

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
MESTRADO EM NUTRIÇÃO

***O IMPACTO DO JOGO DE FUTEBOL SOBRE O PERFIL
METABOLÔMICO E SUAS INTERAÇÕES COM A INGESTÃO
DE MICRONUTRIENTES ANTIOXIDANTES EM ATLETAS DO
SEXO FEMININO***

MARIA MARIANA SABINO GOUVEIA

MACEIÓ-2024

MARIA MARIANA SABINO GOUVEIA

***O IMPACTO DO JOGO DE FUTEBOL SOBRE O PERFIL
METABOLÔMICO E SUAS INTERAÇÕES COM A INGESTÃO
DE MICRONUTRIENTES ANTIOXIDANTES EM ATLETAS DO
SEXO FEMININO***

Dissertação apresentada à Faculdade de Nutrição da Universidade Federal de Alagoas como requisito à obtenção do título de Mestre em Nutrição.

Orientador: **Prof. Dr. Filipe Antônio de Barros Sousa**
Instituto de Educação Física e Esporte
Universidade Federal de Alagoas

Co-Orientador(a): **Prof^a. Dr^a.Thays de Ataíde e Silva**
Faculdade de Nutrição
Universidade Federal de Alagoas

MACEIÓ-2024

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico
Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

G719i Gouveia, Maria Mariana Sabino.
O impacto do jogo de futebol sobre o perfil metabólico e suas interações com a ingestão de micronutrientes antioxidantes em atletas do sexo feminino / Maria Mariana Sabino Gouveia. – Maceió, 2024.
77 f. : il.

Orientador: Filipe Antônio de Barros Sousa.
Co-orientadora: Thays de Ataíde e Silva.
Dissertação (Mestrado em Nutrição) – Universidade Federal de Alagoas.
Faculdade de Nutrição. Programa de Pós-Graduação em Nutrição, 2024.

Bibliografia: f. 69-70.
Apêndices: f. 72-77.

1. Metabólica. 2. Antioxidantes. 3. Futebol - Mulheres. I. Título.

CDU: 612.39:796.332-055.2

MESTRADO EM NUTRIÇÃO
FACULDADE DE NUTRIÇÃO
UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS

Campus A. C. Simões
BR 104, km 14, Tabuleiro dos
Martins Maceió-AL 57072-970
Fone/fax: 81 3214-1160

PARECER DA BANCA EXAMINADORA DE DEFESA DE
DISSERTAÇÃO

“O IMPACTO DO JOGO DE FUTEBOL SOBRE O PERFIL
METABOLÔMICO E SUAS INTERAÇÕES COM A INGESTÃO
DE MICRONUTRIENTES ANTIOXIDANTES EM ATLETAS DO
SEXO FEMININO”

por

Maria Mariana Sabino Gouveia

A Banca Examinadora, reunida aos 29/02/2024, considera a candidata
APROVADA.

Documento assinado digitalmente
 GUSTAVO GOMES DE ARAUJO
Data: 15/03/2024 10:37:24-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Gustavo Gomes de Araújo
Programa de Pós-Graduação em Nutrição - PPGNUT
Universidade Federal de Alagoas - Ufal
Examinador Interno

Documento assinado digitalmente
 LEONARDO HENRIQUE DALCHECO MESSIAS
Data: 13/03/2024 10:40:52-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Leonardo Henrique Dalcheco Messias
Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde -PPGCS
Universidade São Francisco - USF
Examinador Externo

Documento assinado digitalmente
 FILIPE ANTONIO DE BARROS SOUSA
Data: 15/03/2024 12:07:24-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Filipe Antônio de Barros Sousa
Programa de Pós-Graduação em Nutrição - PPGNUT
Universidade Federal de Alagoas - Ufal
Orientador/Presidente da Banca

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus por ter me guiado nessa caminhada de 2 anos de mestrado e me dado a força que eu precisava para concluir tudo da melhor forma possível. Quero também agradecer aos meus professores, em especial meu orientador Filipe Sousa por ser sempre solícito, compreensivo e paciente durante esse período, sempre ouvindo minhas dúvidas e problemas. E também à minha co-orientadora Thays de Ataíde pela contribuição essencial na parte de nutrição do meu trabalho, sempre fornecendo novas ideias e buscando solucionar as intercorrências, assim como o professor Gustavo Araújo fez com a metabolômica.

Agradeço também à minha colega Beatriz, que assim como eu era nova no mundo da metabolômica. Bia foi um grande pilar para que eu conseguisse finalizar todo esse processo, nos ajudamos demais nesses 2 anos e só tenho a agradecer de coração. Além disso, sou grata à Mharyssa por toda ajuda com as coletas e também Alexandre, Edmilson e Alisson por toda a colaboração acerca da metabolômica: dicas, informações, artigos, nossos gráficos, reuniões online.

Finalmente, gostaria de agradecer à minha família por todo apoio do começo ao fim, em especial meu pai Eurípedes, que me ajudou não só com palavras de conforto e incentivo, mas também de forma ativa me levando para UFAL e para as coletas, sempre que podia.

A todos, muito obrigada!

