEY et al., 2017). Para tanto, os pesquisadores utilizam kits comerciais, nos quais reagem aos metabólitos específicos (ou seja, moléculas relacionadas ao metabolismo oxidativo, processo de glicolítico e etc). A segunda estratégia (*untarget/metabolic fingerprinting*) avalia, de maneira global, os processos bioquímicos do organismo como um todo (HEANEY et al., 2017). Tal análise não seleciona metabólitos antecipadamente e visa uma seleção da maior quantidade de metabólitos possível, para uma posterior análise dos impactos metabólicos de uma dada intervenção. Então, os pesquisadores podem ou não direcionar as análises para substâncias conhecidas de acordo com o objetivo da sua pesquisa, uma vez que seja pertinente observar diretamente ou de maneira ampla um dado fenômeno biológico.

Após as coletas de um alto volume e dimensão de dados, se faz necessário processar, analisar e interpretar todo o material, com o objetivo de extrair as informações pertinentes dos dados. Para tanto, algumas funções estatísticas multivariadas como análise dos componentes

principais (PCA), assim como análise discriminante ortogonal por mínimos quadrados parciais (OPLS-DA), são utilizadas para classificar, discriminar e correlacionar os metabólitos presentes nas amostras (ALIFERIS; JABAJI, 2010). A PCA é usada com objetivo de permitir ao pesquisador a identificação do padrão dos dados (KUSONMANO; VONGSANGNAK, 2016). Para isso, é necessária uma melhor visualização dos dados, devido ao grande volume de dados coletados, torna-se necessário realizar uma redução na dimensão dos dados. Esse método busca um subespaço unidimensional que capture a maior variância dos dados, cujo é denominado primeiro componente principal. Cada componente principal possui a informação acerca da variação total dos dados. Assim, primeiramente é criado um subespaço unidimensional, quando a variância não é totalmente obtida, outros subespaços (dois ou três) são criados e direcionados a variância remanescente. Então quando os dois ou três subespaços unidimensionais são criados, a melhor projeção das variâncias dos subespaços criados é usada como componente principal. Assim, a PCA é necessária para facilitar, ao olhar humano, a visualização das diferenças e similaridades dos dados (KUSONMANO; VONGSANGNAK, 2016). Além disso, outra técnica é utilizada no processo de análise, chamada de OPLS-DA. A OPLS-DA é uma versão aprimorada da PLS-DA, que busca discriminar dois grupos numa dada avaliação de interesse (BYLESJÖ et al., 2006). Essa análise busca encontrar uma relação entre as variáveis independentes “x” a variáveis dependentes “y”. Além disso, ela permite, utilizando algoritmos matemáticos, maximizar a variância em “y” que pode ser explicado por “x” (KUSONMANO; VONGSANGNAK, 2016). De maneira geral, A OPLS-DA procura relacionar de maneira linear as variáveis preditoras e repostas de interesse, além de separar de maneira clara dos momentos/classes coletados, deixando mais fácil a visualização dos dados para o pesquisador.

2.2. Metabolômica e exercício

O frequente engajamento em modalidades esportivas, assim como exercícios físicos, gera uma grande variedade de estresses metabólicos, que por sua vez, desencadeiam processos fisiológicos adaptativos de curto e/ou longo prazo, objetivando atender as novas demandas impostas por tais práticas esportivas (BONGIOVANNI et al., 2019).

Geralmente na comunidade da ciência do esporte as respostas fisiológicas inerentes ao exercício físico, de acordo com produto de intensidade e volume, eram/são observadas dos diferentes distúrbios homeostáticos do organismo, tais como acúmulo de alguns metabólitos [ex.: ácido lático, fosfato inorgânico (Pi), H⁺, adenosina difosfato, amônia e etc.], cinéticas

on/off do consumo de oxigênio (VO_2) e *turnover* de energia muscular (JAMNICK et al., 2020). Contudo, essas respostas específicas limitam e, até certo ponto, podem enviesar a compreensão de todas as alterações orgânicas que um simples exercício ou um programa de treino desencadeia nos indivíduos (BONGIOVANNI et al., 2019). Então, como o corpo humano possui uma rede complexa de processos sistêmicos interligados (HALL, 2017), é necessária uma análise ampla de todos os possíveis resultados das complexas interações metabólicas ocorridas durante o exercício (HEANEY et al., 2017).

Dito isto, alguns pesquisadores estão utilizando uma abordagem bioquímica denominada de metabolômica (TRIVEDI; HOLLYWOOD; GOODACRE, 2017) para observar centenas de metabólitos (HEANEY et al., 2017; SCHRANNER et al., 2020), após um determinado exercício físico (HØEG et al., 2020; SAKAGUCHI et al., 2019). Dentro do contexto esportivo essa abordagem é conhecida como *sportomics*, na qual se utiliza da técnica metabolômica para observar o comportamento dos metabólitos e, assim, interpretar como o foi impacto metabólico de uma dada tarefa (BONGIOVANNI et al., 2019).

Levando em consideração que as repostas metabólicas divergem de acordo com a duração e intensidade do exercício físico ou modalidade executada (SAKAGUCHI et al., 2019), bem como é de interesse comum na comunidade científica avaliar, de maneira global e integrada, as interações bioquímicas resultantes de cada exercício (BONGIOVANNI et al., 2019) vários pesquisadores analisaram as repostas dos processos bioquímicos aos impactos de exercícios de longa ou curta duração.

2.2.1. Exercícios de longa duração

A compreensão das respostas metabólicas que melhor representam os impactos no organismo após eventos esportivos de longa duração, ou seja, exercícios com uma duração superior a 60 minutos (DAVIS et al., 2005; DURSTINE et al., 2001), pode ser de interesse para o público que realiza atividades com essa duração como maratonas, tour de ciclismo, triatlos ou ultramaratonas. Um dos primeiros estudos dentro dessa temática avaliou em 15 corredores de longa distância treinados (H= 7 e M= 8) as alterações metabólicas séricas em amostras sanguíneas, com o uso da cromatografia gasosa e líquida em conjunto da espectrometria de massa, imediatamente e 14 horas após, por três dias consecutivos de corrida em esteira por 2,5 horas a 70% VO_{2max} por dia (NIEMAN et al., 2013a). Os autores apresentaram que imediatamente após os três dias de exercícios, 70 metabólitos dobraram suas concentrações, nos quais foram relacionados ao metabolismo dos lipídios, carboidratos,

aminoácidos, sistemas energéticos, vitaminas e cofatores. Além disso, após 14 horas do término do exercício 50 metabólitos ainda permaneceram alterados. Tais subprodutos foram relacionados ao metabolismo dos lipídios, aminoácidos, vitaminas e cofatores. Então, é percebido que o exercício prolongado apresenta uma demanda metabólica aguda (ou seja, imediatamente após) mais pronunciada no metabolismo dos lipídios e proteínas. Além do mais, tais alterações ainda permanecem elevadas mesmo 14 horas do fim do exercício.

Seguindo o raciocínio de investigar as respostas bioquímicas do exercício prolongado, porém com recursos nutricionais. Um estudo, utilizando as técnicas de cromatografia gasosa e líquida, avaliou as respostas relacionadas a processos inflamatórios e de estresse oxidativo em amostras sanguíneas ao final de 3 dias consecutivos de uma corrida em esteira por 2,5 horas a 70% VO_2 max por dia, após 17 dias de suplementação com 40 g de complexo polifenol de proteína de soja sobre as durante (NIEMAN et al., 2013b). Para tanto, 35 sujeitos foram separados em grupo suplemento (n= 16; H= 11 e M= 5) e grupo placebo (n= 15; H= 7 e M= 8). Os resultados mostraram que três dias de exercício prolongado provocou um estresse fisiológico, inflamatório e oxidativo, entretanto, os valores não foram diferentes entre os grupos.

Ainda buscando avaliar os efeitos da suplementação no exercício prolongado, um estudo, usando a técnica espectrometria de massa aliada à técnica de cromatografia de líquido e gás, investigou as respostas metabólicas no sangue de 19 ciclistas bem treinados após uma prova contra-relógio de 75 km antecedida de duas semanas suplementando com pistache ($85 \text{ g} \cdot \text{d}^{-1}$) (NIEMAN et al., 2014a). Os autores observaram que na condição suplementada os sujeitos terminaram o protocolo de exercício em maior tempo comparado a condição placebo ($2,84 \pm 0,11$ e $2,71 \pm 0,07$ horas, respectivamente), além de apresentarem níveis elevados de 19 metabólitos relacionados ao metabolismo dos carboidratos, proteínas/aminoácidos, lipídios, leucotóxico, estresse oxidativo, composição do suplemento pistache e secundários dos ácidos biliares (NIEMAN et al., 2014a). Assim, tais resultados mostram o quão complexo é a interação metabólica em resposta a um exercício de tal característica.

Seguindo a linha de raciocínio para entender as respostas dos processos bioquímicos ao exercício prolongando, um grupo de pesquisadores mostrou que após um teste contra-relógio de 75 km de ciclismo com 19 ciclistas treinados, utilizando as técnicas de espectrometria de massa em conjunto da cromatografia de líquida e gás, os níveis de metabólitos relacionados ao metabolismo do ácido linoléico apresentaram-se elevados no sangue em relação ao momento pré-exercício (NIEMAN et al., 2014b), esse ácido representa uma das fontes primárias de ácidos graxos no tecido adiposo a ser utilizado durante o

exercício intenso e de longa duração. Outro resultado importante nesse estudo foi um aumento nos níveis de 13 - HODE + 9 - HODE, 9,10 DIHOME e 12,13 DIHOME quando comparamos ao momento pré, nos quais são relacionados a efeitos tóxicos e oxidativos no organismo, podendo até inibir função mitocondrial (NIEMAN et al., 2014b).

Ra e colaboradores (2014) propuseram-se investigar os impactos metabólicos de três dias consecutivos, um jogo por dia, com partidas de futebol. Para tanto, os autores avaliaram, em 37 jogadores de futebol fadigados, as concentrações de metabólitos na saliva, com a técnica espectrometria de massas aliada a cromatografia líquida, antes e após cada partida de futebol com duração de 90 minutos. O grupo identificou 144 metabólitos durante o estudo, porém, apenas 12 subprodutos apresentaram alterações entre os momentos pré e pós-jogos. Tais metabólitos alterados estão envolvidos com o metabolismo da glicose, proteínas e componente do músculo esquelético. Assim, parece que três dias consecutivos de jogos pode causar um impacto metabólico elevado no organismo, além disso, é possível notar que dentre os metabólitos presentes a maioria estão relacionados ao metabolismo protéico, no qual pode representar um alto índice de catabolismo nos atletas (RA et al., 2014).

Ainda observando as respostas em partidas de futebol, foram analisadas as respostas metabólicas presentes na saliva após um jogo de futebol em 17 atletas de futebol feminino utilizando a técnica de RMN (PITTI et al., 2019). As atletas foram divididas em quatro grupos, um grupo que jogou a partida inteira (n=8), entrou no decorrer do jogo (n=3), saíram no decorrer do jogo (n=3) e não entram no jogo (n=3). Após uma partida de futebol foram detectados alterações em metabólitos relacionados a hidratação, metabolismo energético, metabolismo das proteínas e intermediários do ciclo de Krebs. Além disso, os autores apresentaram que essas respostas foram mais acentuadas no grupo que jogou a partida inteira quando comparado aos outros grupos. Assim, é possível observar os diferentes impactos do jogo em atletas com as diferentes demandas durante a mesma partida, além de enfatizar a sensibilidade da técnica em identificar tais respostas.

Durante exercícios de longa duração, para evitar o desenvolvimento precoce de fadiga, é bastante comum entre atletas profissionais e/ou amadores a ingestão de recursos ergogênicos nutricionais ao longo da prova (JEUKENDRUP, 2011). Dito isto, é de se esperar compreender como é o comportamento bioquímico com a utilização de recursos ergogênicos nutricionais durante uma prova. Um estudo avaliou o desempenho, bem como a resposta metabólica, de 20 ciclistas treinados após uma prova de 75 km de ciclismo em três condições diferentes, onde em uma das situações os atletas consumiam a água (3 mL.kg), banana (0,15 g.kg) ou pêra (0,15 g.kg) cada 15 minutos do protocolo de exercício (NIEMAN

et al., 2015). Os resultados mostraram que o tempo para concluir o teste foi mais rápido com a ingestão de banana (5,5%) e pêra (3%) quando comparado a ingestão de água. Em relação aos resultados das metabólômica, foi observado o aumento de 107 metabólitos imediatamente pós-exercício no momento ingestão de água. Porém, quando comparado as condições água e ingestão de banana, 13 metabólitos envolvidos nos processos bioquímicos dos carboidratos, proteínas, e xenobióticos aumentaram com o consumo de banana. Na condição em que os sujeitos ingeriram pêra, foi observado que dos 17 metabólitos, seis foram relacionados ao metabolismo dos carboidratos, dois das proteínas, um dos lipídios e sete relacionados à xenobióticos apresentaram maiores valores em comparação a ingestão de água. Assim, parece que ingestão de banana e pêra durante provas de longa duração pode melhorar o desempenho, além de apresentar respostas metabólicas diferenciadas entre os suplementos utilizados. Do ponto de vista da ciência do esporte é bastante relevante, uma vez que torna mais clara a contribuição dos alimentos citados no exercício, que por fim facilita na escolha da melhor substância a ser utilizada para uma dada modalidade.

Ainda na linha de compreender as repostas bioquímicas, outro estudo observou a associação das concentrações plasmáticas de Interleucina-6 (IL-6) e metabólitos relacionados ao metabolismo lipídico, através de biópsia muscular do vasto lateral e coletas de sangue analisados por cromatografia líquida aliada a espectrometria de massas, em 24 homens treinados após uma corrida até a exaustão a 70% do VO_2max (duração de ~2 horas) (NIEMAN; SHA; PAPPAN, 2017). Os resultados mostraram que após o exercício a concentração plasmática de IL-6 aumentou 39x em relação ao pré. Além disso, foram identificados 380 metabólitos com relação ao metabolismo lipídico, contudo, apenas 45 subprodutos apresentaram mudanças entre 1,75x – 2,0x, quando comparado ao pré. Por fim, os pesquisadores encontraram uma modesta associação entre o tempo até exaustão e o aumento de metabólitos advindos do metabolismo lipídico e as concentrações de IL-6. Os autores sugerem que, apesar de existir uma relação moderada entre IL-6 e dois metabólitos do sistema lipídico após um exercício de longa duração e alta-intensidade, o envolvimento entre ambos os subprodutos não possui suporte suficiente para ser consolidado na literatura.

Em algumas provas os atletas realizam exercícios em ambientes com diferentes níveis de hipóxia (moderada ou elevada altitudes), nos quais apresentam repostas fisiológicas diferentes quando comparadas ao nível do mar (BURTSCHER et al., 2018). Neste sentido, foram avaliadas respostas metabólicas, por meio da cromatografia líquida em acoplada espectrometria de massas, em 24 homens saudáveis após o exercício de corrida em esteira motorizada por uma hora a 75% do VO_2max em moderada hipóxia [fração inspirada de

oxigênio ($F_iO_2 = 0,16\%$) ou normóxia ($F_iO_2 = 0,21\%$) (DAVISON et al., 2018). Após o exercício houve um aumento de 24 metabólitos relacionados ao metabolismo dos lipídios independente da condição de oferta de oxigênio (hipóxia ou normóxia) que o sujeito realizou o teste de corrida. Vale à pena ressaltar que apesar da literatura apontar que o exercício em condições de hipóxia altera as respostas fisiológicas nos indivíduos (BURTSCHER et al., 2018), parece que, do ponto de vista bioquímico, não existe um padrão diferente dos impactos metabólicos em ambientes com diferente disponibilidade de oxigênio.

Ainda em relação às respostas fisiológicas em condições extremas, porém, em situações de normóxia, a participação em algumas modalidades extremas como maratonas (42,2 km) também foram investigadas. Um estudo, utilizando a técnica cromatografia gasosa aliada à espectrometria de massas, observou que após a prova um total de 70 metabólitos plasmáticos relacionados ao metabolismo dos carboidratos, lipídios e proteínas foi alterado significativamente em relação ao repouso em 31 atletas maratonistas (19 homens e 12 mulheres) (STANDER et al., 2018). Curiosamente, usando a mesma técnica de análise, outro estudo apresentou um número menor de metabólitos alterados (10 metabólitos) em 20 atletas após a corrida de 42,2 km, nos quais quatro foram relacionados ao metabolismo dos lipídios e seis as proteínas (SHI et al., 2020).

Ainda avaliando as respostas metabólicas de uma maratona, 80 atletas maratonistas foram subdivididos em três grupos *top performers* ($n= 20$; $63,3 \pm 5,2 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$), *average performers* ($n= 40$; $50,0 \pm 5,7 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$) e *low performers* ($n= 20$; $41,8 \pm 5,5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}\cdot\text{kg}^{-1}$) baseado no $VO_{2\text{máx}}$ para observar as mudanças em 188 metabólitos pré-selecionados cinco semanas e uma semana antes da prova, assim como imediatamente, 24 e 72 horas após a maratona (SCHADER et al., 2020). Os autores mostraram que houve uma alteração sutil entre as cinco semanas e uma semana antes da prova nas concentrações de metabólitos relacionados à acilcarnitinas, porém, imediatamente após a corrida houve um aumento nesses subprodutos. Ainda, os níveis plasmáticos de aminoácidos reduziram imediatamente pós prova, retornando aos níveis basais após 72 horas. Em relação às diferentes respostas dos grupos a maior diferença foi imediatamente após, no qual 33 metabólitos relacionados alteraram nos três grupos. Dentre estes, subprodutos relacionados à acilcarnitina, bem como ao metabolismo da arginina foram maiores no grupo *top performers*. Assim, as análises bioquímicas detectam as alterações em momentos específicos (ou seja, imediatamente após ou 72 h) ou de acordo com o nível de condicionamento dos atletas envolvidos.

Porém, existem provas como as ultramaratonas (corridas com uma distância superior a 42,2 km) (HØEG et al., 2020; HOWE et al., 2018) que podem gerar respostas fisiológicas

exacerbadas nos atletas. Com o objetivo de avaliar os impactos orgânicos de eventos esportivos extremos de situações extremas, foram avaliadas as tais respostas em nove atletas ultramaratonistas após uma corrida simulada de 80,5 km na esteira utilizando a técnica cromatografia líquida (HOWE et al., 2018). Os resultados mostraram que após o exercício, os atletas apresentaram alterações nas vias metabólicas dos lipídios e proteínas, entretanto foram mais acentuados no metabolismo lipídico e, principalmente, nos níveis de acilcarnitina plasmática. Esse aumento de acilcarnitina reflete a utilização de ácidos graxos pela mitocôndria para suportar o impacto metabólico elevado da ultramaratona (HOWE et al., 2018). Outro estudo durante duas fases (fase 1 = identificar quais metabólitos representam os impactos da prova; fase 2 = por meio dos metabólitos identificados na fase 1, observar as respostas do exercício) analisou as consequências bioquímicas de uma corrida de 161 km em atletas e não atletas (HØEG et al., 2020). Na fase 1 os autores identificaram 427 metabólitos, porém apenas quatro fosfatidilcolinas foram relacionados com o tempo de chegada dos atletas. Na fase 2 utilizando os autores notaram que nos atletas os valores de fosfatidilcolinas pós-prova foram menores em relação aos níveis de repouso, porém, tais valores no fim da prova, assim como em repouso ainda apresentaram-se maiores em comparação com os sujeitos não atletas. Fosfatidilcolina é altamente correlacionada com VO_2 máx (HØEG et al., 2020), sendo esse metabólito um forte candidato como um marcador bioquímico de estado de treinamento.