RESUMO

Sabe-se que o futebol é um dos esportes mais praticados do mundo, sendo uma prática de alta intensidade para atletas homens e mulheres. Conseqüentemente, o desempenho do atleta nessa modalidade pode ser influenciado por fatores como: composição antropométrica; composição metabólica (com possíveis oscilações nas concentrações de lactato, hormônios, aminoácidos, enzimas, corpos cetônicos no pré e pós treino) estresse oxidativo e aporte energético advindo do padrão alimentar dos jogadores. Tendo em vista tais alterações corporais e a exponente popularidade do futebol feminino viu-se a necessidade de uma análise mais aprofundada do padrão alimentar de mulheres atletas de futebol em associação com a ciência metabolômica, já que as necessidades fisiológicas e metabólicas entre ambos os sexos são distintas. Sendo assim, o objetivo da presente dissertação foi avaliar o perfil metabolômico das atletas nos momentos pré e pós-jogo, além da influência do consumo alimentar na prática esportiva e seus possíveis efeitos nos metabólitos envolvidos no metabolismo oxidativo/antioxidante de praticantes de futebol feminino da Universidade Federal de Alagoas. O estudo caracterizou-se como descritivo, transversal, cuja amostra foi composta por 14 jogadoras (de idades entre 19-32 anos) que formam o time União Desportiva Alagoana (UDA) e foram acompanhadas durante uma temporada que compreendeu 6 jogos (competindo a nível estadual e regional). A partir disso, foram avaliados seus respectivos valores de composição corporal, ingestão alimentar (através dos inquéritos de recordatório alimentar de 24h e registro/diário alimentar) e coleta de urina. As amostras de urina foram analisadas por ressonância magnética nuclear para verificar os metabólitos presentes e se esses teriam relação com nutrientes antioxidantes (vitaminas A, C e E e os minerais magnésio, zinco e selênio) provenientes da alimentação das atletas na pré-temporada e durante os jogos. Pós análises, verificou-se que as atletas tinham consumo adequado em apenas 2 dos 6 micronutrientes avaliados (vitamina C e selênio). Foram identificados 43 metabólitos nas amostras de urina, os quais mostraram separação significativa nos momentos pré e pós-jogo em gráficos de OPLS-DA e metabólitos discriminantes relacionados principalmente aos metabolismos energético e proteico. Além disso, correlações de Pearson e gráfico de PLS-DA demonstraram correlações significativas e positivas

entre os micronutrientes antioxidantes e alguns dos metabólitos identificados, com destaque para ácido malônico e piruvato e os nutrientes selênio, zinco e vitamina E. Visto que o presente estudo é de caráter descritivo, mais estudos se fazem necessários para avaliar essas e outras correlações e compreender mais detalhadamente tais achados.

Palavras-chave: Metabolômica; Efeito antioxidante; Futebol.

ABSTRACT

It is known that soccer is one of the most practiced sports in the world, being a high-intensity practice for male and female athletes. Consequently, the athlete's performance in this modality can be influenced by factors such as: anthropometric composition; metabolic composition (with possible fluctuations in the concentrations of lactate, hormones, amino acids, enzymes, ketone bodies in pre and post training) oxidative stress and energy input arising from the players' dietary pattern. In view of such bodily changes and the exponential popularity of women's soccer, there was a need for a more in-depth analysis of the dietary pattern of female soccer athletes in association with metabolomic science, since the physiological and metabolic needs between both sexes are different. Therefore, the objective of this dissertation was to evaluate the metabolomic profile of athletes in the pre- and post-game moments, in addition to the influence of food consumption during sports and its possible effects on the antioxidant metabolic profile of women's soccer players at the Federal University of Alagoas. The study was characterized as descriptive, cross-sectional, whose sample was composed of 14 players (aged between 19-32 years) who form the União Desportiva Alagoana (UDA) team and were followed during a season that comprised 6 games (competing at the level state and regional). From this, their respective values of body composition, food intake (through 24-hour dietary recall surveys and food records/diaries) and urine collection were assessed. The urine samples were analyzed by nuclear magnetic resonance to verify the metabolites present and whether they were related to antioxidant nutrients (vitamins A, C and E and the minerals magnesium, zinc and selenium) from the athletes' diet in the pre-season and during the games. After analysis, it was found that the athletes had adequate consumption of only 2 of the 6 micronutrients evaluated (vitamin C and selenium). 43 metabolites were identified

in urine samples, which showed significant separation in the pre- and post-game moments in OPLS-DA graphs and discriminating metabolites related mainly to energy and protein metabolism. Furthermore, Pearson correlations and PLS-DA graph demonstrated significant and positive correlations between antioxidant micronutrients and some of the identified metabolites, with emphasis on malonic acid and pyruvate and the nutrients selenium, zinc and vitamin E. Since the present study is of a descriptive nature, more studies are necessary to evaluate these and other correlations and understand these findings in more detail.

Key words: Metabolomics; Antioxidant effect; Soccer

LISTA DE FIGURAS

Página

1º artigo: Perfil metabolômico de atletas de futebol feminino de elite: uma análise descritiva.

Figura 1	Desenho experimental do estudo.....	41
Figura 2	Gráficos de OPLS-DA e VIP-plot do pré e pós-jogo 1.....	41
Figura 3	Gráficos de OPLS-DA e VIP-plot do pré e pós-jogo 2.....	42
Figura 4	Gráficos de OPLS-DA e VIP-plot do pré e pós-jogo 3.....	42

Página

2º artigo: A influência da ingestão de micronutrientes antioxidantes sobre o perfil metabolômico de atletas de futebol feminino.

Figura 1	Desenho experimental do estudo.....	62
Figura 2	Gráfico de correlação de Pearson entre 43 metabólitos e micronutrientes.....	63
Figura 3	Gráfico Circus Plot correlacionando 43 metabólitos e micronutrientes.....	64

LISTA DE TABELAS

1º artigo: Perfil metabólico de atletas de futebol feminino de elite: uma análise descritiva.

Tabela 1	Dados de caracterização antropométrica da amostra.....	39
Tabela 2	Consumo alimentar de energia e macronutrientes.....	39
Tabela 3	Metabólitos identificados e seus sinais ppm mínimos e máximos.....	39

2º artigo: A influência da ingestão de micronutrientes antioxidantes sobre o perfil metabólico de atletas de futebol feminino.

Tabela 1	Dados de caracterização antropométrica da amostra.....	61
Tabela 2	Consumo alimentar de energia e macronutrientes.....	61
Tabela 3	Consumo alimentar de micronutrientes antioxidantes.....	62

Lista de abreviaturas

CHO – Carboidratos

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

HMDB – Human Metabolite Data Base

PCA - análise de componentes principais, do inglês *principal component analysis*

PLS-DA - análise discriminante por mínimos quadrados parciais, do inglês *partial least squares discriminant analysis*

EAR – Necessidade Mínima Estabelecida, do inglês *Estimated Average Requirement*

IMC – Índice de Massa Corporal

MPM – Método de múltiplos passos, do inglês *Multiple Pass Method*

DRI- Recomendações de referência para ingestão, do inglês *Dietary Reference Intake*

VET- Valor Energético Total

ERO- Espécies Reativas de Oxigênio

UDA – União Desportiva Alagoana

NS – Número de scans

D1 – Tempo entre os scans

TD – Número de pontos do espectro

SW – Largura da janela

O1P – Posição do sinal referente à água

AQ – Tempo de aquisição

VIP- Variáveis Importantes na Projeção

SUMÁRIO

1. APRESENTAÇÃO	12
2. REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1 Delineamento e objetivos	15
2.2 Futebol feminino	15
2.3 Metabolômica	16
2.4 Estresse oxidativo e consumo alimentar no futebol feminino	19
2.5 Considerações preliminares	21
3. COLETÂNEA DE ARTIGOS	23
3.1. 1º artigo Perfil metabolômico de atletas de futebol feminino de elite: uma análise descritiva.....	23
3.2. 2º artigo A influência da ingestão de micronutrientes antioxidantes sobre o perfil metabolômico de atletas de futebol feminino.....	43
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS	65
5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	67
6. APÊNDICES	70

1. APRESENTAÇÃO

A presente dissertação aborda os temas de futebol, ciência metabolômica e consumo alimentar de uma forma associada, dando ênfase às suas implicações sobre o estresse oxidativo. A dissertação se dividiu em uma revisão narrativa da literatura e dois artigos experimentais. A revisão de literatura teve por objetivo apresentar a problemática do futebol feminino, introduzir elementos técnicos da Metabolômica e discutir como a Metabolômica pode auxiliar na compreensão das relações entre o modelo de exercício (futebol feminino) e o consumo alimentar das atletas. Considerando a complexidade metabólica das relações entre exercício e perfil alimentar, a presente dissertação se concentrou especificamente no que diz respeito à dinâmica entre promoção e prevenção do estresse oxidativo. O 1º artigo experimental visou descrever se as demandas físicas do futebol implicaram alterações sobre o perfil metabólico de atletas de futebol feminino composto por 43 metabólitos identificados, e como esse perfil se comportou ao longo da temporada em termos de separação de grupos em modelos de OPLS-DA. Já o 2º artigo buscou, de maneira descritiva, entender se existem correlações entre o consumo alimentar de atletas de futebol feminino em momentos de pré-temporada e durante a temporada (com foco em micronutrientes antioxidantes) e metabólitos de caráter antioxidante identificados pela Metabolômica na urina, visto que o sistema de defesa do organismo tem papel importante no processo do exercício físico.

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 DELINEAMENTO E OBJETIVOS

A presente revisão narrativa teve por objetivo apresentar a problemática do futebol feminino, introduzir elementos técnicos da Metabolômica e discutir como a Metabolômica pode auxiliar na compreensão das relações entre o modelo de exercício (futebol feminino) e o consumo alimentar das atletas. A seleção dos artigos foi realizada a partir da busca em bases de dados como: Pubmed, Embase, Web of Science, Medline, Scielo e Cochrane, priorizando-se estudos que avaliassem o futebol feminino e suas demandas físicas, consumo alimentar para a compreensão do perfil alimentar de macro e micronutrientes de atletas do sexo feminino e se esse atinge as demandas exigidas por essa prática esportiva, como também a ciência da metabolômica como instrumento de análise entre tais variáveis. Dessa forma, não foram considerados estudos que avaliassem modelo animal ou amostras com voluntários com comorbidades, pois buscamos entender as características supracitadas em indivíduos saudáveis e praticantes de atividade física.