Outro fator importante que possui grande contribuição no desempenho é o desenvolvimento de fadiga, no qual representa a menor produção de força que a esperada para sustentar uma potência desejada numa dada modalidade (MACINTOSH; RASSIER, 2002). Um estudo investigou as alterações metabólicas no plasma, durante (a cada 10 minutos), imediatamente (no momento de exaustão) e 20 minutos após um teste de ciclismo até a exaustão (~80 minutos) na intensidade de 3 mmol^{-1} em 18 sujeitos fisicamente ativos (MANAF et al., 2018). A análise com cromatografia líquida aliada a espectrometria de massas mostrou que houve uma mudança um aumento significativo nas concentrações de 68 metabólitos entre os momentos pré-fadiga (última coleta de sangue antes da exaustão), pós-fadiga (no momento da exaustão) e 20 minutos pós-fadiga. Tais alterações foram mais expressivas nos metabólitos relacionados ao metabolismo dos lipídios e triptofano. Então, parece que em exercícios de longa-duração (> uma hora) a contribuição do metabolismo lipídico possui uma contribuição importante desenvolvimento de fadiga.

Além disso, um apresentou que tanto após uma corrida na esteira por 60 minutos e 120 minutos à 93% e 70% do limiar anaeróbio, respectivamente, os níveis de metabólitos

relacionados a acilcarnitina (metabolismo dos lipídios) foram elevados (LEHMANN et al., 2010). Assim, esses resultados apresentam uma grande contribuição do metabolismo da gordura neste exercício para atender demanda metabólica nesta tarefa. Alguns atletas utilizam a suplementação de algum recurso nutricional para auxiliar na realização de uma dada prova. Então é interessante observar, do ponto de vista bioquímico, como o organismo responde a suplementação durante o exercício. Dessa maneira, um estudo avaliou os efeitos de 1, 7 e 28 dias ingerindo extrato de chá verde descafeinado em 19 homens saudáveis após um exercício de ciclismo à 50% da potência máxima ($W_{m\acute{a}x}$; ~55% do $VO_{2m\acute{a}x}$) por 30 minutos nas concentrações plasmáticas de metabólitos utilizando cromatografia gasosa em conjunto com espectrometria de massas (JACOBS et al., 2013). Os autores apresentaram que após o exercício não houve um padrão das respostas nos subprodutos derivados do metabolismo dos carboidratos, lipídios e ciclo de Krebs encontrado nas análises. Assim, os autores postulam que é difícil atribuir uma conclusão sólida em tais achados com a ingestão de extrato de chá verde descafeinado.

Ainda nesta linha, o mesmo grupo de pesquisa investigou os efeitos da ingestão de extrato de chá verde por 7 dias sobre as respostas metabólicas (HODGSON et al., 2013). Para esta investigação, 27 homens fisicamente ativos foram divididos em dois grupos, onde um grupo ($n=13$) realizou 60 minutos de ciclismo à 50% da $W_{m\acute{a}x}$ (~55% do $VO_{2m\acute{a}x}$) após a ingestão de extrato de chá verde (1200 mg de catequinas; $240 \text{ mg}\cdot\text{d}^{-1}$) e outro ($n=14$) ingeriu placebo durante 7 dias. Após a avaliação dos fluidos com a técnica de cromatografia gasosa e líquida aliada a espectrometria de massas, os autores observaram que após o protocolo de exercício as concentrações de metabólitos relacionados a glicólise e ciclo de cori aumentaram e lipólise diminuiu quando comparado ao grupo placebo. Assim, apesar do extrato de chá verde aumentar oxidação de gorduras (ICHINOSE et al., 2011) o presente esses resultados sugerem, surpreendentemente, uma elevada da demanda do metabolismo anaeróbio durante esse protocolo de exercício.

Em alguns exercícios, como já foi dito anteriormente, os atletas realizam são expostos a situações com diferentes níveis de hipóxia (moderada e elevada altitudes) (BURTSCHER et al., 2018). Dito isto, 20 homens saudáveis realizaram 60 minutos de exercício na intensidade de primeiro limiar ventilatório a 2150 metros (moderada altitude) ou no nível do mar (MESSIER et al., 2017). A análise sanguínea com RMN, os resultados mostraram que os níveis de glicose, glutamina, alanina e aminoácidos de cadeia ramificada foram menores, apenas, após moderada altitude (MESSIER et al., 2017). Além disso, os autores mostraram que a redução de glicose e aminoácidos no plasma gerou uma maior participação das vias

protéicas na manutenção da glicemia, porém não foi suficiente para tanto. Então, é observado que a exposição a condições limitadas de oxigênio acarreta em diferentes respostas metabólicas quando comparado a condições normais de oxigênio.

2.2.2. Exercício de curta duração

Por outro lado, nem todas as atividades ou provas são de longa duração, assim investigar as respostas dos exercícios com durações menores também é pertinente no campo da ciência esportiva. Um dos primeiros estudos dentro dessa temática observou como ocorriam as alterações nas concentrações de marcadores bioquímicos no sangue em 14 maratonistas de elite após uma prova de 10km (PETIBOIS et al., 2002). Ao final do exercício houve um aumento nas concentrações de subprodutos das vias metabólicas relacionados ao metabolismo dos carboidratos, lipídios e proteínas, respectivamente, os quais foram identificados pela espectrometria de infravermelho por transformada de Fourier. Além disso, esses marcadores bioquímicos apresentaram uma alta correlação com o desempenho. Assim, apesar de ter sido de maneira inicial, é percebido que o impacto metabólico do exercício intenso desencadeia respostas bioquímicas complexas no organismo, necessitando assim de uma avaliação global que melhor traduza os ajustes desse sistema altamente integrado para atender a demanda imposta.

Observando as relações entre as respostas metabólicas adquiridas imediatamente e uma hora após um teste incremental em esteira (n=25) e cicloergômetro (n=8), além de relacionar com subprodutos alterados após uma prova de maratona (n=25) (LEWIS et al., 2010). A técnica de espectrometria de massas identificou mais de 200 metabólitos alterados pós-exercício no sangue, porém, imediatamente após a tarefa seis metabólitos relacionados à glicólise, lipólise e glicogenólise aumentaram significativamente em ambos os exercícios. Contudo, houve uma redução na concentração de subproduto relacionado à cetólise e aumento de moléculas envolvidas no catabolismo de aminoácidos após teste incremental. Ainda, houve um aumento de cetogênese e redução de metabólitos relacionados ao catabolismo protéico. Além disso, uma hora após o término do exercício 23 subprodutos envolvidos nos processos bioquímicos da glicogenólise, ciclo de Krebs, lipólise, beta-oxidação e moduladores de sensibilidade a insulina foram alterados após ambos os exercícios. Assim, é possível perceber a sensibilidade das avaliações bioquímicas as diferentes durações das atividades,

possibilitando um entendimento detalhado dos processos metabólicos derivados de tais tarefas.

O treinamento militar em alguns momentos exige que o soldado realize exercícios extenuantes. Para observar as alterações metabólicas advindas do treinamento militar, foram analisadas amostras de sangue, utilizando a técnica de espectrometria de massas, de 24 soldados noruegueses após protocolo de *cross-country ski* de 13 km.d⁻¹ (50:10 minutos; relação esforço - pausa) por quatro dias, totalizando ~53 km de exercício realizado (KARL et al., 2017). Foi observado que houve um aumento de 91% das acilcarnitinas e 88% dos ácidos graxos que são metabólitos relacionados ao metabolismo dos lipídios. Além disso, também foi encontrado pequenos aumentos de subprodutos relacionados ao ciclo de Krebs (75%) e aminoácidos (50%). Esses resultados elucidam a maior contribuição do metabolismo oxidativo, assim como catabolismo das proteínas para sustentar o exercício nesta intensidade e duração, uma vez que o exercício de *cross-country ski* possui características de recrutamento muscular que necessitam dessa demanda energética mais elevada (RØMER et al., 2020; STÖGGL et al., 2020).

A avaliação das repostas fisiológicas após a execução de *high-intensity interval exercise protocols* (ou seja, esforços de alta-intensidade e curta duração separados por períodos de recuperação passiva ou ativa; HIIE) é bastante presente na literatura (BURGOMASTER et al., 2005; GIBALA et al., 2006; GIBALA; JONES, 2013; MACINNIS; GIBALA, 2017). Porém, observar tais resultados com uma visão metabólica mais ampla pode se fornecer evidências adicionais ao conhecimento adquirido até o momento. Neste sentido, sete homens saudáveis realizaram dois protocolos de *sprints* repetidos com volumes equalizados, 30 x 20 segundos a 150% do VO₂pico separados por 40 segundos de recuperação passiva (HI₁₅₀) e 30 x 10 segundos à 300% do VO₂pico com 50 segundos de recuperação passiva (HI₃₀₀) (DANAHER et al., 2016). Analisando amostras de sangue coletadas antes, durante (quando se atingiu 10 minutos de exercício), imediatamente e uma hora após do término do protocolo de exercício, por meio de cromatografia gasosa em conjunto de espectrometria de massas, os autores identificaram mudanças nos níveis de 43 metabólitos no plasma. Durante o exercício, metabólitos envolvidos na glicólise aumentaram e outros envolvidos no ciclo de Krebs reduziram no HI₃₀₀ em relação à HI₁₅₀. Em relação a imediatamente após o exercício, metabólitos relacionados ao metabolismo das proteínas, carboidratos e ciclo de Krebs foram menores no HI₃₀₀ do que HI₁₅₀. Por fim, HI₃₀₀ apresentou menores valores de metabólitos relacionados ao metabolismo dos carboidratos, ciclo de Krebs e proteínas do que HI₁₅₀, quando tais respostas foram observadas uma hora após o término da

tarefa. Deste modo, é perceptível que apesar dos autores equalizarem o volume das atividades, os impactos metabólicos foram mais pronunciados quando os sujeitos realizaram o protocolo HI₃₀₀, além de destacar a capacidade da análise bioquímica em detectar essas alterações.

Ainda nesta linha, com o objetivo de avaliar as alterações orgânicas relacionadas ao metabolismo dos lipídios e proteínas, 10 homens bem treinados foram submetidos a uma sessão de HIIE (10 x 4 minutos a 80% do VO₂max separados por 2 minutos a 50 W) ou de exercício contínuo a 65% do VO₂max (PEAKE et al., 2014). Ao final do exercício a cromatografia gasosa aliada a espectrometria de massas identificou 49 metabólitos, porém, apenas 29 relacionados aos metabolismos das proteínas, dos lipídios e xenobióticos alteraram significativamente após o protocolo de exercício HIIE e contínuo. Além do mais, foram observados que alguns metabólitos alteram-se em ambas as tarefas e outros são específicos do protocolo (ou seja, HIIE ou moderado), destacando, assim, complexidade do corpo humano.

Além disso, observar as respostas fisiológicas e diferentes intensidades é bastante pertinente, porém, outras comparações da duração do intervalo entre os esforços ou até mesmo com outros protocolos de exercício, também, são de interesse comum para ciência do esporte (GIBALA et al., 2006). Dito isto, um estudo comparou, utilizando a técnica de RMN, os impactos metabólicos de três exercícios até exaustão (ZAFEIRIDIS et al., 2016). Os protocolos consistiram em 1) corrida à 80% da máxima velocidade aeróbia (ou seja, velocidade atingida no VO₂máx; MVA), 2) corridas de 3 minutos à 95% da MVA separados por 3 minutos de recuperação ativa à 35% da MVA (*Long interval*; LI) e 3) corridas de 30 segundos à 110% da MVA separados por 30 segundos de recuperação ativa à 35% da MVA (*Short interval*; SI). Os autores apresentaram que houve um aumento nas concentrações plasmáticas dos metabólitos relacionados ao metabolismo dos carboidratos e lipídios semelhantes entre os três protocolos de exercícios. Contudo, o protocolo LI apresentou alterações mais proeminentes nos níveis de subprodutos de intermediários do ciclo de Krebs e metabolismo das proteínas. Então, todos os protocolos de exercícios causaram distúrbios metabólicos. Porém, parece que tais alterações são divergentes a depender do tempo dos intra/entre os esforços, mais especificamente, quando o exercício intervalado possui maior tempo em exercício, embora tenha uma recuperação mais prolongada, os impactos metabólicos são mais proeminentes comparados aos esforços mais curtos ou contínuos de intensidade constante.

2.2.3. Exercício Crônico

Além dos efeitos agudo do exercício no organismo dos indivíduos, também é de grande interesse investigar as respostas metabólicas após várias sessões de exercício (ou seja, treinamento físico). Para observar tais impactos, 9 nadadores de elite realizaram 10 sessões de treinamento com 45 minutos de exercício intenso (relação esforço:pausa de 1:1 e 1:2) por dia com ou sem suplementação de suco rico em flavonóides (230 mg) (KNAB et al., 2013). Com o término do treinamento físico, os nadadores apresentaram um aumento nos biomarcadores de estresse oxidativo e capacidade antioxidante, os quais foram identificados com cromatografia gasosa e espectrometria de massas. Contudo, não houve efeito da suplementação com suco rico em flavonóides no perfil metabólico dos atletas.

Outro estudo avaliou o impacto metabólico de dois programas de treinamento com diferentes relações esforço:pausa durante 8 semanas (PECHLIVANIS et al., 2013) utilizando a técnica RMN. Os protocolos consistiram de 1) duas (nas primeiras quatro semanas) e três (nas últimas quatro semanas) séries de duas corridas de 80 metros em velocidade máxima separadas por 10 segundos e 2) duas (nas primeiras quatro semanas) e três (nas últimas quatro semanas) séries de duas corridas de 80 metros em velocidade máxima separadas por 1 minuto. Os resultados apontaram redução similar nos metabólitos relacionados ao metabolismo glicolítico e dos lipídios após o término dois protocolos de treinamento avaliados. Assim, parece que apesar da sensibilidade da técnica RMN para detectar as alterações orgânicas decorrentes do exercício, a manipulação da recuperação entre os esforços não foi suficiente para alterar, significativamente, as respostas metabólicas nos indivíduos.

Ainda em relação ao treinamento físico, 18 homens saudáveis foram subdivididos em dois grupos, no qual um (grupo treino = 10) foi submetidos a 10 sessões de treinamento com HIII (8 séries na $W_{máx}$ por 60% do tempo alcançado no teste até exaustão previamente realizado e com um repouso até a frequência alcançar 65% do máximo) em cicloergometro, para observar e identificar as alterações metabólicas geradas, enquanto o outro grupo (controle = 8) não realizou o treinamento (KISTNER et al., 2019). Após as análises com cromatografia líquida aliada a espectrometria de massas e RMN, os resultados apontaram que houve, apenas, um decréscimo nos valores de hipoxantina após o treinamento com HIII comparado ao grupo controle, outra alteração no metaboloma presente na urina não foi identificada. Os autores apontam que essa elevação da hipoxantina pode estar relacionada à alta demanda energética, uma vez que a hipoxantina representa o final da quebra de adenosina trifosfato no músculo.

Do ponto de vista do treinamento, comparar as consequências metabólicas de dois tipos de treinamento é bastante pertinente, uma vez que permite entender as diferentes respostas orgânicas, além de facilitar a seleção do melhor protocolo para um dado momento da periodização do treino. Desse modo, um estudo submeteu 12 ciclistas treinados a dois programas de treino de *endurance* por 6 semanas para investigar as possíveis adaptações fisiológicas, assim como as respostas metabólicas decorrente de cada programa (NEAL et al., 2013). Os programas consistiram de um modelo polarizado, que foi realizado em ~6h por semana, no qual foram distribuídas em 80% do tempo na zona 1 de treinamento (baixa intensidade) e 20% na zona 3 de treinamento (alta intensidade) e o segundo foi um modelo foi realizado ~7h por semana, com 55% na zona 1 de treinamento e 45% na zona 2 de treinamento (moderada intensidade). Para avaliar os efeitos dos programas os atletas realizaram um teste contrarrelógio de 40 km em cicloergometro. Os resultados apontaram que, apesar do treino polarizado melhorar a potência sustentada e a potência de limiar anaeróbio, não respostas metabólicas diferentes entre os dois programas de treino.

Além disso, o treinamento físico é de extrema importância dentro do corpo militar, uma vez que é necessário preparar os sujeitos para suportar condições adversas bastantes presentes em momentos de tensão (por exemplo, operações especiais ou guerra) (BOBONIS; STABILE; TOVAR, 2020; KAUFMAN; BRODINE; SHAFFER, 2000; SHUMWAY et al., 2020). Para tanto, um estudo, utilizando cromatografia líquida em conjunto da espectrometria de massas, avaliou os efeitos de um programa treinamento militar (duração de 80 dias) nas respostas bioquímicas em jovens militares do sexo masculino (n = 52) (KOAY et al., 2020). Após o treinamento, os sujeitos apresentaram uma redução nos metabólitos relacionados o metabolismo dos lipídios, elevação nos metabólitos associados à arginina e uma elevação nas moléculas relacionadas ao catabolismo protéico. Assim, parece que o treinamento militar gera um estresse generalizado, no qual é de extrema relevância observar, de uma maneira global, tais alterações. Além disso, é necessário assegurar as adaptações metabólicas desejadas sejam atingidas sem o desenvolvimento de lesões ou agravamentos, assim evitar prejuízos nas ações durante as intervenções militares.

Ainda nesta linha de investigação por tempo prolongado, porém no futebol, um grupo de pesquisadores avaliou as alterações orgânicas ao longo de uma temporada (durante 10 meses) em atletas profissionais de futebol (n = 134), além disso, associaram os riscos de lesão com o perfil metabólico dos atletas (QUINTAS et al., 2020). Em relação as respostas metabólicas, os autores apresentaram que ao longo da temporada as maiores alterações foram nos metabólitos relacionados a hormônios esteróides, hipoxantinas e metabolismo das

proteínas. Contudo, apenas 28% das amostras apresentaram respostas consistentes entre os atletas que sofreram lesão, assim sendo necessários ajustes futuros para desenvolver modelos preditivos de lesão baseados no perfil metabolômico dos atletas, assim apresentar resultados mais sólidos.

2.3. Percepção subjetiva de esforço

A utilização de ferramentas para observar a magnitude dos estresses físicos sofridos pelos indivíduos é bastante comum na comunidade científica. Tais estresses são mensurados por meio de indicadores fisiológicos (ou seja, $VO_2\text{max}$ e $FC\text{max}$, limiar ventilatório e limiar anaeróbio) (JAMNICK et al., 2020). Para avaliar essas respostas são necessárias ferramentas sofisticadas, além de um treinamento específico, por arte do pesquisador, para manutenção dos equipamentos e interpretação dos resultados. Assim, utilização de escalas subjetivas partiu da ideia de observar, de maneira simples e indireta, as respostas advindas do estresse físico por respostas perceptivas. Essa visão parte do princípio que a percepção de esforço é uma integração de *feedback* gerados pelos músculos em exercícios e articulações envolvidas, além dos sinais oriundos das funções cardiovasculares, respiratórias e neurais (BORG, 1982). Assim, é observado que as combinações de tais respostas se traduzem numa visão generalizada dos impactos do exercício no corpo, podendo ser avaliados de maneira indireta (BORG, 1998).

Os pioneiros a estudarem essas respostas foram Gunnar Borg e Dahlstrom no final dos anos 50 estudando fadiga e capacidade de trabalho, no qual eles observaram que existia uma diferença entre o que os pacientes (na época) relatavam sobre suas avaliações e o que era relatado nos testes de cicloergometro (BORG, 1998). Os pesquisadores chegaram à hipótese que essa abissal pode ter sido devido a um erro de percepção do esforço realizado durante o exercício (BORG, 1998). Deste modo, surgiu a necessidade de criar uma escala psicométrica confiável que relacione o que os sujeitos perceberem durante o exercício e o que realmente aconteceu fisiologicamente. Sabendo que existe um aumento linear na FC e VO_2 com a intensidade de exercício, uma escala seguindo o mesmo comportamento de linear foi construída. A escala de percepção subjetiva de esforço (PSE) é uma ferramenta com *scores* de 6 a 20 (Borg 6-20) que pode ser usada para identificar o nível de esforço em valores de FC (60 – 200 batimentos por minuto) (BORG, 1982) uma medida comumente utilizada na ciência esportiva apesar da sensibilidade a fatores externos.

Por outro lado, alguns sujeitos sentiam dificuldades na interpretação desta tabela, sendo necessária uma solução para simplificar as respostas acerca das percepções de esforço após a execução de um teste ou exercício físico. Assim, uma nova escala e mais simples, a *category-ratio* 0-10 (Borg CR-10), foi criada para permitir que as pessoas com um menor grau de interpretação matemática pudessem indicar com valores numéricos sua percepção de esforço de uma dada atividade. Por outro lado, vale à pena ressaltar que apesar da existência de duas escalas de esforço (Borg 6-20 e Borg CR-10) a utilização delas pode ser direcionada a situações específicas (BORG, 1998). A primeira (Borg 6-20), como foi dito anteriormente, tem uma relação direta com a FC sendo comumente utilizada em protocolos de exercícios e testes laboratoriais, permitindo ao pesquisador observar, em conjunto da FC, os impactos de uma dada intensidade ou protocolo de exercício. A CR-10 é uma escala mais simples e é utilizada tanto para observar a percepção de esforço, percepções de bem-estar, desconforto e satisfação (BORG, 1998), assim como sintomas patológicos (dificuldades para respirar e dor) (BORG, 1982). Deste modo, é necessário entender os objetivos das escalas, para saber qual a melhor situação de aplicação de tais instrumentos.

Contudo, é necessário observar se a PSE pode ser, de fato, uma ferramenta válida a ser utilizada na avaliação de estresse físico. Dito isto, alguns estudos investigaram sua validade a partir da comparação com outros parâmetros fisiológicos bastante utilizados na literatura, como lactato sanguíneo e FC (BORG; HASSMÉN; LAGERSTRÖM, 1987; NEELY et al., 1992; NOBLE et al., 1983; STEED; GAESSER; WELTMAN, 1994). De maneira geral, os achados apresentaram que a PSE tem uma boa correlação com os parâmetros fisiológicos citados (lactato sanguíneo e FC), seja na corrida (STEED; GAESSER; WELTMAN, 1994) ou no ciclismo (BORG; HASSMÉN; LAGERSTRÖM, 1987; NEELY et al., 1992; NOBLE et al., 1983). Portanto, parece que a utilização de respostas perceptivas pode ser uma estratégia a ser utilizada para avaliar, indiretamente, estresse metabólico após um desempenho de uma determinada tarefa ou teste.

Sabe-se que a exposição do indivíduo a situações de estresse físico é necessária para gerar adaptações metabólicas determinantes para o sucesso durante o período competitivo (HAWLEY et al., 2018). Devido à necessidade de monitorar o quanto de estímulos está sendo imposto com o objetivo de não sobrecarregar o atleta, é necessário monitorar com ferramentas que permitem essas constantes avaliações. A PSE pode ser uma ferramenta útil para tal fim, devido à sua validade, acessibilidade, baixo custo e fácil aplicação (FOSTER et al., 2001). Baseada na PSE, uma abordagem denominada de PSE da sessão surgiu com o objetivo de controlar os estímulos aplicados (carga externa) e monitorar os impactos metabólicos (carga

interna) gerados em cada sessão de treino (FOSTER et al., 2001). Essa metodologia consiste na coleta, por parte do treinador ou pesquisador, da PSE (intensidade) ~30 minutos após uma sessão de treinamento, em seguida multiplicada pela duração (volume) do exercício gerando um produto denominado unidade arbitrária que representa a carga de treinamento daquela sessão. Os autores observaram que a PSE da sessão apresentou uma alta correlação com um método de determinação de carga de treinamento pela análise dos impulsos de treinamento (*training impulse; TRIMP*) um protocolo baseado na FC bastante conhecido na ciência do esporte (FOSTER et al., 2001).

Deste modo, devido a sua facilidade de aplicação e compreensão (como foi dito previamente) alguns pesquisadores passaram a utilizar essa ferramenta para controle de carga, tornando a escala de PSE uma das ferramentas de avaliação de impacto metabólico com uma presença destacada no âmbito esportivo (COUTTS et al., 2009; FALK NETO et al., 2020; HADDAD et al., 2011, 2017; IMPELLIZZERI et al., 2004; LUPO; CAPRANICA; TESSITORE, 2014; SLIMANI et al., 2017). Um estudo buscou quantificar e monitorar a carga de treinamento utilizando a PSE da sessão e, ainda, correlacionar suas respostas com métodos de quantificação de carga de treinamento baseados na FC propostos por Banister (BANISTER, 1991), Edwards (EDWARDS, 1993) e Lucia (LUCIA et al., 2003) em 19 jovens jogadores de futebol por 7 semanas (IMPELLIZZERI et al., 2004). Os autores observaram uma variedade de correlação de $r = 0.50$ a $r = 0.70$ entre a PSE da sessão e os métodos baseados na FC. Ainda no futebol, outro estudo observou que a PSE apresentou uma correlação de $r = 0.60$ e $r = 0.63$ com FC e lactato sanguíneo, respectivamente, após 60 sessões de jogos reduzidos executados por 20 jogadores de futebol (COUTTS et al., 2009).

Além disso, foi observado que a PSE da sessão, apresenta resultados consistentes a cerca do controle de carga no pólo aquático (LUPO; CAPRANICA; TESSITORE, 2014) e esportes de combate (HADDAD et al., 2011; SLIMANI et al., 2017). Monitorando 8 sessões de treinamento de 30 atletas sub 17 de pólo aquático com a PSE da sessão e o protocolo proposto por Edwards (1993), um grupo de pesquisadores observou uma correlação de $r = 0.88$ entre as ferramentas. Assim, a PSE da sessão é um protocolo que pode ser utilizado por treinadores para monitorar de sessões de treinamento em pólo aquático (LUPO; CAPRANICA; TESSITORE, 2014). Em relação a esportes de combate, foram observados valores de correlação entre $r = 0.55$ e 0.90 nos resultados de controle de carga, coletados de 10 atleta jovens de taekwondo durante 2 semanas de treinamento, quando feitos validados pelo protocolo PSE da sessão e os protocolos baseados na FC proposto por Banister (1991) e Edwards (1993) (HADDAD et al., 2011). Além disso, uma revisão confirma que esta

ferramenta é válida para monitorar e quantificar, com similar precisão de medidas fisiológicas (FC e lactato sanguíneo), cargas de treinamento em esportes de combate, assim fortalecendo o argumento para utilizar a PSE por partes de treinadores de equipes ou atletas de combate (SLIMANI et al., 2017).

3. ARTIGO CIENTÍFICO PRINCIPAL

**Title: METABOLOMICS RESPONSES IN URINE AFTER SOCCER MATCH OF
BRAZILIAN CLUB ELITE U-20 SOCCER PLAYERS**

Research Article

Alisson Henrique Marinho¹, Filipe Antonio de Barros Sousa¹, Rubens de Alcântara Moura Pimentel Vilela¹, Pedro Balikian Junior¹, Edson de Souza Bento², Thiago de Mendonça Aquino², Alexandre Crispim², Thays de Ataíde-Silva³, Gustavo Gomes de Araujo¹

¹Laboratory of Applied Sports Science, Institute of Physical Education and Sports, Federal University of Alagoas, Maceió, Alagoas, Brazil

²Laboratory of Nuclear Magnetic Resonance, Chemistry and Biotechnology Institute, Federal University of Alagoas, Maceió, Brazil.

³Faculty of Nutrition, Federal University of Alagoas, Maceió, Brazil.

***corresponding author:**

Gustavo Gomes de Araujo, Institute of Physical Education and Sports, Federal University of Alagoas, Avenue Lourival Melo Mota, s/n, Maceió-al 57072-900, Brazil. E-mail: gusta_ef@yahoo.com.br

ABSTRACT

During a soccer match, the athletes may perform various movements, which can cause significant metabolic impacts on athletes. Through evaluation of urine metabolites, the metabolomics can observe these impacts. Besides, it is also possible to observe monitor the exercise internal load, indirectly, with the rating of perceived exertion (RPE). Considering the direct measurement of thousands of exercise demands metabolic through metabolomics, and the large use of RPE to estimate internal load after physical efforts, a positive association between them is expected but yet to be investigated. The study aims to assess the metabolic impact of a soccer match through direct and indirect tools such as RPE and metabolomics. Urine was collected immediately after and 20 hours after two football matches of elite Brazilian U-20 soccer players. Besides, RPE was collected after games. The spectra were pre-processed using the TopSpin® 3.2 software. Chenomx® software was used to identify the metabolites in the urine through the available database and the online platforms www.hmdb.ca. and www.smpdb.ca. The results showed the metabolic pathways related to energy production, cellular damage, and organic stress processes were changed immediately after the game. Also, 20 hours after the games, antioxidant and anti-inflammatory pathways related to cell recovery were identified. When observed by perceived exertion, athletes with higher RPE values showed an increased metabolite profile related to muscle damage and energy production. Thus, it is possible to observe the metabolic impacts of energy production and muscular damage through metabolomic analysis. Further, as confirmed by metabolomics, RPE was able to successfully identify internal load changes within the group as a result of match intensity in soccer games.

Keywords: Metabolomics, exercise biochemistry, perception of effort, Football.

3.1. Introduction

After a soccer match, distinct metabolic alterations have been identified due to individual energetic demands dependent on the several accelerations, decelerations, jumps, running, and sprints performed during the game (STØLEN et al., 2005). These metabolic responses reflect the internal training load, generally being evaluated through targeted physiologic and biochemistry analysis such as the lactate concentration, oxygen uptake (VO₂), heart rate, key hormones, and enzymes (JAMNICK et al., 2020). However, the human body is an environment of complex systemic interactions, which may generate a broad metabolic change (GOMES et al., 2020). In this sense, to assess complex organic disturbance, an interesting methodological approach, called metabolomics, has been used in sports science (BONGIOVANNI et al., 2019). Metabolomics allows the identification and quantification of the most relevant metabolites (i.e., biochemistry subproducts) among the screening of thousands of them related to various biochemistry processes, all based on a single sample (HEANEY et al., 2017). This method may be conducted utilizing nuclear magnetic resonance (NMR) or mass spectrometry (MS), which in tandem with multivariate statistics models (HEANEY et al., 2017) allows targeting the metabolite determinants of a vast metabolic profile in biological tissues and fluids after exercise (BONGIOVANNI et al., 2019).

Research has shown that metabolomics may be a useful tool to assess organic responses and metabolic impacts after exercises (SAKAGUCHI et al., 2019; SCHRANNER et al., 2020). A recent systematic review assessed 24 studies and ranked 100 to 300 metabolites related to glycolysis, lipolysis, tricarboxylic acid cycle (TCA cycle), acylcarnitines, proteins, and carbohydrate metabolisms related to different exercise protocols varying between short, moderate, and long duration (SAKAGUCHI et al., 2019). Another systematic review found 196 metabolites, such as lactate, pyruvate, TCA cycle, free fatty acids, and ketone bodies, after resistance and endurance exercises (SCHRANNER et al., 2020). However, the use of metabolomics in soccer still is scarce since only a few studies did

assess metabolic changes using this approach (PINTUS et al., 2020; PRADO et al., 2017; QUINTAS et al., 2020; RA et al., 2014). Some of these studies showed alterations in metabolites involved in skeletal muscle catabolism, glucose metabolism, lipid metabolism (RA et al., 2014), muscular stress (PINTUS et al., 2020), and energy metabolism (PINTUS et al., 2020; PRADO et al., 2017; RA et al., 2014) after soccer matches. Furthermore, when used to monitor internal load throughout the season, metabolomics identified changes in metabolites related to steroid hormone biosynthesis, tyrosine, and tryptophan metabolism (QUINTAS et al., 2020). Thus, the metabolomics approach seems to be a valuable tool to assess metabolic disturbance after soccer matches, but its recent implementation still brings inconclusive results and focuses on characterization. In this sense, further studies are needed to identify soccer players' metabolic profiles under different conditions (e.g., immediately post-stress and after short-term recovery process) and interventions.

On the other hand, there is an instrument to observe, indirectly, metabolic impacts during a soccer match or training sessions called the rating of perceived exertion (RPE)(COUTTS et al., 2009; IMPELLIZZERI et al., 2004). RPE is an alternative and valid instrument that allows assessing physical stress through scales (BORG 6-20 or BORG CR-10) of perceived exertion (BORG, 1982) that is associated with heart rate, VO_2 , lactate, physiological biomarkers under controlled conditions (BORG; HASSMÉN; LAGERSTRÖM, 1987; NEELY et al., 1992; NOBLE et al., 1983; STEED; GAESSER; WELTMAN, 1994) and workload of regular soccer training sessions (IMPELLIZZERI et al., 2004; COUTTS et al., 2009). Estimation of internal load through RPE is valuable for sports considering its low cost and high practical applicability. Although the association between RPE and isolated biomarkers was previously reported, its association to a complete metabolic profile measured by metabolomics is yet to be studied. Some studies have reported that the scale value of 7 (BORG CR-10) is associated with the transition zone between heavy and severe domains, in

which a higher exercise intensity results in a non-stable metabolic state (SEILER; KJERLAND, 2006; FAUDE; KINDERMANN; MEYER, 2009). However, the association between practical/conventional protocols and metabolomics is still exploratory, as few studies have investigated discriminant specific metabolites based on practical and controlled parameters after soccer matches. In addition, understanding organic disturbance in metabolomics levels in athletes with reported perceived exertion above and below 7 RPE is still unknown.

Thereby, metabolomics can identify metabolomic change after a match; however, is interesting to investigate its sensitivity to detect metabolite profile after short-term recovery. Besides, RPE can be a valuable internal load estimative, with essential practical advantages (i.e., non-invasive, inexpensive method, sensitive to training, high-correlations with stress biomarkers) for soccer. Thus, the present study was formed for two purposes. First, to assess the metabolic alterations observed immediately post and 20 hours post two soccer matches through metabolomics. Second, to observe metabolic profile based on RPE (BORG CR-10). We hypothesized that metabolic disturbance is a more expressive immediately post-soccer match than 20-hour post-soccer match, as well as in soccer players with higher RPE (above 7) values than their lower counterparts.

3.2. Material and Methods

3.2.1. Participants

Twenty-three Brazilian club elite U-20 male soccer players [age: 19 ± 1 years; height: 174 ± 6.8 cm; body mass: 69.9 ± 7.9 kg; body fat: 11.6 ± 2.7 %; maximal oxygen uptake (VO_{2max}): 47.1 ± 4.7 mL.kg⁻¹.min⁻¹] were recruited. All participants were athletes of an elite professional team of the Brazilian championship (Serie A). Participants and their legal guardians (when underaged) were informed about all possible discomforts, risks, and benefits

related to the protocol as well as all experimental procedures before signing a written informed consent form of the study. All participants were injury-free in the last three months, not smokers, and without pathology associated with the cardiovascular system. This study was carried out according to the Helsinki declaration and was approved by the local Research Ethics Committee (29269020.8.0000.5013).

3.2.2. Experimental Design

Athletes visited the laboratory six different times. In the first visit were measured height, body mass, and body fat. In the second visit, all athletes participated in a field-test, the yo-yo endurance test level 1, to estimate VO_{2max} . In the third visit, the athletes performed a soccer match (i.e., soccer match 1) and were collected urine fluid (25 mL) and RPE immediately after the friendly match. The match's total time (90 min) was subdivided into three times of 30 min, in which each soccer player participated in-game for 42.5 ± 13 min; the coach used this model to prepare the team for the U-20 cup. Besides, the matches were performed against professional players of regional clubs. The match was conducted according to the official rules of the federation international football association (FIFA). Besides, water ingestion was done *ad libitum* throughout the match. In the fourth visit, the athletes returned to the laboratory 20 hours post-match and excreted 25 mL of the first urine of the day in an aseptic container. In the fifth and sixth visits were repeated all procedures (i.e., soccer match 2 and urine sample collects) of the third and fourth visit, respectively.

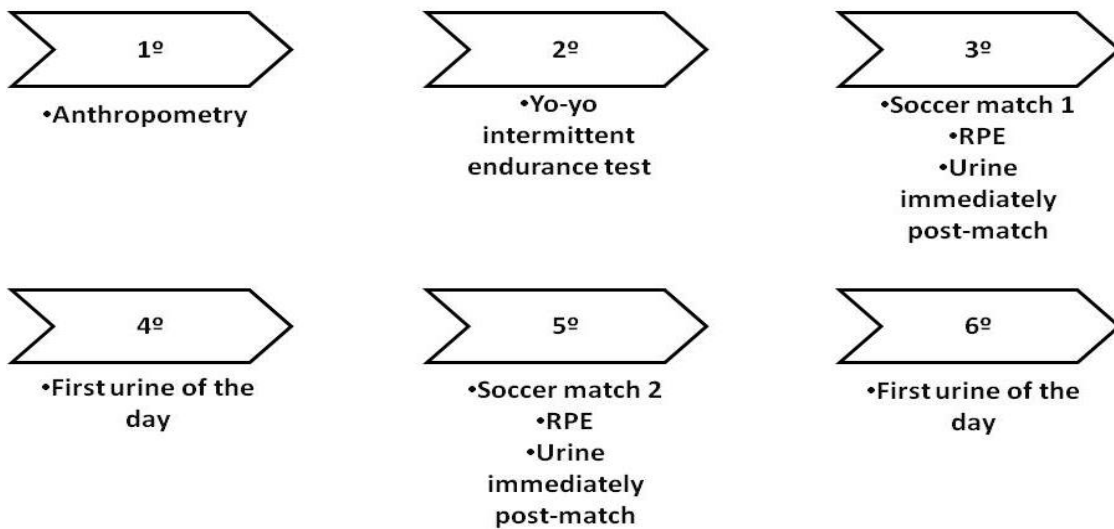


Figure 1. Experimental design; RPE: Rating of perceived exertion.

3.2.3. Group division

The effect of post-exercise time on the metabolic determinants was studied by comparing metabolomics results for the entire group of athletes immediately after the game (POST) and after 20-hours (POST20H). This time frame was chosen to collect the first urine of the day immediately after the game.

The Borg CR 10 scale was collected immediately after soccer matches (visits 3 and 5) (FOSTER et al., 2001). Then, the athletes were subdivided into two groups to study the effect of internal load estimated by RPE on the metabolic profile measured by metabolomics immediately post-matches. The HIGH group was formed by RPE values ≥ 7 on the scale ($n=12$ and $n=6$, respectively, after the two soccer matches). The LOW group included all athletes with RPE values < 7 on the scale ($n=8$ and $n=14$, respectively).