2.2 FUTEBOL FEMININO

O futebol, um dos esportes mais praticados no mundo, caracteriza-se como um exercício intermitente, demandando exigências físicas de baixa e alta intensidade e utilizando os metabolismos aeróbico e anaeróbico para a geração de energia necessária (MIELGO-AYUSO et al., 2019; HULTON et al., 2022). Tais demandas podem ser sprints, saltos, chutes, acelerações/desacelerações, como também capacidade cognitiva por parte dos atletas para planejar e executar estratégias de ataque e defesa durante o jogo (MIELGO-AYUSO et al., 2019). Jogadoras de futebol feminino podem percorrer uma média de 9,8 a 12,2 km em campo e atingir até 31 km/hora, tendo uma necessidade energética diária que varia entre 2200 e 2900 kcal, a depender da característica do exercício (treino ou jogo) (ABREU et al., 2021).

Em decorrência desses esforços, a atleta de elite pode desenvolver fadiga, lesões e perda de desempenho. Em relação à fadiga, caracterizada como a incapacidade de manutenção de velocidade e/ou potência ao longo do jogo (HULTON et al., 2022), as estratégias nutricionais têm papel fundamental no processo de prevenção ou retardo da fadiga, principalmente antes do jogo (ABREU et al., 2021).

A dificuldade de manter a produção de energia durante a partida está associada à depleção de glicogênio muscular e à hipoglicemia. Uma vez que o atleta não mantém seus estoques de glicogênio em níveis normais ou elevados, provenientes do consumo de carboidratos (CHO) de forma prévia ao jogo, ao final da partida essas reservas terão se esgotado por completo, gerando a fadiga. Sob o mesmo raciocínio, o baixo consumo de glicose antes e durante a partida pode gerar hipoglicemia, visto que quando o glicogênio hepático se esgota, ocorre uma dificuldade em manter suficientes os níveis de glicose circulante para a continuidade do exercício em intensidade e potência elevados (HULTON et al., 2022),

Dessa forma, estratégias como a ingestão de 30-60g de CHO de 1 a 2 horas antes do jogo, uso de géis e bebidas esportivas durante o jogo, ingestão de 3-6 mg de cafeína/kg de 30 a 60 min antes da partida e uso de 4-6 g/dia de beta-alanina são meios de retardar e/ou diminuir a fadiga percebida em atletas de futebol feminino (ABREU et al., 2021).

No que diz respeito às lesões, a ocorrência delas pode estar associada a fatores intrínsecos ou extrínsecos (ambientais), mas de forma geral, as atletas de futebol feminino estão sujeitas a sofrerem lesões nos membros inferiores, com destaque para rupturas no ligamento cruzado anterior (LCA), a qual o risco é praticamente o dobro para atletas mulheres em relação a atletas masculinos (HÄGGLUND e WALDÉN, 2016; CROSSLEY et al., 2020). Para contornar essa situação existem programas de treinamento com foco na melhoria da força, potência, equilíbrio, mobilidade como o programa FIFA 11+. Nesse contexto a revisão sistemática de Crossley e colaboradores (2020) avaliou 12 estudos com atletas de futebol e observou nos resultados que os programas de treinamento conseguiram reduzir a taxa de incidência de lesões gerais, assim como reduziram a incidência de lesões de LCA.

Quanto ao desempenho, a verificação das características físicas e antropométricas das atletas permite a identificação da composição corporal e estado nutricional. Conseqüentemente, é possível a realização de intervenções dietéticas que visem favorecer a saúde e o estabelecimento de metas de composição corporal e de tipos de treino que melhorem a aptidão e desempenho (RANDELL et al., 2021).

2.3 METABOLÔMICA

As ciências “ômicas” buscam entender o funcionamento do organismo a nível celular, seja avaliando alterações nos genes (genômica); nas proteínas (proteômica)

ou nos metabólitos (metabolômica) (CANUTO et al, 2018). A respeito da metabolômica, esse campo atua no estudo dos metabólitos corporais, que se caracterizam como subprodutos do metabolismo e podem mediar reações de produção e armazenamento de energia; apoptose celular como também atuar à nível de sinalização celular, regulando atividades enzimáticas. Nesse contexto, os metabólitos são considerados biomarcadores, visto que a partir da análise de suas concentrações no organismo torna-se possível compreender a funcionalidade orgânica tecidual, hormonal e intervencional, ao passo que alguns estudos buscam entender a influência que certo tipo de dieta ou exercício tem sobre tais substratos (JOHNSON; IVANISEVIC; SIUZDAK, 2016; MORVILLE et al., 2020).