3.2.4. Anthropometry

Height and body mass was assessed with an anthropometric balance (Welmy®, SP, Brazil) with a stadiometer to the nearest 0.1 cm and balance to the nearest 0.1 kg. The triceps, biceps, mid axillary, pectoral, subscapular, abdominal, iliac crest, anterior thigh, and medial calf skinfolds were used to estimate body fat through a Lange Skinfold Caliper (Cambridge,

Maryland, EUA) to the nearest 0.2 mm. After that, body density was estimated using the Faulkner equation (FAULKNER, 1966) commonly used in this sample (LAGO-PENAS et al., 2011), and body fat was calculated (SIRI, 1961).

3.2.4. Yo-yo intermittent endurance test level 1

The yo-yo intermittent endurance test level 1 was performed in Stadium Football at the Federal University of Alagoas. The test consists of continuous running of incremental speeds throughout a 20 meters distance between two reference points, which are marked by two cones (BANGSBO, 1996). Each cycle running until the reference point represented one stage of the test. The stage speeds were increased linearly throughout the test, which was always controlled by a sonorous signal. The test begins at an 8 km.h⁻¹ with increases of 0.5 km.h⁻¹ every stage until exhaustion (BANGSBO, 1996; CASTAGNA et al., 2006). The exhaustion was characterized by not achieving reference points simultaneously with sonorous signal three times or by voluntary exhaustion.

3.2.5. Metabolomics Analysis

Sample preparation

The urine samples were taken to the Chemistry Institute of the Federal University of Alagoas for posterior analysis. Of the 25 mL collected after the match, 1.5 mL aliquots were removed and transferred, individually, to tubes Eppendorf. After that, the samples were centrifuged to 14000 rpm (Hettich Zentrifugen, ROTANTA 460R) for 15 min; thus, the supernatant was transferred and stored in a freezer for further analysis. Before analysis, the samples were, again, centrifuged to 14000 rpm for 15 min to avoid suspension in the samples. After that, 500 µL were collected of each supernatant and individually transferred to a 5 mm NMR tube. Besides, each sample was added 200 µL of a buffer solution (sodium phosphate buffer, pH = 7.4) with 100% of D₂O and 1 mM of TSP (shifts pattern).

Sample analysis and Metabolites identification

The NMR experiments were conducted in a BRUKER 600 MHz spectrometer (AVANCE III) equipped with a 5 mm probe at 300 K (PABBO). All the ¹H-NMR spectra were recorded utilizing the *noesypr1d* pulse sequence with suppression of the water resonance by pre-saturation. For all samples were collected the following parameters, 128 transients into 64 K data points in a 90° pulse angle, 4.00 s relaxation, 0.09 s mixing time, and 2.72 s acquisition time. All spectra were pre-processed in TopSpin® 3.2 software, besides were adjusted phase correction and chemical shifts (δ) having with reference the TSP signal (0.00 ppm) and displayed in ppm format. The data matrix was prepared using MatLab® software (MathWorks, version 13), where the data were superimposed, aligned, cut off, and normalized. After that, all data were transferred to Excel®, forming a data matrix with nearly 24.000 variables. The metabolite peaks identification did occur through Chenomx® and confirmed with the Human Metabolome Database (www.hmdb.ca).

3.3. Statistical analysis

The anthropometric, VO_{2max} , and body fat were presented as mean values and \pm standard deviation (SD). Discriminants metabolites were expressed as percentages. The multivariate statistics analysis was performed in Simca® software 14 (Umetrics, Umeå, Sweden). Principal component analysis (PCA) was conducted to identify possible outliers among all data. Orthogonal partial least square – Discriminant analysis (OPLS-DA) was performed to assess the differences in biochemistry responses between the time post-game (i.e., POST and POST20H), as well as between the groups based on game's intensity (i.e., HIGH and LOW). The metabolites with a value of discrimination higher than 40% were

identified and suggested as discriminants to investigate two scenarios: the time post-game (POST and POST20H) and the game's intensity (HIGH or LOW).

3.4. Results

Figure 1 shows the PCA values of metabolic changes after outliers withdraw in the POST and POST20H in both soccer matches 1 and 2.

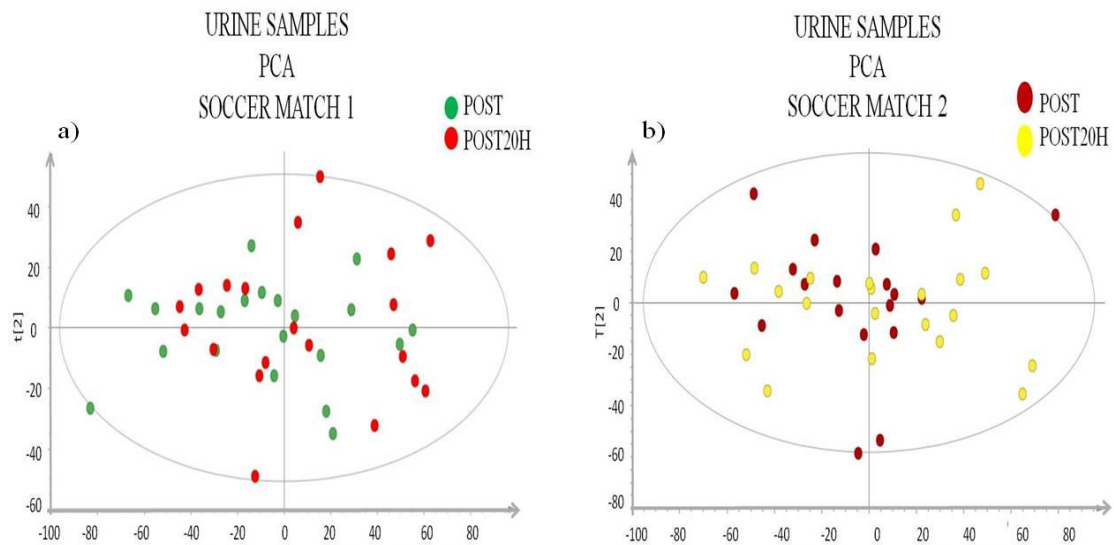


Figure 1. Principal components analysis (PCA) of the ^1H -NMR-derived of metabolic changes immediately post- (POST) and 20 hours (POST20H) post-soccer match 1 (a) and soccer match 2 (b).

OPLS-DA analysis identified possible metabolic changes ($R^2= 0.904$; $Q^2= 0.390$) between the urine samples collected immediately (i.e., POST) and 20 hours (i.e., POST20H) post-match soccer match 1 (figure 2a) and soccer match 2 (figure 2b).

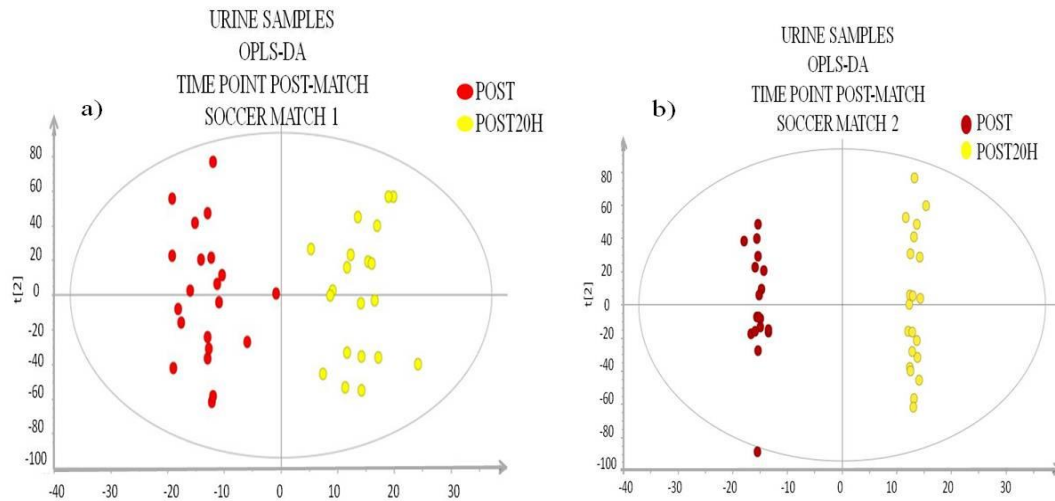


Figure 2. Orthogonal partial least squares – discriminant analysis (OPLS-DA) of the ^1H -NMR-derived of the urine collected: a) scores of metabolic changes immediately post- (red circles) and 20 hours post-match (yellow circles) soccer match 1; b) scores of metabolic changes (red circles) and 20 hours post-match (yellow circles) soccer match 2.

The S-line plot suggested alterations in 7 metabolites immediately post-match and 3 metabolites 20 hours post soccer match 1 (figure 3a, table 1). When observed the metabolic changes in soccer match 2, the S-line plot suggested alterations in 4 metabolites immediately post-match and 2 metabolites 20 hours post-match (figure 3b, table 2).

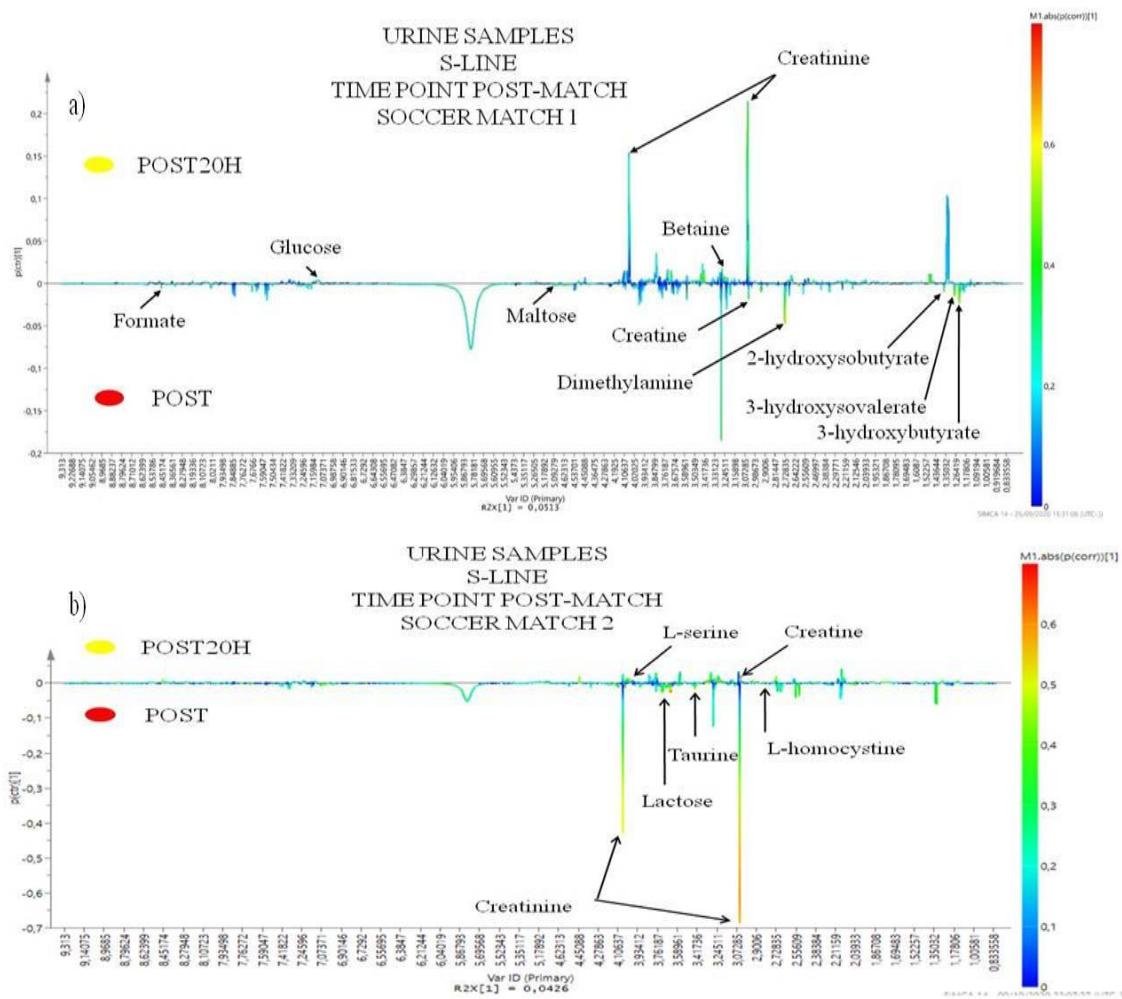


Figure 3. The S-line plot of the $^1\text{H-NMR}$ -derived presenting: a) metabolite suggestion immediately post- and 20 hours post-match soccer match 1; b) metabolite suggestion immediately post- and 20 hours post-match soccer match 2.

Furthermore, OPLS-DA identified also different metabolic changes ($R^2=0.791$; $Q^2=0.169$) between the groups based on the game's intensity of soccer match 1 (figure 4a) as well as of the soccer match 2 (figure 4b).

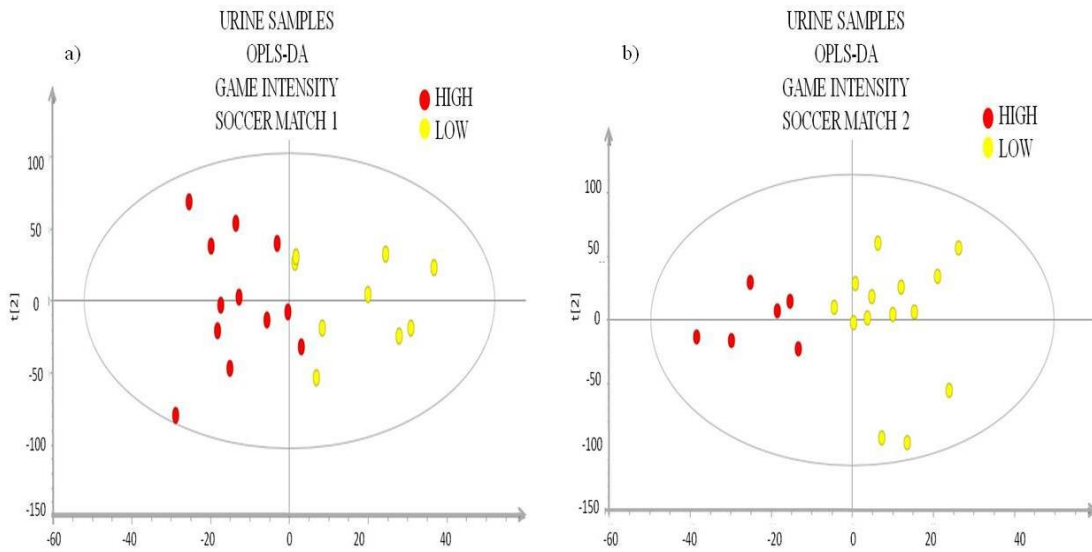


Figure 4. Orthogonal partial least squares – discriminant analysis (OPLS-DA) of the ^1H -NMR-derived of the urine collected: scores of metabolic changes based on the game's intensity in soccer match 1; b) scores of metabolic changes based on the game's intensity in soccer match 2.

The S-line (figure 6) showed metabolic changes for 4 metabolites immediately post-match and 2 metabolites 20 hours post-match (table 2) performed in the soccer match 2. Based on the game's intensity, the S-line suggested alterations in 7 metabolites in the HIGH group and 2 metabolites in the LOW group in soccer match 1 (figure 5a, table 1). In addition, in soccer match 2, S-line suggested changes in 10 metabolites in the HIGH group and 2 metabolites in the LOW group in soccer match 2 (figure 5b, table 2).

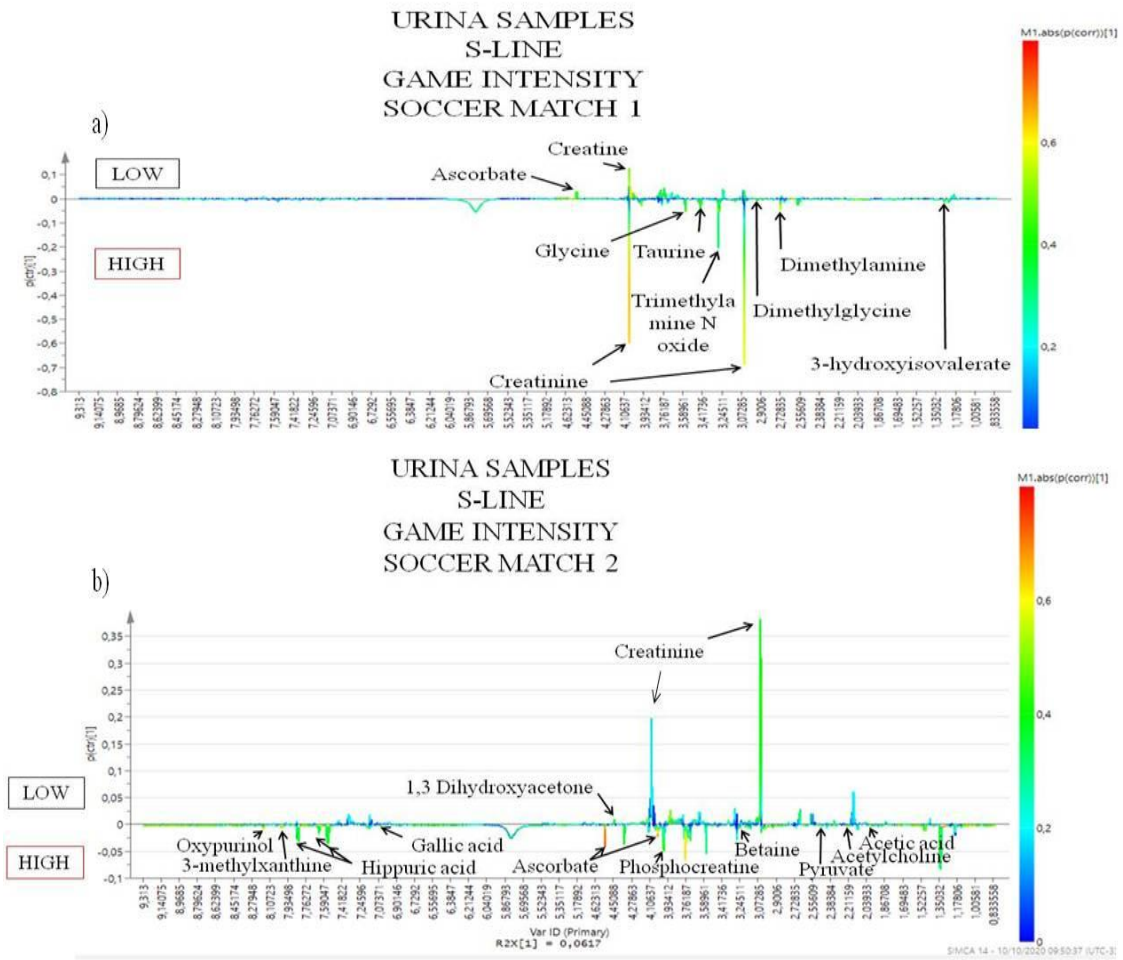


Figure 5. The S-line plot of the $^1\text{H-NMR}$ -derived suggesting metabolites changes based on the game's intensity in soccer match 1 (a) and soccer match 2 (b).

Table 1. Metabolites, sample collection moment, rating of perceived exertion, chemical shifts, and discriminants percentage according to time point post-match (i.e., POST and POST20H), and based on game intensity (i.e., HIGH and LOW) for soccer match 1.

| Metabolite | Sample collection moment/ RPE | δ (ppm) | Discriminant percentage |
|------------|-------------------------------|----------------|-------------------------|
| Formate | POST | 8.444 | 48% |
| Maltose | POST | 4.649 | 56% |
| Creatine | POST | 3.025 | 41% |

| | | | |
|---------------------------|---------|-------|-----|
| Dimethylamine | POST | 2.715 | 50% |
| 2-hydroxysobutyrate | POST | 1.345 | 46% |
| 3-hydroxysovalerate | POST | 1.256 | 49% |
| 3-hydroxybutyrate | POST | 1.190 | 51% |
| Gallic acid | POST20H | 7.073 | 51% |
| Betaine | POST20H | 3.265 | 67% |
| Creatinine | POST20H | 3.034 | 43% |
| Ascorbate | LOW | 4.505 | 54% |
| Creatine | LOW | 3.025 | 47% |
| Creatinine | HIGH | 3.034 | 62% |
| Glycine | HIGH | 3.552 | 46% |
| Taurine | HIGH | 3.420 | 45% |
| Trimethylamine N oxide | HIGH | 3.253 | 45% |
| Dimethylglycine | HIGH | 2.915 | 45% |
| Dimethylamine | HIGH | 2.715 | 55% |
| 3-hydroxyisovalerate | HIGH | 1.256 | 55% |

RPE: Rating of perceived exertion; ppm: part per million; δ : chemical shifts; POST: immediately post-match; POST20: 20 hours post-match.

Table2. Metabolites, sample collection moment, rating of perceived exertion, chemical shifts, and discriminants percentage according to time point post-match (i.e., POST and POST20H), and based on game intensity (i.e., HIGH and LOW) for soccer match 2.

| Metabolite | Sample collection moment/ RPE | δ (ppm) | Discriminant percentage |
|------------|----------------------------------|----------------|----------------------------|
|------------|----------------------------------|----------------|----------------------------|

| | | | |
|------------------|---------|-------|-----|
| Creatinine | POST | 3.034 | 48% |
| Lactose | POST | 3.795 | 53% |
| Taurine | POST | 3.420 | 42% |
| L-homocystine | POST | 2.805 | 49% |
| L-serine | POST20H | 3.934 | 41% |
| Creatine | POST20H | 3.025 | 52% |
| 1,3 | LOW | 4.410 | 45% |
| Dihydroxyacetone | | | |
| Creatinine | LOW | 3.034 | 45% |
| Oxypurinol | HIGH | 8.215 | 57% |
| 3-methylxanthine | HIGH | 8.017 | 55% |
| Hippuric acid | HIGH | 7.610 | 41% |
| Gallic acid | HIGH | 7.073 | 55% |
| Ascorbate | HIGH | 4.505 | 73% |
| Phosphocreatine | HIGH | 4.090 | 41% |
| Betaine | HIGH | 3.265 | 63% |
| Pyruvate | HIGH | 2.364 | 66% |
| Acetic acid | HIGH | 1.950 | 58% |
| Acetylcholine | HIGH | 2.055 | 66% |

RPE: Rating of perceived exertion; ppm: part per million; δ : chemical shifts; POST: immediately post-match; POST20: 20 hours post-match.

3.5. Discussion

The current study used a metabolomics approach (untargeted) to assess urine metabolic changes after two soccer matches. The metabolomics analysis showed alterations in

pathways of lipids, proteins, ketones bodies, and energy systems immediately post-match. Changes in the metabolic profile of U-20 soccer players from immediately to 20h post-game were identified, with the appearance of metabolites related to antioxidants and the anti-inflammatory process at the POST20h mark. Besides, our study is the first to compare metabolomic responses controlled by the RPE. The novel finding agrees with our hypothesis, in which athletes with higher RPE values (i.e., HIGH group) experienced more metabolic changes related to muscular damage and energy yield metabolism than athletes with lesser RPE values (i.e., LOW group).

In the present study, the ¹H-NMR analysis through OPSL-DA (figure 2) analysis shows different metabolic profiles between immediately post-match and 20 hours post-match. This profile is characterized by the presence of some metabolites such as formate, maltose, creatine, dimethylamine, 2-hydroxysobutyrate, 3-hydroxysovalerate, 3-hydroxybutyrate (soccer match 1), and creatinine taurine, and lactose (soccer match 2) immediately post-match regarding the 20 hours post-match. Although formate has been related to energy yield by anaerobic metabolism (JANG et al., 2018), its presence immediately post-match may be associated with α -oxidation of branched-chain fatty acids (PECHLIVANIS et al., 2015), once the presence of ketone bodies was also detected in urine. The appearance of 2-hydroxysobutyrate, 3-hydroxysovalerate, 3-hydroxybutyrate support a possible change in the ketone bodies pathway, since these metabolites presence may represent a source alternative for energy yield energy during exercise (PECHLIVANIS et al., 2015), mainly during intense or prolonged efforts like a soccer match (CASTAGNA et al., 2010; IMPELLIZZERI et al., 2006; STØLEN et al., 2005).

For dimethylamine alterations, evidence suggests this metabolite to be related to muscular stress throughout soccer preseason (PINTUS et al., 2020). Thereby, its change immediately post-match concerning 20 h latter may represent an augmented process of

muscular stress, related to the proximity from the match. This argument is consolidated with the presence of creatine in the urine. The previous find showed that after 6 maximal 60-m sprints concentrations of creatine in urine was elevated (BEZRATI-BENAYED et al., 2014), which may represent a high cellular disturbance to attend exercise demand (JANG et al., 2018) once that creatine should be in the intracellular space and not out of it (BUTTS; JACOBS; SILVIS, 2018). Besides, in soccer match 2, creatinine (creatine subproduct) was discriminant, which may also be associated with muscular tissue damage. This assumption may be strengthened due to discrimination of taurine in soccer match 2, this metabolite also is related to muscular tissue damage when assessed after excessive eccentric movements (JANG et al., 2018). Thereby, the sprints, accelerations, and jumps performed during the game (STØLEN et al., 2005) may justify the presence of these metabolites post-match. Regarding maltose, this metabolite may be associated with maltodextrin ingestion throughout a soccer match. The maltodextrin has been used during exercise as a strategy to maintain exercise performance (BAKER et al., 2015; CURRELL; CONWAY; JEUKENDRUP, 2009); however, the ingestion of maltodextrin was not controlled avoiding a confirmation of this association. Concerning lactose, this metabolite might represent a milk-derived drink before the match (BATISTA et al., 2018). This beverage has been used as an energy source during exercise (ODELL; PODLOGAR; WALLIS, 2020).

When were observed 20 hours post-match performed, the metabolic profile was shifted compared to the moment immediately after the game. Three metabolites such as gallic acid, betaine, and creatinine, and only two metabolites (i.e., l-serine and creatine) were identified in the urine sample in soccer matches 1 and 2, respectively. Gallic acid is a phenolic compound present in blackberry and grape, related to antioxidant actions (NIEMAN et al., 2013). Its activity may be associated with cellular regeneration and maintenance processes (NIEMAN et al., 2013), essential reactions to maintain damaged muscular cells' integrity

during the match. Betaine has been related to the anti-inflammatory process (HOFFMAN et al., 2009), another critical action to regenerate muscular cells post-exercise. The presence of creatine and creatinine 20 hours post-match may be a consequence of elevated muscular cell damage during the game, preciously mentioned. L-serine is involved in the serine pathway, and serine may be associated with gluconeogenesis (LEWIS et al., 2010) a great reaction non-glucose dependent for resynthesis of adenosine triphosphate, which may have been decreased during match performed.

Another result of the present study was different alterations in biochemistry in the athletes based on the RPE, supported by the OPLS-DA analysis (figure 4). Athletes with higher perceived exertion post-match performed in soccer match 1 (i.e., HIGH group) presented glycine, taurine, trimethylamine N oxide, dimethylglycine 3-hydroxyisovalerate, and dimethylamine, and oxypurinol, 3-methylxanthine, hippuric acid, gallic acid, ascorbate, phosphocreatine, betaine, pyruvate, acetic acid, and acetylcholine in soccer match 2. Glycine, dimethylglycine, and taurine might be related to protein catabolism (STANDER et al., 2018), probably augmented due to the constant eccentric movements (i.e., accelerations and decelerations) (JANG et al., 2018) a factor highly related to muscular tissue damage in sports (SILVA et al., 2018). This assumption associated with muscular cell disturbance is supported by discrimination of phosphocreatine (HARGREAVES; SPRIET, 2020), 3-methylxanthine, and hippuric acid (NEAL et al., 2013), metabolites also related to cell damage, in the urine of the athletes into the HIGH group in soccer match 2. Still in this line of organic disturbance in the presence of pyruvate in the urine; this metabolite may represent the augmented glycolytic activity during the game (HARGREAVES; SPRIET, 2020; STØLEN et al., 2005). Increased glycolytic activity suggests that athletes with higher perceived exertion may have performed high-intensity efforts separated by brief recovery (HARPER; CARLING; KIELY, 2019). Also, about energy contribution, the acid acetic in urine may be associated with aerobic

metabolism. Acid acetic is a metabolite derived of the acetyl-CoA metabolism (LEMIEUX; PURVES, 1947), an important molecule during aerobic energy yield by TCA cycle (HARGREAVES; SPRIET, 2020), which may be relevant during the process of oxidation of the subproducts generated during the high glycolytic activity, mentioned above. Nonetheless, a potential mechanism of defense to avoid an exacerbated cell damage may be justified from the discrimination of gallic, ascorbate, and betaine in these athletes in soccer match 2, but not soccer match 1, compared to their counterparts, which may represent a feasible difference of intensity between two matches (HOFFMAN et al., 2009; NIEMAN et al., 2013; SIMPSON; ORTWERTH, 2000). Some biochemical markers of renal stress, such as trimethylamine N oxide, dimethylamine, and 3-hydroxyisovalerate (PINTUS et al., 2020; SUN et al., 2017), may be associated with dehydration during the match.

On the other hand, in soccer match 1 the athletes that reported a perceived exertion value lesser than 7 (i.e., LOW group) showed alterations on ascorbate and creatine. Additionally, 1,3 dihydroxyacetone and creatinine were discriminated in the LOW group in soccer match 2. Although these athletes perceived lower exertion, which is understanding as lesser metabolic disturbance, the ascorbate discrimination might show that the organism also working in an antioxidant pathway (SIMPSON; ORTWERTH, 2000), a vital process of cell regeneration and maintenance. This argument is underpinned by creatine and creatinine, its presence in urine also might represent muscular damage in these athletes (JANG et al., 2018). The presence of 1,3 dihydroxyacetone suggests a gluconeogenesis process during exercise (HARGREAVES; SPRIET, 2020) because this metabolite is related to glycerol metabolism (ZHANG et al., 2016).

Some limitations of the study must be addressed. First, there was no sample at baseline, before the matches. However, this is not an impediment to compare the post-game moments and the effect of intensity on the metabolic profile, once that ¹H-NMR spectral

analysis can identify metabolic changes according to specified moments. Another limitation was the absence of direct performance measurements such as sprint numbers, acceleration, distance performed, and others, which might be correlated with metabolic data. Nonetheless, although these measures could improve the analysis, the experiment showed RPE potential to differentiate metabolic profiles confirmed by metabolomics analysis, which allowed identifying which metabolites are modified by intensity and recovery post a soccer match.

3.6. Conclusion

In conclusion, our results showed that immediately post-match, as well as in athletes with higher RPE values, there was more disturbance on metabolic pathways related to energy yield, muscular tissue damage, and stress.

3.7. References

- BAKER, L. B. et al. Acute effects of carbohydrate supplementation on intermittent sports performance. **Nutrients**, v. 7, n. 7, p. 5733–5763, 2015.
- BANGSBO, J. Yo-Yo Test Ancona Kells. 1996.
- BATISTA, R. A. B. et al. Lactose in processed foods: Evaluating the availability of information regarding its amount. **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 23, n. 12, p. 4119–4128, 2018.
- BEZRATI-BENAYED, I. et al. Urinary creatine at rest and after repeated sprints in athletes: A pilot study. **Biology of Sport**, v. 31, n. 1, p. 49–54, 2014.
- BONGIOVANNI, T. et al. Sportomics: Metabolomics applied to sports. The new revolution? **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 23, n. 24, p. 11011–11019, 2019.
- BORG, G. A. Psychophysical bases of perceived exertion. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 14, n. 5, p. 377–381, 1982.
- BORG, G.; HASSMÉN, P.; LAGERSTRÖM, M. Perceived exertion related to heart rate and blood lactate during arm and leg exercise. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, v. 56, n. 6, p. 679–685, 1987.
- BUTTS, J.; JACOBS, B.; SILVIS, M. Creatine Use in Sports. **Sports Health**, v. 10, n. 1, p. 31–34, 2018.
- CASTAGNA, C. et al. Relationship between endurance field tests and match performance in young soccer players. **Journal of strength and conditioning research**, v. 24, n. 12, p. 3227–3233, 2010.
- COUTTS, A. J. et al. Heart rate and blood lactate correlates of perceived exertion during small-sided soccer games. **Journal of Science and Medicine in Sport**, v. 12, n. 1, p. 79–84,

2009.

CURRELL, K.; CONWAY, S.; JEUKENDRUP, A. E. Carbohydrate ingestion improves performance of a new reliable test of soccer performance. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 19, n. 1, p. 34–46, 2009.

FAULKNER, J. A. Physiology of swimming. **Research Quarterly of the American Association for Health, Physical Education and Recreation**, v. 37, n. 1, p. 41–54, 1966.

FOSTER, C. et al. A new approach to monitoring exercise training. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 15, n. 1, p. 109–115, 2001.

GOMES, C. P. C. et al. **Omics and the molecular exercise physiology**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2020. v. 96

HADDAD, M. et al. The construct validity of session RPE during an intensive camp in young male Taekwondo athletes. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v. 6, n. 2, p. 252–263, 2011.

HALL, M.; TROJIAN, T. H. Creatine Supplementation. **Current sports medicine reports**, v. 12, n. 4, p. 240–244, 2013.

HARGREAVES, M.; SPRIET, L. L. Skeletal muscle energy metabolism during exercise. **Nature Metabolism**, v. 2, n. 9, p. 817–828, 2020.

HARPER, D. J.; CARLING, C.; KIELY, J. High-Intensity Acceleration and Deceleration Demands in Elite Team Sports Competitive Match Play: A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies. **Sports Medicine**, v. 49, n. 12, p. 1923–1947, 2019.

HEANEY, L. M. et al. Non-targeted metabolomics in sport and exercise science. **Journal of Sports Sciences**, v. 00, n. 00, p. 1–9, 2017.

HOFFMAN, J. R. et al. Effect of betaine supplementation on power performance and fatigue. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 6, p. 1–10, 2009.

IMPELLIZZERI, F. M. et al. Use of RPE-based training load in soccer. **Medicine and**

Science in Sports and Exercise, v. 36, n. 6, p. 1042–1047, 2004.

IMPELLIZZERI, F. M. et al. Physiological and performance effects of generic versus specific aerobic training in soccer players. **International Journal of Sports Medicine**, v. 27, n. 6, p. 483–492, 2006.

JACKSON, A. S.; POLLOCK, M. L. Practical assessment of body composition. **Physician and Sportsmedicine**, v. 13, n. 5, p. 76–90, 1985.

JAMNICK, N. A. et al. An Examination and Critique of Current Methods to Determine Exercise Intensity. **Sports Medicine**, n. 0123456789, p. 1–28, 2020.

JANG, H. J. et al. Metabolic profiling of eccentric exercise-induced muscle damage in human urine. **Toxicological Research**, v. 34, n. 3, p. 199–210, 2018.

LEMIEUX, R.; PURVES, C. Quantitative estimation as acetic acid of acetyl, ethylidene, ethoxy, and α -hydroxyethyl groups. **Canadian journal of research**, v. 25, n. 5, p. 485–489, 1947.

LEWIS, G. D. et al. Metabolic Signatures of Exercise in Human Plasma. **Science translational medicine**, v. 2, n. 33, p. 33–37, 2010.

LUPO, C.; CAPRANICA, L.; TESSITORE, A. The validity of the session-RPE method for quantifying training load in water polo. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v. 9, n. 4, p. 656–660, 2014.

MAUGHAN, R. J. et al. IOC Consensus Statement: Dietary Supplements and the High-Performance Athlete. **International journal of sport nutrition and exercise metabolism**, v. 28, n. 2, p. 104–125, mar. 2018.

NAKAMURA, F. Y.; MOREIRA, A.; AOKI, M. S. Monitoramento da carga de treinamento: a percepção subjetiva do esforço da sessão é um método confiável? **Revista da Educação Física/UEM**, v. 21, n. 1, p. 1–11, 2010.

NEAL, C. M. et al. Six weeks of a polarized training-intensity distribution leads to greater

physiological and performance adaptations than a threshold model in trained cyclists. **Journal of Applied Physiology**, v. 114, n. 4, p. 461–471, 2013.

NEELY, G. et al. Comparison between the Visual Analogue Scale (VAS) and the Category Ratio Scale (CR-10) for the evaluation of leg exertion. **International journal of sports medicine**, v. 13, p. 133–136, 1992.

NIEMAN, D. C. et al. Influence of a Polyphenol-Enriched Protein Powder on Exercise-Induced Inflammation and Oxidative Stress in Athletes: A Randomized Trial Using a Metabolomics Approach. **PLoS ONE**, v. 8, n. 8, p. e72215, 2013b. .

NOBLE, B. J. et al. A category-ratio perceived exertion scale: relationship to blood and muscle lactates and heart rate. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 15, n. 6, p. 523–528, 1983.

ODELL, O. J.; PODLOGAR, T.; WALLIS, G. A. Comparable Exogenous Carbohydrate Oxidation from Lactose or Sucrose during Exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. Publish Ah, n. June, 2020.

PECHLIVANIS, A. et al. 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**, v. 14, n. 11, p. 4610–4622, 2015.

PINTUS, R. et al. Sportomics in professional soccer players: metabolomics results during preseason. **The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, 2020.

QUINTAS, G. et al. Urine metabolomic analysis for monitoring internal load in professional football players. **Metabolomics**, v. 16, n. 4, p. 1–11, 2020.

RA, S. G. et al. Metabolomics of salivary fatigue markers in soccer players after consecutive games. **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**, v. 39, n. 10, p. 1120–1126, 2014.

SAKAGUCHI, C. A. et al. Metabolomics-based studies assessing exercise-induced alterations of the human metabolome: A systematic review. **Metabolites**, v. 9, n. 8, 2019.