Nesse sentido, os metabólitos analisados através da coleta de biofluidos (sangue, urina, saliva, suor); células e tecidos podem ser avaliados através de algumas abordagens como a direcionada (alvo) ou não direcionada (global). A abordagem direcionada busca encontrar e quantificar metabólitos pré-selecionados e já conhecidos pelo pesquisador, visando possivelmente confirmar ou gerar hipóteses. Em contrapartida, a abordagem global visa identificar e quantificar o maior número de metabólitos possível e que não foram selecionados nem visados previamente pelo pesquisador, o que gera resultados para o surgimento de hipóteses e para a compreensão do impacto de uma dada intervenção (SCHRIMPE-RUTLEDGE et al., 2016).

Os estágios envolvidos em um estudo de metabolômica são: seleção de metabólitos (se a abordagem for direcionada); coleta e preparo da amostra; análise instrumental; processamento de dados; análise estatística; identificação de metabólitos (se a abordagem for global); interpretação biológica. Dessa forma, previamente ao início do estudo metabolômico, faz-se necessário o estabelecimento de qual abordagem será utilizada, visto que a ordem das etapas de processamento de amostras e análise de dados estão diretamente ligadas ao tipo de abordagem escolhida. (CANUTO et al, 2018).

As possíveis técnicas analíticas da metabolômica mais utilizadas são espectrometria de massa e a Ressonância Magnética Nuclear (RMN). A primeira apresenta alta sensibilidade e mede a massa das moléculas através da razão massa/carga de íons, revelando a identidade do metabólito (JOHNSON; IVANISEVIC; SIUZDAK, 2016). Quanto à RMN, seu mecanismo de ação se dá pela interação entre um campo magnético induzido pela máquina e o material coletado (urina, saliva,

sangue), permitindo a identificação estrutural das moléculas da amostra (HEANEY et al., 2017).

Entre as vantagens da RMN, está o fato de que ela se caracteriza como uma técnica simples e que envolve pouca manipulação da amostra. Por outro lado, ela possui uma menor sensibilidade e especificidade dos metabólitos quando comparada à espectrometria de massa, podendo gerar sobreposições dos espectros de metabólitos, o que dificulta um pouco a interpretação (CANUTO et al, 2018).

Partindo do fato de que cada metabólito tem uma “identidade”, as análises são realizadas identificando-os a partir dos espectros que os caracterizam, podendo ser formados por um pico ou conjunto de picos. Através de softwares computacionais é possível identificar, selecionar e alinhar os picos espectrais encontrados/selecionados previamente (a depender da abordagem escolhida). Tais dados podem ser identificados ou confirmados através de bancos de dados do metaboloma humano (HMDB; <http://www.hmdb.ca>). A partir de toda carga de dados gerados, é possível interpretar as funções de cada metabólito encontrado e suas relações com as vias metabólicas do organismo (JOHNSON; IVANISEVIC; SIUZDAK, 2016; GUIJAS et al, 2018)

Tal interpretação biológica se dá pela utilização das análises estatísticas multivariada e univariada. A análise multivariada permite o reconhecimento de padrões. Dessa forma, com a extração da matriz de dados é possível diferenciar e classificar os metabólitos em grupos de amostras. Para isso, são utilizados métodos não supervisionados como a PCA (análise de componentes principais, do inglês *principal component analysis*) que busca reduzir a dimensionalidade do conjunto de dados original e preservar a maior quantidade de variância possível. O estabelecimento de novas variáveis ortogonais (componentes principais) gera gráficos bi ou tridimensionais que relacionam as amostras com as variáveis (CORREIA e FERREIRA, 2007).

Além disso, também podem ser feitas análises utilizando métodos supervisionados, sendo elas PLS-DA (análise discriminante por mínimos quadrados parciais, do inglês *partial least squares discriminant analysis*) e OPLS-DA (análise de projeções ortogonais para estruturas latentes, do inglês, *orthogonal partial least squares discriminant analysis*). Diferentemente das análises multivariadas, as análises univariadas não avaliam as variáveis em grupos e não estabelecem relações entre elas, como o test T de Student e ANOVA. (CANUTO et al, 2018).

Nesse sentido, com o desenvolvimento da tecnologia, a ciência metabolômica tem sido amplamente utilizada em diversas áreas do saber como: nutrição; esporte; análises clínicas; ambiental (CANUTO et al, 2018). Então, estudos têm buscado utilizar essa técnica para entender modificações que dieta/suplementação e exercícios desempenham no organismo à nível metabólico.

Dessa forma, torna-se possível compreender mais detalhadamente quais metabólitos são induzidos por um certo tipo de exercício e dieta e o como esses resultados afetam o desempenho esportivo nos quesitos de força, resistência, potência, estresse oxidativo e recuperação (MORVILLE et al., 2020), tendo em vista que são produtos finais de reações químicas que acontecem no corpo, assim possuem a capacidade de refletir diretamente o estado do organismo no período de tempo avaliado (BRAGAZZI et al., 2020). Conseqüentemente, o uso da metabolômica tem potencial para realizar comparativos e auxiliar no desenvolvimento de técnicas de treino e alimentação que promovam o melhor resultado para o atleta (DA CRUZ et al., 2022).