- SCHRANNER, D. et al. Metabolite Concentration Changes in Humans After a Bout of Exercise: a Systematic Review of Exercise Metabolomics Studies. **Sports Medicine - Open**, v. 6, n. 1, 2020.
- SEILER, K. S.; KJERLAND, G. Ø. Quantifying training intensity distribution in elite endurance athletes: Is there evidence for an “optimal” distribution? **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, v. 16, n. 1, p. 49–56, 2006.
- SILVA, J. R. et al. Acute and Residual Soccer Match-Related Fatigue: A Systematic Review and Meta-analysis. **Sports Medicine**, v. 48, n. 3, p. 539–583, 2018.
- SIMPSON, G. L. W.; ORTWERTH, B. J. The non-oxidative degradation of ascorbic acid at physiological conditions. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease**, v. 1501, n. 1, p. 12–24, 2000.
- SIRI, W. Body composition from fluids spaces and density: Analysis of two methods. **Techniques for Measuring Body Composition**, p. 223–224, 1961.
- SLIMANI, M. et al. Rating of perceived exertion for quantification of training and combat loads during combat sport-specific activities: A short review. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 31, n. 10, p. 2889–2902, 2017.
- STEED, J.; GAESSER, G. A.; WELTMAN, A. Rating of perceived exertion and blood lactate concentration during submaximal running. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 26, p. 797–803, 1994.
- STØLEN, T. et al. Physiology of soccer. **Sports medicine**, v. 35, n. 6, p. 501–536, 2005.
- SUN, T. et al. Metabolomic profiles investigation on athletes’ urine 35 minutes after an 800-meter race. **Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v. 57, n. 6, p. 839–849, 2017.
- WANG, F. et al. Applying ¹H NMR Spectroscopy to Detect Changes in the Urinary Metabolite Levels of Chinese Half-Pipe Snowboarders after Different Exercises. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2015, 2015.

WOLYNIEC, W. et al. Changes in water soluble uremic toxins and urinary acute kidney injury biomarkers after 10-and 100-km runs. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 21, p. 1–19, 2019.

ZHANG, J. et al. Conversion of glycerol to 1,3-dihydroxyacetone by glycerol dehydrogenase co-expressed with an NADH oxidase for cofactor regeneration. **Biotechnology Letters**, v. 38, n. 9, p. 1559–1564, 2016.

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALIFERIS, K. A.; JABAJI, S. ¹H NMR and GC-MS metabolic fingerprinting of developmental stages of *Rhizoctonia solani* sclerotia. **Metabolomics**, v. 6, n. 1, p. 96–108, 2010.
- BAKER, L. B. et al. Acute effects of carbohydrate supplementation on intermittent sports performance. **Nutrients**, v. 7, n. 7, p. 5733–5763, 2015.
- BANGSBO, J. Yo-Yo Test Ancona Kells. 1996.
- BANGSBO, J.; IAIA, F. M.; KRUSTRUP, P. Metabolic response and fatigue in soccer. **International journal of sports physiology and performance**, v. 2, n. 2, p. 111–127, 2007.
- BANISTER, E. Modeling elite athletic performance. **Physiological testing of elite athletes**, v. 403, p. 424, 1991.
- BATISTA, R. A. B. et al. Lactose in processed foods: Evaluating the availability of information regarding its amount. **Ciencia e Saude Coletiva**, v. 23, n. 12, p. 4119–4128, 2018.
- BEZRATI-BENAYED, I. et al. Urinary creatine at rest and after repeated sprints in athletes: A pilot study. **Biology of Sport**, v. 31, n. 1, p. 49–54, 2014.
- BOBONIS, G. J.; STABILE, M.; TOVAR, L. Military training exercises, pollution, and their consequences for health. **Journal of Health Economics**, v. 73, n. May, p. 102345, 2020.
- BONGIOVANNI, T. et al. Sportomics: Metabolomics applied to sports. The new revolution? **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 23, n. 24, p. 11011–11019, 2019.
- BORG, G. A. Psychophysical bases of perceived exertion. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 14, n. 5, p. 377–381, 1982.
- BORG, G. A. **Borg's perceived exertion and pain scales**. [s.l.] Human kinetics, 1998.
- BORG, G.; HASSMÉN, P.; LAGERSTRÖM, M. Perceived exertion related to heart rate and blood lactate during arm and leg exercise. **European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology**, v. 56, n. 6, p. 679–685, 1987.
- BURGOMASTER, K. A. et al. Six sessions of sprint interval training increases muscle oxidative potential and cycle endurance capacity in humans. **Journal of Applied Physiology**, v. 98, n. 6, p. 1985–1990, 2005.
- BURTSCHER, M. et al. Preparation for Endurance Competitions at Altitude : Physiological , Psychological , Dietary and Coaching Aspects . A Narrative Review. v. 9, n. October, p. 1–16, 2018.
- BUTTS, J.; JACOBS, B.; SILVIS, M. Creatine Use in Sports. **Sports Health**, v. 10, n. 1, p. 31–34, 2018.

- BYLESJÖ, M. et al. OPLS discriminant analysis: Combining the strengths of PLS-DA and SIMCA classification. **Journal of Chemometrics**, v. 20, n. 8–10, p. 341–351, 2006.
- CANUTO, G. A. B. et al. Metabolomics: Definitions, state-of-the-art and representative applications. **Química Nova**, v. 41, n. 1, p. 75–91, 2018.
- CASTAGNA, C. et al. Relationship between endurance field tests and match performance in young soccer players. **Journal of strength and conditioning research**, v. 24, n. 12, p. 3227–3233, 2010.
- COUTTS, A. J. et al. Heart rate and blood lactate correlates of perceived exertion during small-sided soccer games. **Journal of Science and Medicine in Sport**, v. 12, n. 1, p. 79–84, 2009.
- CURRELL, K.; CONWAY, S.; JEUKENDRUP, A. E. Carbohydrate ingestion improves performance of a new reliable test of soccer performance. **International Journal of Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 19, n. 1, p. 34–46, 2009.
- DANAHER, J. et al. The use of metabolomics to monitor simultaneous changes in metabolic variables following supramaximal low volume high intensity exercise. **Metabolomics**, v. 12, n. 1, p. 1–13, 2016.
- DAVIS, P. G. et al. Effect of exercise duration on plasma endothelin-1 concentration. **Journal of sports medicine and physical fitness**, v. 45, n. 3, p. 419, 2005.
- DAVISON, G. et al. Metabolomic Response to Acute Hypoxic Exercise and Recovery in Adult Males. v. 9, n. November, p. 1–10, 2018.
- DUNN, W. B.; ELLIS, D. I. Metabolomics : Current analytical platforms and methodologies. v. 24, n. 4, 2005.
- DURSTINE, J. L. et al. Effects of short-duration and long-duration exercise on lipoprotein(a). **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 33, n. 9, p. 1511–1516, 2001.
- EDWARDS, S. High performance training and racing. **The heart rate monitor book**, v. 349, p. 113–123, 1993.
- EMWAS, A. M. The strengths and weaknesses of NMR spectroscopy and mass spectrometry with particular focus on metabolomics research. In: **Metabonomics**. [s.l.] Springer, 2015. p. 161–193.
- FALK NETO, J. H. et al. Session Rating of Perceived Exertion Is a Superior Method to Monitor Internal Training Loads of Functional Fitness Training Sessions Performed at Different Intensities When Compared to Training Impulse. **Frontiers in Physiology**, v. 11, n. August, 2020.
- FAULKNER, J. A. Physiology of swimming. **Research Quarterly of the American**

- Association for Health, Physical Education and Recreation**, v. 37, n. 1, p. 41–54, 1966.
- FOSTER, C. et al. A new approach to monitoring exercise training. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 15, n. 1, p. 109–115, 2001.
- GIBALA, M. J. et al. Short-term sprint interval versus traditional endurance training: Similar initial adaptations in human skeletal muscle and exercise performance. **Journal of Physiology**, v. 575, n. 3, p. 901–911, 2006.
- GIBALA, M. J.; JONES, A. M. Physiological and performance adaptations to high-intensity interval training. **Nestle Nutrition Institute Workshop Series**, v. 76, p. 51–60, 2013.
- GOMES, C. P. C. et al. **Omics and the molecular exercise physiology**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2020. v. 96
- HADDAD, M. et al. The construct validity of session RPE during an intensive camp in young male Taekwondo athletes. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v. 6, n. 2, p. 252–263, 2011.
- HADDAD, M. et al. Session-RPE method for training load monitoring: Validity, ecological usefulness, and influencing factors. **Frontiers in Neuroscience**, v. 11, n. NOV, 2017.
- HALL, J. E. **Guyton e Hall tratado de fisiologia médica**. 13. ed. [s.l.] Elsevier Brasil, 2017.
- HALL, M.; TROJIAN, T. H. Creatine Supplementation. **Current sports medicine reports**, v. 12, n. 4, p. 240–244, 2013.
- HARGREAVES, M.; SPRIET, L. L. Skeletal muscle energy metabolism during exercise. **Nature Metabolism**, v. 2, n. 9, p. 817–828, 2020.
- HARPER, D. J.; CARLING, C.; KIELY, J. High-Intensity Acceleration and Deceleration Demands in Elite Team Sports Competitive Match Play: A Systematic Review and Meta-Analysis of Observational Studies. **Sports Medicine**, v. 49, n. 12, p. 1923–1947, 2019.
- HAWLEY, J. A. et al. Maximizing Cellular Adaptation to Endurance Exercise in Skeletal Muscle. **Cell Metabolism**, v. 27, n. 5, p. 962–976, 2018.
- HEANEY, L. M. et al. Non-targeted metabolomics in sport and exercise science. **Journal of Sports Sciences**, v. 00, n. 00, p. 1–9, 2017.
- HODGSON, A. B. et al. Metabolic response to green tea extract during rest and moderate-intensity exercise. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 24, n. 1, p. 325–334, 2013.
- HØEG, T. B. et al. Ultramarathon Plasma Metabolomics: Phosphatidylcholine Levels Associated with Running Performance. **Sports**, v. 8, n. 4, p. 44, 2020.
- HOFFMAN, J. R. et al. Effect of betaine supplementation on power performance and fatigue. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 6, p. 1–10, 2009.
- HOWE, C. C. F. et al. Untargeted Metabolomics Profiling of an 80 . 5 km Simulated

- Treadmill Ultramarathon. **Metabolites**, v. 8, n. 1, p. 14, 2018.
- ICHINOSE, T. et al. Effect of endurance training supplemented with green tea extract on substrate metabolism during exercise in humans. **Scandinavian journal of medicine & science in sports**, v. 21, n. 4, p. 598–605, 2011.
- IMPELLIZZERI, F. M. et al. Use of RPE-based training load in soccer. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 36, n. 6, p. 1042–1047, 2004.
- IMPELLIZZERI, F. M. et al. Physiological and performance effects of generic versus specific aerobic training in soccer players. **International Journal of Sports Medicine**, v. 27, n. 6, p. 483–492, 2006.
- JACOBS, D. M. et al. Metabolic response to decaffeinated green tea extract during rest and moderate-intensity exercise. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 62, n. 40, p. 9936–9943, 2013.
- JAMNICK, N. A. et al. An Examination and Critique of Current Methods to Determine Exercise Intensity. **Sports Medicine**, n. 0123456789, p. 1–28, 2020.
- JANG, H. J. et al. Metabolic profiling of eccentric exercise-induced muscle damage in human urine. **Toxicological Research**, v. 34, n. 3, p. 199–210, 2018.
- JEUKENDRUP, A. E. Nutrition for endurance sports: Marathon, triathlon, and road cycling. **JOURNAL OF SPORTS SCIENCES**, v. 29, n. 1, SI, p. S91–S99, 2011.
- JOHNSON, C. H.; IVANISEVIC, J.; SIUZDAK, G. Metabolomics: beyond biomarkers and towards mechanisms. **Nature Publishing Group**, p. 1–9, 2016.
- KADDURAH-DAOUK, R.; KRISTAL, B. S.; WEINSHILBOUM, R. M. Metabolomics: A global biochemical approach to drug response and disease. **Annual Review of Pharmacology and Toxicology**, v. 48, p. 653–683, 2008.
- KARL, J. P. et al. Military training elicits marked increases in plasma metabolomic signatures of energy metabolism, lipolysis, fatty acid oxidation, and ketogenesis. **Physiological Reports**, v. 5, n. 17, p. 1–14, 2017.
- KAUFMAN, K. R.; BRODINE, S.; SHAFFER, R. Military training-related injuries: Surveillance, research, and prevention. **American Journal of Preventive Medicine**, v. 18, n. 3 SUPPL., p. 54–63, 2000.
- KISTNER, S. et al. High-intensity interval training decreases resting urinary hypoxanthine concentration in young active men—a metabolomic approach. **Metabolites**, v. 9, n. 7, p. 9–11, 2019.
- KNAB, A. M. et al. Effects of a flavonoid-rich juice on inflammation, oxidative stress, and immunity in elite swimmers: A metabolomics-based approach. **International Journal of**

- Sport Nutrition and Exercise Metabolism**, v. 23, n. 2, p. 150–160, 2013.
- KOAY, Y. C. et al. Effect of chronic exercise in healthy young male adults : a metabolomic analysis. **Cardiovascular Research**, p. 1–10, 2020.
- KUSONMANO, K.; VONGSANGNAK, W. Informatics for Metabolomics. 2016.
- LEHMANN, R. et al. Medium chain acylcarnitines dominate the metabolite pattern in humans under moderate intensity exercise and support lipid oxidation. **PLoS ONE**, v. 5, n. 7, 2010.
- LEMIEUX, R.; PURVES, C. Quantitative estimation as acetic acid of acetyl, ethylidene, ethoxy, and α -hydroxyethyl groups. **Canadian journal of research**, v. 25, n. 5, p. 485–489, 1947.
- LEWIS, G. D. et al. Metabolic Signatures of Exercise in Human Plasma. **Science translational medicine**, v. 2, n. 33, p. 33–37, 2010.
- LUCIA, A. et al. Tour de France versus Vuelta a Espana: which is harder? **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 35, p. 872–878, 2003.
- LUPO, C.; CAPRANICA, L.; TESSITORE, A. The validity of the session-RPE method for quantifying training load in water polo. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v. 9, n. 4, p. 656–660, 2014.
- MACINNIS, M. J.; GIBALA, M. J. Physiological adaptations to interval training and the role of exercise intensity. **Journal of Physiology**, v. 595, n. 9, p. 2915–2930, 2017.
- MACINTOSH, B. R.; RASSIER, D. E. What is fatigue? **Canadian journal of applied physiology**, v. 27, p. 42–55, 2002.
- MANAF, F. A. et al. Characterizing the plasma metabolome during and following a maximal exercise cycling test. **Journal of Applied Physiology**, v. 125, n. 4, p. 1193–1203, 2018.
- MAUGHAN, R. J. et al. IOC Consensus Statement: Dietary Supplements and the High-Performance Athlete. **International journal of sport nutrition and exercise metabolism**, v. 28, n. 2, p. 104–125, mar. 2018.
- MESSIER, F. M. et al. The impact of moderate altitude on exercise metabolism in recreational sportsmen : a nuclear magnetic resonance metabolomic approach. **APPLIED PHYSIOLOGY NUTRITION AND METABOLISM**, p. 1–22, 2017.
- MUSHTAQ, M. Y. et al. Extraction for metabolomics: Access to the metabolome. **Phytochemical Analysis**, v. 25, n. 4, p. 291–306, 2014.
- NAKAMURA, F. Y.; MOREIRA, A.; AOKI, M. S. Monitoramento da carga de treinamento: a percepção subjetiva do esforço da sessão é um método confiável? **Revista da Educação Física/UEM**, v. 21, n. 1, p. 1–11, 2010.
- NEAL, C. M. et al. Six weeks of a polarized training-intensity distribution leads to greater

- physiological and performance adaptations than a threshold model in trained cyclists. **Journal of Applied Physiology**, v. 114, n. 4, p. 461–471, 2013.
- NEELY, G. et al. Comparison between the Visual Analogue Scale (VAS) and the Category Ratio Scale (CR-10) for the evaluation of leg exertion. **International journal of sports medicine**, v. 13, p. 133–136, 1992.
- NICHOLSON, J. K.; WILSON, I. D. Understanding “global” systems biology: Metabonomics and the continuum of metabolism. **Nature Reviews Drug Discovery**, v. 2, n. 8, p. 668–676, 2003.
- NIEMAN, D. C. et al. Serum metabolic signatures induced by a three-day intensified exercise period persist after 14 h of recovery in runners. **Journal of Proteome Research**, v. 12, n. 10, p. 4577–4584, 2013a.
- NIEMAN, D. C. et al. Influence of a Polyphenol-Enriched Protein Powder on Exercise-Induced Inflammation and Oxidative Stress in Athletes: A Randomized Trial Using a Metabolomics Approach. **PLoS ONE**, v. 8, n. 8, p. e72215, 2013b.
- NIEMAN, D. C. et al. Influence of pistachios on performance and exercise-induced inflammation, oxidative stress, immune dysfunction, and metabolite shifts in cyclists: A randomized, crossover trial. **PLoS ONE**, v. 9, n. 11, p. 1–12, 2014a.
- NIEMAN, D. C. et al. Metabolomics approach to assessing plasma 13- and 9-hydroxy-octadecadienoic acid and linoleic acid metabolite responses to 75-km cycling. **American Journal of Physiology - Regulatory Integrative and Comparative Physiology**, v. 307, n. 1, p. 68–75, 2014b.
- NIEMAN, D. C. et al. Metabolomics-Based Analysis of Banana and Pear Ingestion on Exercise Performance and Recovery. 2015.
- NIEMAN, D. C.; SHA, W.; PAPPAN, K. L. IL - 6 Linkage to Exercise-Induced Shifts in Lipid-Related Metabolites: A Metabolomics-Based Analysis. 2017.
- NOBLE, B. J. et al. A category-ratio perceived exertion scale: relationship to blood and muscle lactates and heart rate. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 15, n. 6, p. 523–528, 1983.
- ODELL, O. J.; PODLOGAR, T.; WALLIS, G. A. Comparable Exogenous Carbohydrate Oxidation from Lactose or Sucrose during Exercise. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. Publish Ah, n. June, 2020.
- PEAKE, J. M. et al. Metabolic and hormonal responses to isoenergetic high-intensity interval exercise and continuous moderate-intensity exercise. **American Journal of Physiology - Endocrinology and Metabolism**, v. 307, n. 7, p. E539–E552, 2014.

- PECHLIVANIS, A. et al. ¹H 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**, v. 12, n. 1, p. 470–480, 2013.
- PECHLIVANIS, A. et al. 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**, v. 14, n. 11, p. 4610–4622, 2015.
- PETIBOIS, C. et al. Discriminant serum biochemical parameters in top class marathon performances. **Japanese Journal of Physiology**, v. 52, n. 2, p. 181–190, 2002.
- PINTUS, R. et al. Sportomics in professional soccer players: metabolomics results during preseason. **The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, 2020.
- PITTI, E. et al. Salivary metabolome and soccer match: Challenges for understanding exercise induced changes. **Metabolites**, v. 9, n. 7, 2019.
- QUINTAS, G. et al. Urine metabolomic analysis for monitoring internal load in professional football players. **Metabolomics**, v. 16, n. 4, p. 1–11, 2020.
- RA, S. G. et al. Metabolomics of salivary fatigue markers in soccer players after consecutive games. **Applied Physiology, Nutrition and Metabolism**, v. 39, n. 10, p. 1120–1126, 2014.
- RØMER, T. et al. The relationship between peak fat oxidation and prolonged double-poling endurance exercise performance. **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, p. 0–2, 2020.
- SAKAGUCHI, C. A. et al. Metabolomics-based studies assessing exercise-induced alterations of the human metabolome: A systematic review. **Metabolites**, v. 9, n. 8, 2019.
- SCHADER, J. F. et al. Metabolite Shifts Induced by Marathon Race Competition Differ between Athletes Based on Level of Fitness and Performance : A Substudy of the Enzy-MagIC Study. **Metabolites**, v. 10, n. 3, p. 87, 2020.
- SCHRANNER, D. et al. Metabolite Concentration Changes in Humans After a Bout of Exercise: a Systematic Review of Exercise Metabolomics Studies. **Sports Medicine - Open**, v. 6, n. 1, 2020.
- SEILER, K. S.; KJERLAND, G. Ø. Quantifying training intensity distribution in elite endurance athletes: Is there evidence for an “optimal” distribution? **Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports**, v. 16, n. 1, p. 49–56, 2006.
- SHI, R. et al. Runners ’ metabolomic changes following marathon. **Nutrition & Metabolism**, v. 17, n. 1, p. 1–12, 2020.
- SHUMWAY, J. et al. Biomarkers, Creatine Kinase, and Kidney Function of Special Operation Candidates During Intense Physiological Training. **Military medicine**, v. 185, n.

7–8, p. e982–e987, 2020.

SILVA, J. R. et al. Acute and Residual Soccer Match-Related Fatigue: A Systematic Review and Meta-analysis. **Sports Medicine**, v. 48, n. 3, p. 539–583, 2018.

SIMPSON, G. L. W.; ORTWERTH, B. J. The non-oxidative degradation of ascorbic acid at physiological conditions. **Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease**, v. 1501, n. 1, p. 12–24, 2000.

SIRI, W. Body composition from fluids spaces and density: Analysis of two methods.

Techniques for Measuring Body Composition, p. 223–224, 1961.

SLIMANI, M. et al. Rating of perceived exertion for quantification of training and combat loads during combat sport-specific activities: A short review. **Journal of Strength and Conditioning Research**, v. 31, n. 10, p. 2889–2902, 2017.

STANDER, Z. et al. The altered human serum metabolome induced by a marathon.

Metabolomics, v. 14, n. 11, p. 150, 2018.

STEED, J.; GAESSER, G. A.; WELTMAN, A. Rating of perceived exertion and blood lactate concentration during submaximal running. **Medicine and science in sports and exercise**, v. 26, p. 797–803, 1994.

STÖGGL, T. L. et al. Pacing, Exercise Intensity, and Technique by Performance Level in Long-Distance Cross-Country Skiing. **Frontiers in Physiology**, v. 11, n. February, p. 1–12, 2020.

STØLEN, T. et al. Physiology of soccer. **Sports medicine**, v. 35, n. 6, p. 501–536, 2005.

SUN, T. et al. Metabolomic profiles investigation on athletes' urine 35 minutes after an 800-meter race. **Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v. 57, n. 6, p. 839–849, 2017.

TRIVEDI, D. K.; HOLLYWOOD, K. A.; GOODACRE, R. Metabolomics for the masses: The future of metabolomics in a personalized world. **New Horizons in Translational Medicine**, v. 3, n. 6, p. 294–305, 2017.

WANG, F. et al. Applying ¹H NMR Spectroscopy to Detect Changes in the Urinary Metabolite Levels of Chinese Half-Pipe Snowboarders after Different Exercises. **Journal of Analytical Methods in Chemistry**, v. 2015, 2015.

WOŁYNIĘC, W. et al. Changes in water soluble uremic toxins and urinary acute kidney injury biomarkers after 10-and 100-km runs. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 21, p. 1–19, 2019.

ZAFEIRIDIS, A. et al. Global Metabolic Stress of Isoeffort Continuous and High Intensity Interval Aerobic Exercise: A Comparative ¹H NMR Metabonomic Study. **Journal of Proteome Research**, v. 15, n. 12, p. 4452–4463, 2016.

ZHANG, J. et al. Conversion of glycerol to 1,3-dihydroxyacetone by glycerol dehydrogenase co-expressed with an NADH oxidase for cofactor regeneration. **Biotechnology Letters**, v. 38, n. 9, p. 1559–1564, 2016.

5. APÊNDICES

Apêndice A. Termo de consentimento livre e esclarecido para responsáveis para dados retrospectivos.

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (T.C.L.E.)

Você, pai/responsável pelo menor, está sendo convidado a conceder a permissão para que o mesmo possa participar do projeto de pesquisa Análise e Melhoramento do desempenho do atleta, dos pesquisadores Filipe Antônio de Barros Sousa, Gustavo Gomes de Araújo, Pedro Balikian Júnior e Alisson Henrique Marinho de Lima. A seguir, as informações do projeto de pesquisa com relação a participação dele/a neste projeto:

1. O estudo se destina a aliar o desenvolvimento de ciência e tecnologia à prática do futebol para crianças, adolescentes e adultos de ambos os gêneros, no intuito de associar várias ferramentas do laboratório à prática, criando uma quantidade grande de informações por idade e gênero, bem como descobrir talentos esportivos e desenvolver aspectos psicossociais que auxiliam na formação integral do cidadão. A etapa a qual o menor está sendo convidado a participar se trata de uma consulta a avaliações já realizadas por você no clube CSA, e esses dados serão incorporados ao projeto em questão. Esses dados servirão para iniciar um banco de dados de análises de aptidão física, técnico-tática e de características corporais de atletas de futebol em Alagoas. O menor sob sua responsabilidade pode vir a ser convidado para participar de avaliações futuras se assim desejar, independentemente da sua resposta a esse convite. Caso ele aceite participar de avaliações futuras, os dados obtidos podem ser comparados com os dados que já foram coletados pelo clube.
2. A importância deste estudo é buscar, através de ferramentas utilizadas no laboratório, o desenvolvimento de crianças, adolescentes e adultos praticantes de futebol de ambos os gêneros, bem como contribuir na formação integral desses indivíduos. Além de contribuir no processo de retorno dos participantes as atividades de treinamento realizadas anteriormente.
3. Estamos convidando o menor sob sua responsabilidade a participar dessa etapa com o intuito de ter informações sobre o desempenho físico e técnico-tático jogadores de futebol em um período próximo à paralisação das atividades por conta da pandemia do novo coronavírus. Um convite futuro para participar do projeto em que novas avaliações serão realizadas pode ser feito a ele, e se ele desejar participar, você deverá novamente fornecer o seu consentimento em nome dele.
4. Os dados que serão analisados são referentes às avaliações físicas e técnico-táticas que você realizou pelo clube CSA no período entre outubro de 2019 e fevereiro de 2020. Estamos pedindo seu consentimento para usar informações de avaliação, treino ou jogo que o menor participou nesse período pelo clube. Caso você deseje não conceder a permissão para uso dessas informações, basta não assinar o documento físico ou clicar na caixinha que diz “não concedo permissão para usar as informações citadas no termo de esclarecimento”. Nesse caso, nenhuma informação do menor sob sua responsabilidade será acessada pela equipe de pesquisa com a finalidade de inclusão em qualquer banco de dados de qualquer maneira.
5. As variáveis que poderão ser incluídas no nosso estudo são de avaliação antropométrica (estatura, peso, dobras cutâneas e circunferências) e testes de habilidade técnico-tática e desempenho físico comumente realizado na equipe, como o teste de yoyo para resistência,

testes de velocidade e agilidade, testes de salto. O acompanhamento das respostas ao longo dos treinamentos e dos jogos dentro desse período, bem como consulta de prontuários e avaliações clínicas realizadas pelo departamento médico que constem em arquivo da comissão técnica poderão ser incluídos no banco de dados para comparação com as avaliações que serão futuramente realizadas pelo grupo.

6. A sua participação se restringe a permissão ou não do acesso aos dados citados no item anterior pela equipe de pesquisa.
7. Os incômodos e possíveis riscos à saúde física e/ou mental do menor são: vazamento das informações pessoais presentes em arquivo do clube, que serão minimizados pela manipulação dos dados apenas pela equipe de pesquisa. A identidade dele/a será mantida em sigilo, pois seu nome será substituído por um código numérico.
8. Essa etapa da pesquisa não trará benefícios diretos para a sua pessoa. Os benefícios indiretos dessa etapa são o auxílio ao melhor entendimento das relações entre essas variáveis por parte dos pesquisadores, e possibilidade de comparação com novos dados a serem coletados no período após o retorno das atividades físicas em grupo.
9. Os dados serão manipulados apenas pelos membros da equipe de pesquisa, para evitar que quaisquer dados sejam vazados. Caso, mesmo assim, algum imprevisto aconteça, você poderá entrar em contato com o pesquisador responsável (Filipe Antônio de Barros Sousa), cujo contato se encontra no final desse texto, para buscar assistência.
10. Você será informado(a) do resultado final do projeto e sempre que desejar, serão fornecidos esclarecimentos sobre cada uma das etapas do estudo.
11. A qualquer momento, você ou o menor poderá recusar a continuar participando do estudo e, também, que poderá retirar seu consentimento, sem que isso traga qualquer penalidade ou prejuízo e você e ao menor sob sua responsabilidade.
12. As informações conseguidas através da participação do menor sob sua responsabilidade na pesquisa não permitirão a identificação dele, exceto para a equipe de pesquisa, e que a divulgação das informações mencionadas só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto após a sua autorização.
13. Você deverá ser ressarcido(a) por todas as despesas que venha a ter com a participação do menor sob sua responsabilidade nesse estudo, sendo garantida a existência de recursos. O estudo não acarretará nenhuma despesa para você.
14. Você será indenizado(a) por qualquer dano que o menor sob sua responsabilidade venha a sofrer com a sua participação na pesquisa (nexo causal).
15. Você receberá uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado por todos.

Eu, responsável pelo menor que foi convidado a participar da pesquisa, tendo compreendido perfeitamente tudo o que me foi informado sobre a participação no mencionado estudo e estando consciente dos direitos, das responsabilidades, dos riscos e dos benefícios que a participação implicam, concordo em autorizar a participação do menor e para isso eu DOU O MEU CONSENTIMENTO SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO OU OBRIGADO.

Endereço da equipe de pesquisa (OBRIGATÓRIO):

Instituto de Educação Física e Esporte – IEFE – UFAL

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n, Tabuleiro do Martins

Complemento: Procurar o LACAE, localizado no estádio universitário. Cidade/CEP:
 Maceió – AL CEP:57072-900
 Telefone: (82) 3214-1873
 Ponto de referência: Próximo à entrada da Fernandes Lima

Contato de urgência: Sr. Filipe Antônio de Barros Sousa Endereço:
 Condomínio Park Sauaçuhy, s/n, Ipioca Complemento: quadra k, lote 07
 Cidade/CEP: Maceió – AL CEP 57039-740 Telefone:
 (82) 9 8709 2289
 Ponto de referência: Na AL-101 rumo ao litoral norte do estado. Horário de
 atendimento: das 09h às 12h

ATENÇÃO: *Se você tiver dúvidas sobre seus direitos como participante de pesquisa, você pode contatar Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) da UFAL, pelo telefone: (82) 3214-1041. O CEP trata-se de um grupo de indivíduos com conhecimento científicos que realizam a revisão ética inicial e continuada do estudo de pesquisa para mantê-lo seguro e proteger seus direitos. O CEP é responsável pela avaliação e acompanhamento dos aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos. Este papel está baseado nas diretrizes éticas brasileiras (Res. CNS 466/12 e complementares).*

O Comitê de Ética da UFAL analisou e aprovou este projeto de pesquisa. Para obter mais informações a respeito deste projeto de pesquisa, informar ocorrências irregulares ou danosas durante a sua participação no estudo, dirija-se ao:

Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas

Prédio do Centro de Interesse Comunitário (CIC), Térreo, Campus A. C. Simões, Cidade Universitária

Telefone: 3214-1041 – Horário de Atendimento: das 8:00 as 12:00hs. E-mail:

comitedeeticaufal@gmail.com

Maceió, de de .

| | |
|--|---|
| | |
| Assinatura ou impressão datiloscópica d(o,a) voluntári(o,a) ou responsável legal e rubricar as demais folhas | Nome e Assinatura do Pesquisador pelo estudo (Rubricar as demais páginas) |

Apêndice B. Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (T.C.L.E.) para dados retrospectivos.

Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (T.C.L.E.)

Você está sendo convidado(a) a participar do projeto de pesquisa Análise e Melhoramento do desempenho do atleta, dos pesquisadores Filipe Antônio de Barros Sousa, Gustavo Gomes de Araújo, Pedro Balikian Júnior e Alisson Henrique Marinho de Lima. A seguir, as informações do projeto de pesquisa com relação a sua participação neste projeto:

1. O estudo se destina a aliar o desenvolvimento de ciência e tecnologia à prática do futebol para crianças, adolescentes e adultos de ambos os gêneros, no intuito de associar várias ferramentas do laboratório à prática, criando uma quantidade grande de informações por idade e gênero, bem como descobrir talentos esportivos e desenvolver aspectos psicossociais que auxiliam na formação integral do cidadão. A etapa a qual você está sendo convidado se trata de uma consulta a avaliações já realizadas por você no clube CSA, e esses dados serão incorporados ao projeto. Esses dados servirão para iniciar um banco de dados de análises de aptidão física, técnico-tática e de características corporais de atletas de futebol em Alagoas. Você pode vir a ser convidado para participar de avaliações futuras se assim desejar, independentemente da sua resposta a esse convite. Caso você aceite participar de avaliações futuras, os dados obtidos podem ser comparados com os dados que já foram coletados pelo clube.
2. A importância deste estudo é buscar o desenvolvimento de crianças, adolescentes e adultos praticantes de futebol de ambos os gêneros, bem como contribuir na formação integral desses indivíduos.
3. Estamos convidando você a participar dessa etapa com o intuito de ter informações sobre o desempenho físico e técnico-tático jogadores de futebol em um período próximo à paralisação das atividades por conta da pandemia do novo coronavírus. Um convite futuro para participar do projeto em que novas avaliações serão realizadas pode ser feito a você, e se você desejar participar, deverá novamente fornecer o seu consentimento.
4. Os dados que serão analisados são referentes às avaliações físicas e técnico-táticas que você realizou pelo clube CSA no período entre outubro de 2019 e fevereiro de 2020. Estamos pedindo seu consentimento para usar informações de avaliação, treino ou jogo que você participou nesse período pelo clube. Caso você deseje não conceder a permissão para uso dessas informações, basta não assinar o documento físico ou clicar na caixinha que diz “não concedo permissão para usar as informações citadas no termo de esclarecimento”. Nesse caso, nenhuma informação sua será acessada pela equipe de pesquisa com a finalidade de inclusão em qualquer banco de dados de qualquer maneira.
5. As variáveis que poderão ser incluídas no nosso estudo são de avaliação antropométrica (estatura, peso, dobras cutâneas e circunferências) e testes de habilidade técnico-tática e desempenho físico comumente realizado na equipe, como o teste de yoyo para resistência, testes de velocidade e agilidade, testes de salto. O acompanhamento das suas respostas ao longo dos treinamentos e dos jogos dentro desse período, bem como consulta de prontuários e avaliações clínicas realizadas pelo departamento médico que constem em arquivo da comissão técnica poderão ser incluídos no banco de dados para comparação com as avaliações que serão futuramente realizadas pelo grupo.
6. A sua participação se restringe a permissão ou não do acesso aos dados citados no item anterior pela equipe de pesquisa.

7. Os incômodos e possíveis riscos à sua saúde física e/ou mental são: vazamento das informações pessoais presentes em arquivo do clube, que serão minimizados pela manipulação dos dados apenas pela equipe de pesquisa. Sua identidade será mantida em sigilo, pois seu nome será substituído por um código numérico.
8. Essa etapa da pesquisa não trará benefícios diretos para a sua pessoa. Os benefícios indiretos dessa etapa são o auxílio ao melhor entendimento das relações entre essas variáveis por parte dos pesquisadores, e possibilidade de comparação com novos dados a serem coletados no período após o retorno das atividades físicas em grupo.
9. Seus dados serão manipulados apenas pelos membros da equipe de pesquisa, para evitar que seus dados sejam vazados. Caso, mesmo assim, algum imprevisto aconteça, você poderá entrar em contato com o pesquisador responsável (Filipe Antônio de Barros Sousa), cujo contato se encontra no final desse texto, para buscar assistência.
10. Você será informado(a) do resultado final do projeto e sempre que desejar, serão fornecidos esclarecimentos sobre cada uma das etapas do estudo.
11. A qualquer momento, você poderá recusar participar do estudo e, também, que poderá retirar seu consentimento, sem que isso lhe traga qualquer penalidade ou prejuízo.
12. As informações conseguidas através da sua participação não permitirão a identificação da sua pessoa, exceto para a equipe de pesquisa, e que a divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto após a sua autorização.
13. Você deverá ser ressarcido(a) por todas as despesas que venha a ter com a sua participação nesse estudo, sendo garantida a existência de recurso. O estudo não acarretará nenhuma despesa para você.
14. Você será indenizado(a) por qualquer dano que venha a sofrer com a sua participação na pesquisa (nexo causal).
15. Você receberá uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado por todos.

Eu, tendo compreendido perfeitamente tudo o que me foi informado sobre a minha participação no mencionado estudo e estando consciente dos meus direitos, das minhas responsabilidades, dos riscos e dos benefícios que a minha participação implicam, concordo em dele participar e para isso eu DOU O MEU CONSENTIMENTO SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO OU OBRIGADO.