2.4 ESTRESSE OXIDATIVO E CONSUMO ALIMENTAR NO FUTEBOL FEMININO

No que diz respeito ao futebol, sabe-se que é um esporte que exige diversas habilidades técnicas e demanda um esforço elevado, necessitando assim de uma alta demanda energética proveniente tanto de vias aeróbicas quanto anaeróbicas (CAO et al., 2020). Tal atividade implica na mudança (benéfica ou não) da composição bioquímica do indivíduo, gerando alterações nos perfis de carboidratos, lipídeos, proteínas, creatina, ureia, lactato, enzimas antioxidantes, entre diversos outros metabólitos (DA CRUZ et al., 2022). Essa mudança do perfil bioquímico, se positiva, pode gerar benefícios para atletas de futebol e possivelmente guarda relação com uma boa nutrição antes e pós jogos.

É notório que o futebol apresenta elevada demanda energética e técnica para homens e mulheres (DOBROWOLSKI e WŁODAREK, 2019), porém o futebol masculino possui mais estudos que avaliam o gasto energético e consumo alimentar de macro e micronutrientes em relação ao futebol feminino (RANDELL et al., 2021). Dessa forma as recomendações dietéticas dos homens se estendem para as mulheres, apesar da profunda diferença na fisiologia entre os sexos (MAUGHAN e SHIRREFFS, 2007).

Assim, estudos mostram que as jogadoras de futebol de elite possivelmente não possuem uma dieta equilibrada, visto que elas geralmente estão em déficit calórico, com disponibilidade energética muito aquém do necessário para as partidas (RANDELL et al., 2021).

No estudo de Dobrowolski e colaboradores (2020), que avaliou a ingestão dietética de atletas de futebol polonesas, identificou-se que o consumo de sódio, ferro, zinco, fósforo, vitaminas A e C e outros micronutrientes estavam adequados, em comparação com o parâmetro de EAR, em mais de 50% da amostra. No entanto, minerais como potássio, cálcio, magnésio e iodo estavam em níveis de ingestão muito baixos em toda a amostra. O mesmo ocorre com cálcio e vitamina D, o que influencia na defesa corporal antioxidante contra o estresse oxidativo gerado pelo esforço físico prolongado. Já em outro estudo realizado com atletas de futebol espanholas, verificou-se que os micronutrientes com consumo abaixo do recomendado foram ácido fólico, magnésio, vitamina D, iodo e potássio. O consumo dos demais micronutrientes estava de acordo com as recomendações (GRAVINA et al., 2012).

Em decorrência do estresse oxidativo produzido pela contração muscular e fadiga, são geradas, a partir do metabolismo do oxigênio nas mitocôndrias e reações enzimáticas, as espécies reativas de oxigênio (EROs) ou radicais livres (PÉREZ-CASTILLO et al., 2023). Esses caracterizam-se como moléculas que possuem um elétron desemparelhado como o peróxido de hidrogênio, óxido nítrico e os superóxidos (BARCELOS et al., 2020).

Os processos envolvidos no estresse oxidativo advindo da prática esportiva ainda são discutidos, visto que ele pode apresentar características que beneficiam ou prejudicam o atleta, a depender do equilíbrio redox/pró-oxidativo. Nesse sentido, a produção de EROs, quando em níveis ótimos, pode ser benéfica à adaptação fisiológica do músculo esquelético, como também favorecer a produção de força isométrica (POWERS et al., 2020). No entanto, em caso de *overtraining*, onde a fadiga é intensa e o período de recuperação insuficiente, é possível que a homeostase redox seja afetada, levando as EROs a causar distúrbios no organismo, oxidando lipídeos, proteínas, DNA e outras moléculas, além de possivelmente diminuir a força muscular por redução na concentração de Na^+/K^+ e na sensibilidade ao cálcio miofibrilar (POWERS et al., 2020; LUTI et al., 2022). Por consequência disso, o processo inflamatório é aumentado e a recuperação muscular se torna mais lenta (STELLINGWERFF et al., 2019).

Buscando manter o equilíbrio redox e reparar tais danos, o corpo tende a elevar as concentrações de enzimas antioxidantes endógenas como glutathione peroxidase e superóxido dismutase. Dessa forma, os antioxidantes exógenos provenientes da alimentação diária do atleta podem ser interessantes para auxiliar na homeostase do organismo (GRAVINA et al., 2012), visto que o uso de suplementos antioxidantes ainda é controverso. Alguns estudos afirmam que o combate excessivo às moléculas oxidativas provenientes da prática esportiva pode prejudicar a adaptação ao exercício, podendo bloquear vias de sinalização anabólica (MARGARITELIS et al., 2018; PONCE-GONZALEZ et al., 2021).

Nesse sentido, o estudo de Gravina e colaboradores (2012) buscou avaliar através de amostras de sangue, a influência da ingestão de macro e micronutrientes (auto registro e pesagem alimentar por oito dias) na reposta antioxidante, anti-inflamatória e imune geradas pelo estresse físico em jogadoras de futebol de elite. Em suma, concluiu-se que, em repouso, o grupo de jogadoras que seguia as recomendações de ingestão teve um maior status antioxidante (maior produção de antioxidantes endógenos; menores níveis de creatina quinase e lactato) em relação às jogadoras que não seguiam recomendações. Imediatamente pós partida, os parâmetros supracitados também favoreceram mais as jogadoras do grupo que seguia as recomendações de ingestão. Além disso, verificou-se que um menor consumo de colesterol e gordura saturada associada a uma maior ingestão de ácidos graxos mono e poli-insaturados melhorou o estado antioxidante do organismo e aumentou os níveis basais da enzima glutathione peroxidase. Esses resultados sugerem uma associação entre ingestão alimentar e tais marcadores no organismo de atletas.

2.5 CONSIDERAÇÕES PRELIMINARES

A partir do exposto nessa revisão narrativa, entende-se que as demandas físico-energéticas advindas do futebol são diversas e que a metabólica pode ser um bom mecanismo para entender a influência desse esporte a nível metabólico nas atletas, verificando, através de uma abordagem global por exemplo, quais metabólitos surgem nas amostras, quais se destacam ao longo dos jogos e o que possivelmente a presença deles significa para as atletas de futebol feminino, podendo estar associados à fadiga, lesões, maior/menor utilização de determinado metabolismo .

Em relação ao equilíbrio redox/pró-oxidativo proveniente do futebol, entende-se que é relativo e depende do modelo do exercício e do quão extenuante se dá essa prática podendo, assim, a produção de EROS ser benéfica ou não para a atleta.

Dessa forma, a busca por metabólitos envolvidos no metabolismo antioxidante das atletas pode variar em decorrência dos fatores citados, como também da técnica de análise e do consumo alimentar das atletas, podendo ser melhor beneficiada pela abordagem não direcionada. Ademais, nota-se a importância de uma alimentação que favoreça a ingestão de alimentos ricos em nutrientes antioxidantes, assim, o reflexo dessa alimentação possivelmente será observado nas análises, através de correlações entre micronutrientes antioxidantes de interesse e metabólitos envolvidos no processo de estresse oxidativo.

3. COLETANEA DE ARTIGOS:

1º ARTIGO

Gouveia, M.M.S., Silva, T.D.A., & Sousa, F.A.B. (2024). Comparação do perfil metabólico de atletas de futebol feminino de elite pré e pós jogo: uma análise descritiva.

RESUMO

Tendo em vista a popularidade do futebol e o reduzido acervo de estudos que avaliem atletas de futebol feminino através da ciência metabolômica, o presente estudo transversal teve como objetivo descrever o perfil metabolômico de 14 atletas de futebol feminino de um time do estado de Alagoas, Brasil, observando a separação de grupos nos momentos pré e pós-jogo em análises de OPLS-DA e descrevendo os metabólitos discriminantes, a partir de amostras de urina analisadas por Ressonância Magnética Nuclear. Foram identificados 43 metabólitos nas amostras e as análises de OPLS-DA, realizadas na plataforma *Metaboanalyst 5.0* demonstraram uma separação progressiva no perfil das atletas ao longo dos jogos. Também foram identificados através de gráficos VIP-plot 15 metabólitos discriminantes dos quais oito aparecem nos três jogos, sendo eles: glicina, formato, citrato, 3-hidroxicinurato, ácido glicólico, trimetilamina, ureia e dimetilglicina. Assim os metabólitos discriminantes observados no VIP estavam relacionados principalmente aos metabolismos energético e proteico, com uma tendência a um aumento do metabolismo da glicólise anaeróbia em detrimento do metabolismo oxidativo aeróbio, o que pode ser uma característica inerente ao futebol feminino em relação aos resultados encontrados anteriormente com o futebol masculino.

Palavras-chaves: futebol; metabolômica; ressonância magnética nuclear; atletas de elite

ABSTRACT

Considering the popularity of soccer and the limited collection of studies that evaluate female soccer athletes through metabolomic science, the present cross-sectional study aimed to describe the metabolomic profile of 14 female soccer athletes from a team in the state of Alagoas, Brazil, observing the separation of groups in the pre- and post-game moments in OPLS-DA analyzes and describing the discriminating metabolites, based on urine samples analyzed by Nuclear Magnetic Resonance. 43 metabolites were identified in the samples and OPLS-DA analyses, carried out on the *Metaboanalyst 5.0* platform, demonstrated a progressive separation in the athletes' profiles throughout the games. Fifteen discriminating metabolites were also identified

through VIP-plot graphics, eight of which appear in the three games, namely: glycine, formate, citrate, 3-hydroxyvalerate, glycolic acid, trimethylamine, urea and dimethylglycine. Thus, the discriminating metabolites observed in VIP were mainly related to energy and protein metabolism, with a tendency towards an increase in anaerobic glycolysis metabolism to the detriment of aerobic oxidative metabolism, which may be an inherent characteristic of women's soccer in relation to the results found previously with men's soccer.

Key-words: soccer; metabolomics; nuclear magnetic resonance; elite athletes

INTRODUÇÃO

A metabolômica se caracteriza por uma ciência que busca estudar moléculas pequenas provenientes de organismos vivos. Tais moléculas, denominadas metabólitos possuem a capacidade de predizer como se encontra o estado fisiológico e metabólico de um dado organismo (MARKLEY et al., 2017; BONGIOVANNI et al., 2022).