Endereço da equipe da pesquisa (OBRIGATÓRIO):

Instituto de Educação Física e Esporte – IEFE – UFAL

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n, Tabuleiro do Martins

Complemento: Procurar o LACAE, localizado no estádio universitário. Cidade/CEP:

Maceió – AL CEP:57072-900

Telefone: (82) 3214-1873

Ponto de referência: Próximo à entrada da Fernandes Lima

Contato de urgência: Sr. Filipe Antônio de Barros Sousa Endereço:

Condomínio Park Sauaçuhy, s/n, Ipioca Complemento: quadra k, lote 07

Cidade/CEP: Maceió – AL CEP 57039-740 Telefone:
 (82) 9 8709 2289
 Ponto de referência: Na AL-101 rumo ao litoral norte do estado. Horário de
 atendimento: das 09h às 12h

ATENÇÃO: *Se você tiver dúvidas sobre seus direitos como participante de pesquisa, você pode contatar Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) da UFAL, pelo telefone: (82) 3214-1041. O CEP trata-se de um grupo de indivíduos com conhecimento científicos que realizam a revisão ética inicial e continuada do estudo de pesquisa para mantê-lo seguro e proteger seus direitos. O CEP é responsável pela avaliação e acompanhamento dos aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos. Este papel está baseado nas diretrizes éticas brasileiras (Res. CNS 466/12 e complementares).*

O Comitê de Ética da UFAL analisou e aprovou este projeto de pesquisa. Para obter mais informações a respeito deste projeto de pesquisa, informar ocorrências irregulares ou danosas durante a sua participação no estudo, dirija-se ao:

Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas
 Prédio do Centro de Interesse Comunitário (CIC), Térreo, Campus A. C. Simões, Cidade Universitária
 Telefone: 3214-1041 – Horário de Atendimento: das 8:00 as 12:00hs. E-mail:
 comitedeeticaufal@gmail.com

Maceió, de de .

| | |
|--|---|
| | |
| Assinatura ou impressão datiloscópica d(o,a) voluntári(o,a) ou responsável legal e rubricar as demais folhas | Nome e Assinatura do Pesquisador pelo estudo (Rubricar as demais páginas) |

Apêndice C. Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (T.A.L.E.) para dados retrospectivos.**Termo de Assentimento Livre e Esclarecido (T.A.L.E.)**

Você está sendo convidado (a) a participar do projeto do estudo chamado de Análise e Melhoramento do desempenho do atleta, dos pesquisadores Filipe Antônio de Barros Sousa, Gustavo Gomes de Araújo, Pedro Balikian Júnior e Alisson Henrique Marinho de Lima. A seguir, as informações do projeto de pesquisa com relação a sua participação neste projeto:

1. O estudo se destina a aliar a ciência e a prática do futebol para crianças, adolescente e adultos, meninos e meninas, no intuito de associar várias ferramentas do laboratório à prática, guardando muitas informações por idade para meninos e meninas, bem como entender melhor os novos jogadores e melhorar as habilidades psicológicas e sociais que ajudam na formação integral do cidadão.
2. A importância deste estudo é buscar, com ferramentas do laboratório, a melhora da prática de futebol por crianças, adolescentes e adultos meninos e meninas praticantes de futebol de ambos os gêneros, bem como contribuir na formação integral desses indivíduos.
3. Estamos convidando você a participar dessa etapa com para ter informações sobre o desempenho físico e técnico-tático jogadores de futebol em um período próximo à paralisação das atividades por conta da pandemia do novo coronavírus. Um convite futuro para participar do projeto em que novas avaliações serão realizadas pode ser feito a você, e se você desejar participar, deverá novamente fornecer o seu consentimento.
4. Os dados que iremos usar são de avaliações físicas e técnico-táticas que você fez pelo clube CSA no período entre outubro de 2019 e fevereiro de 2020. Estamos pedindo sua permissão para usar informações de avaliação, treino ou jogo que você participou nesse período pelo clube. Caso você deseje não conceder a permissão para uso dessas informações, não assine e peça ao seu responsável para não assinar o documento físico ou clique na caixinha que diz “não concedo permissão para usar as informações citadas no termo de esclarecimento”. Nesse caso, nenhuma informação sua será acessada pela equipe de pesquisa.
5. Queremos incluir no nosso estudo dados de estatura, peso, dobras cutâneas e circunferências do corpo, e testes de habilidade no futebol e desempenho físico que você comumente realiza na equipe, como o teste de vai e vem para resistência, testes de velocidade e agilidade, testes de salto. O acompanhamento das suas respostas ao longo dos treinamentos e dos jogos dentro desse período, bem como consulta de prontuários e avaliações clínicas realizadas pelo departamento médico que estejam em arquivo da comissão técnica poderão ser incluídos no banco de dados para comparação com as avaliações que serão futuramente realizadas pelo grupo.
6. A sua participação se restringe a permissão ou não do acesso aos dados citados no item anterior pela equipe de pesquisa.
7. Os incômodos e possíveis riscos à sua saúde física e/ou mental são: vazamento das informações pessoais presentes em arquivo do clube, que serão diminuídos pela manipulação dos dados apenas pela equipe de pesquisa.

8. Essa etapa da pesquisa não trará benefícios diretos para a sua pessoa. Ainda assim, você poderá estar ajudando o com os estudos dos pesquisadores, e podemos fazer uma comparação com novos dados a serem coletados no período após o retorno das atividades físicas em grupo.
9. Seus dados serão manipulados apenas pelos membros da equipe de pesquisa, para evitar que seus dados sejam vazados. Caso, mesmo assim, algum imprevisto aconteça, você poderá entrar em contato com o pesquisador responsável (Filipe Antônio de Barros Sousa), e o contato dele se encontra no final desse texto, para buscar assistência.
10. Você será informado(a) do resultado final do projeto e sempre que desejar, serão fornecidos esclarecimentos sobre cada uma das etapas do estudo.
11. A qualquer momento, você poderá negar participar do estudo e, também, que poderá retirar seu consentimento, sem que isso lhe traga qualquer penalidade ou prejuízo.
12. As informações conseguidas através da sua participação não permitirão a identificação da sua pessoa, exceto para a equipe de pesquisa, e que a divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto após a sua autorização.
13. Você deverá ser ressarcido(a) por todas as despesas que venha a ter com a sua participação nesse estudo, sendo garantida a existência de recurso. O estudo não acarretará nenhuma despesa para você.
14. Você será indenizado(a) por qualquer dano que venha a sofrer com a sua participação na pesquisa (nexo causal).
15. Você receberá uma via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado por todos.

Eu....., tendo compreendido perfeitamente tudo o que me foi informado sobre a minha participação no mencionado estudo e estando consciente dos meus direitos, das minhas responsabilidades, dos riscos e dos benefícios que a minha participação implicam, concordo em dele participar e para isso eu DOU O MEU CONSENTIMENTO SEM QUE PARA ISSO EU TENHA SIDO FORÇADO OU OBRIGADO.

Endereço da equipe da pesquisa (OBRIGATÓRIO):
Instituto de Educação Física e Esporte – IEFE – UFAL
Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n, Tabuleiro do Martins
Complemento: Procurar o LACAE, localizado no estádio universitário. Cidade/CEP:
Maceió – AL CEP:57072-900
Telefone: (82) 3214-1873
Ponto de referência: Próximo à entrada da Fernandes Lima

Contato de urgência: Sr. Filipe Antônio de Barros Sousa Endereço:
Condomínio Park Sauaçuhy, s/n, Ipioca Complemento: quadra k, lote 07

Cidade/CEP: Maceió – AL CEP 57039-740 Telefone:

(82) 9 8709 2289

Ponto de referência: Na AL-101 rumo ao litoral norte do estado. Horário de atendimento: das 09h às 12h

ATENÇÃO: *Se você tiver dúvidas sobre seus direitos como participante de pesquisa, você pode contatar Comitê de Ética em Pesquisa em Seres Humanos (CEP) da UFAL, pelo telefone: (82) 3214- 1041. O CEP trata-se de um grupo de indivíduos com conhecimento científicos que realizam a revisão ética inicial e continuada do estudo de pesquisa para mantê-lo seguro e proteger seus direitos. O CEP é responsável pela avaliação e acompanhamento dos aspectos éticos de todas as pesquisas envolvendo seres humanos. Este papel está baseado nas diretrizes éticas brasileiras (Res. CNS 466/12 e complementares).*

O Comitê de Ética da UFAL analisou e aprovou este projeto de pesquisa. Para obter mais informações a respeito deste projeto de pesquisa, informar ocorrências irregulares ou danosas durante a sua participação no estudo, dirija-se ao:

Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alagoas

Prédio do Centro de Interesse Comunitário (CIC), Térreo , Campus A. C. Simões, Cidade Universitária

Telefone: 3214-1041 – Horário de Atendimento: das 8:00 as 12:00hs. E-mail:

comitedeeticaufal@gmail.com

Maceió, de de .

| | |
|--|---|
| | |
| Assinatura ou impressão datiloscópica d(o,a) voluntári(o,a) ou responsável legal e rubricar as demais folhas | Nome e Assinatura do Pesquisador pelo estudo (Rubricar as demais páginas) |

6. ANEXOS

Anexo A. Tabela de Percepção subjetiva de esforço (PSE) adaptada por Foster et al. (2001) e traduzida por Nakamura; Moreira e Aoki (2010).

| Classificação | Descritor |
|----------------------|--------------------|
| 0 | Repouso |
| 1 | Muito, Muito Fácil |
| 2 | Fácil |
| 3 | Moderado |
| 4 | Um Pouco Difícil |
| 5 | Difícil |
| 6 | - |
| 7 | Muito Difícil |
| 8 | - |
| 9 | - |
| 10 | Máximo |

Anexo B. Parecer Comitê de Ética em Pesquisa.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE
ALAGOAS



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Análise e Melhoramento do desempenho do atleta

Pesquisador: Filipe Antônio de Barros Sousa

Área Temática:

Versão: 4

CAAE: 29269020.8.0000.5013

Instituição Proponente: Instituto de Educação Física e Esporte

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 4.297.907

Apresentação do Projeto:

Trata-se de uma emenda no estudo sobre a análise e o melhoramento do atleta com o objetivo de Aliar o desenvolvimento de ciência e tecnologia à prática do futebol para crianças, adolescentes e adultos de ambos os gêneros, no intuito de associar múltiplas ferramentas científicas à prática, criando um banco de dados por faixa etária e gênero, bem como detectar talentos esportivos e desenvolver aspectos cognitivos e sociais que auxiliam na formação Integral do cidadão. O protocolo de pesquisa já foi aprovado pelo CEP, no qual serão acompanhados ao longo de cinco temporadas, onde avaliações de parâmetros físicos, técnicos e táticos referentes à modalidade do futebol serão avaliados com frequência trimestral, e um acompanhamento das estratégias de treino será feito periodicamente. Contudo o início do estudo foi interrompido pela pandemia do COVID-19, que conduziu para a submissão da presente emenda, na qual os pesquisadores propuseram analisar de dados retrospectivos de análises do projeto, bem como a inclusão de um novo objetivo específico (descrito adiante), sem qualquer outra modificação no projeto.

Objetivo da Pesquisa:

Aliar o desenvolvimento de ciência e tecnologia à prática do futebol para crianças, adolescentes e adultos de ambos os gêneros, no intuito de associar múltiplas ferramentas científicas à prática, criando um banco de dados por faixa etária e gênero, bem como detectar talentos esportivos e desenvolver aspectos cognitivos e sociais que auxiliam na formação Integral do cidadão.

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A - C. Simões,
Bairro: Cidade Universitária CEP: 57.072-900
UF: AL Município: MACEIO
Telefone: (32)3214-1041 E-mail: comitedeticasufal@gmail.com

Continuação do Parecer: 4.207.907

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Na presente emenda os pesquisadores afirmam que "os riscos previstos para esta nova etapa são o de vazamento das informações presentes em arquivo do clube, que serão minimizados pela manipulação dos dados apenas pela equipe de pesquisa".

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

A emenda se justifica como uma adaptação para o desenvolvimento do projeto de pesquisa frente as interrupções impostas pela pandemia do COVID-19. Os atletas participantes irão assinar novos TCLE e TALE online participar, bem como responderão questionário online. A emenda e demais documentos foram apresentados de forma clara, com detalhamento suficiente e de forma objetiva. Os procedimentos de pesquisa são adequados para responder o objetivo elencado. Todos os termos obrigatórios e demais documentos foram apresentados de forma adequada.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados os seguintes documentos: 1) Projeto básico; 2) carta de submissão de emenda; 3) Termo de anuência do responsável pela Instituição; 4) TALE e TCLEs Demais documentos foram submetidos anteriormente e aprovados pelo CEP.

Recomendações:

Ver "Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações".

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Não foram encontrados óbices éticos.

Considerações Finais a critério do CEP:

O CEP informa que de acordo com a Resolução CNS nº 466/12, a responsabilidade do pesquisador é indelegável e indeclinável e compreende aspectos éticos e legais, devendo o pesquisador:

- a) apresentar o protocolo devidamente instruído ao CEP, aguardando a decisão de aprovação ética, antes de iniciar a pesquisa;
- b) elaborar o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido e/ou Termo de Assentimento Livre e Esclarecido, quando necessário;
- c) desenvolver o projeto conforme delineado;
- d) elaborar e apresentar os relatórios parciais e final;
- e) apresentar dados solicitados pelo CEP a qualquer momento;
- f) manter os dados da pesquisa em arquivo, físico ou digital, sob sua guarda e responsabilidade, por um período de 5 anos após o término da pesquisa;
- g) encaminhar os resultados da pesquisa para publicação, com os devidos créditos aos

Endereço: Av. Lourival Melo Moura, s/n - Campus A. C. Simões,

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 57.072-900

UF: AL

Município: MACEIO

Telefone: (82)214-1041

E-mail: comitedeticasufal@gmail.com

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE
ALAGOAS**



Continuação do Parecer: 4.037.907

pesquisadores associados e ao pessoal técnico integrante do projeto;

h) Justificar fundamentadamente, perante o CEP, interrupção do projeto ou a não publicação dos resultados;

i) sugere-se que os arquivos recusados sejam excluídos da Plataforma e postados os novos com as devidas correções para evitar acúmulo de postagens.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

| Tipo Documento | Arquivo | Postagem | Autor | Situação |
|---|--|------------------------|--------------------------------|----------|
| Informações Básicas do Projeto | PE_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_1629791_E1.pdf | 11/09/2020 15:12:10 | | Aceito |
| Solicitação Assinada pelo Pesquisador Responsável | Carta_de_submissao_emenda.pdf | 11/09/2020 15:08:40 | Filipe Antônio de Barros Sousa | Aceito |
| Outros | Termo_de_autorizacao_da_instituicao.pdf | 11/09/2020 15:07:09 | Filipe Antônio de Barros Sousa | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TALE_retrospectivo.pdf | 11/09/2020 15:06:17 | Filipe Antônio de Barros Sousa | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TCLE_pais_e_responsavels_retrospectivo.pdf | 11/09/2020 15:05:52 | Filipe Antônio de Barros Sousa | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TCLE_retrospectivo.pdf | 11/09/2020 15:04:15 | Filipe Antônio de Barros Sousa | Aceito |
| Outros | Carta_resposta_CEP_Pendencia_2.pdf | 23/04/2020 11:10:31 | Filipe Antônio de Barros Sousa | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TALE.pdf | 23/04/2020 11:10:01 | Filipe Antônio de Barros Sousa | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência | TCLE_PaiResponsavel.pdf | 23/04/2020 11:09:47 | Filipe Antônio de Barros Sousa | Aceito |
| TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de | TCLE.pdf | 23/04/2020 11:09:17 | Filipe Antônio de Barros Sousa | Aceito |

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A. C. Simões,
 Bairro: Cidade Universitária CEP: 57.072-900
 UF: AL Município: MACEIO
 Telefone: (82)3014-1041 E-mail: comiteetic@ufal.br

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE
ALAGOAS**



Continuação do Parecer: 4.397.907

| | | | | |
|---|-----------------------------------|------------------------|--------------------------------|--------|
| Ausência | TCLE.pdf | 23/04/2020 11:08:17 | Filipe Antônio de Barros Sousa | Aceito |
| Projeto Detalhado / Brochura Investidor | Projeto_analise_de_rendimento.pdf | 23/04/2020 11:08:37 | Filipe Antônio de Barros Sousa | Aceito |
| Outros | Carta_resposta_CEP.pdf | 02/04/2020 14:23:34 | Filipe Antônio de Barros Sousa | Aceito |
| Outros | declaracao_publicizacao.jpg | 19/02/2020 17:13:13 | Filipe Antônio de Barros Sousa | Aceito |
| Outros | TERMO_DE_CONVENIO_001.pdf | 19/02/2020 16:04:15 | Filipe Antônio de Barros Sousa | Aceito |
| Folha de Rosto | FOLHA_DE_ROSTO.pdf | 19/02/2020 16:00:24 | Filipe Antônio de Barros Sousa | Aceito |

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

MACEIO, 24 de Setembro de 2020

Assinado por:

CAMILA MARIA BEDER RIBEIRO GIRISH PANJWANI
(Coordenador(a))

Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n - Campus A. C. Simões,

Bairro: Cidade Universitária

CEP: 57.070-900

UF: AL

Município: MACEIO

Telefone: (82)3214-9041

E-mail: comibeder@cau.br

Anexo C. Planilha usada para determinação do VO_2 máx do *Yo-Yo endurance test level 1*.

| YO-YO ENDURANCE TEST - NÍVEL 1 | | | | | | | | | | | | | | |
|--------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| Repetições | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
| Estágios | | | | | | | | | | | | | | |
| 6 | 29,9 | 29,9 | 30,5 | 30,5 | 31,4 | 31,4 | 32,2 | 32,2 | 33,2 | | | | | |
| | 820 | 840 | 860 | 880 | 900 | 920 | 940 | 960 | 980 | | | | | |
| 7 | 33,2 | 33,2 | 34,0 | 34,0 | 34,6 | 34,6 | 35,5 | 35,5 | 36,1 | 36,1 | | | | |
| | 1000 | 1020 | 1040,0 | 1060,0 | 1080 | 1100 | 1120 | 1140 | 1160 | 1180 | | | | |
| 8 | 36,7 | 36,7 | 37,5 | 37,5 | 38,3 | 38,3 | 39,1 | 39,1 | 39,7 | 39,7 | | | | |
| | 1200 | 1220 | 1240 | 1260 | 1280 | 1300 | 1320 | 1340 | 1360 | 1380 | | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
| 9 | 40,6 | 40,6 | 41,1 | 41,1 | 41,6 | 41,6 | 42,4 | 42,4 | 43,0 | 43,0 | 43,0 | | | |
| | 1400 | 1420 | 1440 | 1460 | 1480 | 1500 | 1520 | 1540 | 1560 | 1580,0 | 1600 | | | |
| 10 | 43,9 | 43,9 | 44,4 | 44,4 | 45,0 | 45,0 | 45,7 | 45,7 | 46,3 | 46,3 | 46,3 | | | |
| | 1620 | 1640 | 1660 | 1680 | 1700,0 | 1720,0 | 1740 | 1760 | 1780 | 1800 | 1820 | | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
| 11 | 47,4 | 47,4 | 47,9 | 47,9 | 48,5 | 48,5 | 49,2 | 49,2 | 49,9 | 49,9 | 49,9 | | | |
| | 1840 | 1860 | 1880 | 1900 | 1920 | 1940 | 1960 | 1980 | 2000 | 2020 | 2.040 | | | |
| 12 | 50,9 | 50,9 | 51,4 | 51,4 | 52,0 | 52,0 | 52,6 | 52,6 | 53,1 | 53,1 | 53,7 | 53,7 | | |
| | 2060 | 2080 | 2100 | 2120 | 2140 | 2160 | 2180 | 2200 | 2220 | 2240 | 2260 | 2280 | | |
| | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 | 11 | 12 | 13 | 14 |
| 13 | 54,2 | 54,2 | 54,9 | 54,9 | 55,5 | 55,5 | 56,0 | 56,0 | 56,6 | 56,6 | 57,1 | 57,1 | | |
| | 2300 | 2320 | 2340 | 2360 | 2380 | 2400 | 2420 | 2440 | 2460 | 2480 | 2500 | 2520 | | |
| 14 | 57,7 | 57,7 | 58,1 | 58,1 | 58,7 | 58,7 | 59,2 | 59,2 | 59,8 | 59,8 | 60,4 | 60,4 | 60,4 | |
| | 2540 | 2560 | 2580 | 2600 | 2620 | 2640 | 2660 | 2680 | 2700 | 2720 | 2740 | 2760 | 2780 | |
| 15 | 61,2 | 61,2 | 61,7 | 61,7 | 62,2 | 62,2 | 62,8 | 62,8 | 63,3 | 63,3 | 63,9 | 63,9 | 63,9 | |
| | 2800 | 2820 | 2840 | 2860 | 2880 | 2900 | 2920 | 2940 | 2960 | 2980 | 3000 | 3020 | 3040 | |
| 16 | 64,7 | 64,7 | 65,2 | 65,2 | 65,8 | 65,8 | 66,3 | 66,3 | 66,9 | 66,9 | 67,4 | 67,4 | 67,4 | |
| | 3060 | 3080 | 3100 | 3120 | 3140 | 3160 | 3180 | 3200 | 3220 | 3240 | 3260 | 3280 | 3300 | |
| 17 | 68,2 | 68,2 | 68,7 | 68,7 | 69,2 | 69,2 | 69,8 | 69,8 | 70,3 | 70,3 | 70,9 | 70,9 | 71,4 | 71,2 |
| | 3320 | 3340 | 3360 | 3380 | 3400 | 3420 | 3440 | 3460 | 3480 | 3500 | 3520 | 3540 | 3560 | 3580 |

Anexo D. Escala de percepção de cansaço.