Visto que a metabolômica pode ser aplicada em diversas áreas como diagnóstico de doenças, farmacologia, meio ambiente, nutrição, ela também é utilizada para estudar a fisiologia e metabolismo do exercício (GOWDA e RAFTERY, 2021; BONGIOVANNI et al., 2022). Essa vertente voltada para o estudo da atividade física e suas implicações no metaboloma humano é atualmente denominada de *esportômica* e tem sido aplicada em esportes como ciclismo, futebol, basquete, rugby (BRAGAZZI et al., 2020; BONGIOVANNI et al., 2022).

A respeito do emprego da metabolômica no futebol, esporte em foco do presente estudo, sua natureza intermitente, longa duração e alta intensidade provocam mudanças no metabolismo energético e na conformação do perfil metabólico dos atletas (CAO et al., 2020). Além disso, foram identificadas mudanças nos metabólitos das vias das purinas, glicólise, ciclo de Krebs, aminoácidos, ácidos graxos, lactato (ZHAO et al., 2020).

Essas alterações também podem variar de acordo com o tipo de amostra utilizada (sangue, urina, saliva), estilo de vida dos atletas, sexo, idade, duração do exercício (ALZHARANI et al., 2020). Dessa forma, alguns estudos avaliaram momentos de pré e pós-jogo, outros também avaliaram atletas de futebol não em

momento de partida, mas em treinamento com cicloergômetro ou treino HIIT (treino intervalado de alta intensidade, do inglês *high intensity interval training*), utilizando técnicas de análise de dados como PCA, OPLS-DA e análise de enriquecimento de vias para identificar quais metabólitos ou vias se destacaram/são mais utilizadas em determinado momento de jogo, como também o efeito temporal da amostragem sobre o comportamento do metaboloma dos(as) atletas (PITTI et al., 2019; CAO et al., 2020; ZHAO et al., 2020).

Entretanto, tendo em vista o cenário atual do futebol feminino e considerando as diferenças fisiológicas entre atletas homens e mulheres e como elas influenciam na resposta e adaptação ao exercício (ANSDELL et al., 2020), destaca-se a necessidade da realização de mais estudos clínicos voltados para o público feminino, pois trabalhos que envolvam análise metabolômica e futebol feminino ainda são poucos. (RODAS et al., 2022).

Um único estudo que avaliou atletas de futebol feminino e masculino através de espectrometria de massa utilizando amostras de urina associando-as à carga externa, revelou que existiram diferenças metabólicas significativas entre os sexos biológicos. No caso das atletas mulheres, houve destaque para o metabolismo do triptofano, β -alanina, GABA, sarcosina e hipoxantina, sendo a β -alanina associada a maiores cargas de jogadores para ambos os times. Os demais metabólitos citados estão envolvidos em mecanismos de manutenção do músculo esquelético e adaptação muscular induzida pelo exercício (RODAS et al., 2022). Porém tal estudo acompanhou as atletas nos momentos de pré-temporada e durante a temporada, o que destaca a necessidade da realização da descrição metabolômica também nos momentos pós-jogo ou pós-temporada, objetivo ainda não aplicado para o futebol feminino, tendo em vista modificações que podem ser observadas nesse período como o estresse metabólico.

A partir do exposto e tendo em vista a crescente popularidade do futebol e o reduzido acervo de estudos que avaliem atletas de futebol feminino, o presente estudo transversal teve como objetivo descrever o perfil metabolômico de atletas de futebol feminino de um time do estado de Alagoas, Brasil, observando a separação de grupos nos momentos pré e pós-jogo em análises de OPLS-DA ao longo de 3 jogos de um campeonato, e descrevendo os metabólitos discriminantes, a partir de amostras de urina.

MÉTODOS

POPULAÇÃO/AMOSTRAGEM

A amostra foi selecionada de forma não probabilística por conveniência e o tamanho amostral composto por 14 atletas de elite do sexo feminino (idades entre 19-32 anos) que formam o time União Desportiva Alagoana (UDA), time que realiza seus treinos no estádio da Universidade Federal de Alagoas (UFAL). As atletas foram acompanhadas durante o campeonato “Brasileirão” que compreendeu três jogos e o campeonato “Rainha Marta” também com três jogos, ao longo de aproximadamente três meses (27 de maio a 07 de agosto de 2022), como demonstrado no desenho experimental representado na Figura 1. A rotina de treinos das atletas era diária no campo de futebol da UFAL, podendo ter duração de 60, 90 ou 120 minutos.

ASPECTOS ÉTICOS

Anteriormente ao início do estudo, as atletas foram informadas acerca de todos os procedimentos que seriam realizados durante a pesquisa, bem como os possíveis riscos e benefícios. Posteriormente, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Este estudo faz parte de um projeto maior intitulado “Análise e Melhoramento do desempenho do atleta” aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) sob o número CAAE: 29269020.8.0000.5013 e Parecer: 4297907.

COLETA DE DADOS

Inicialmente foi feita uma visita ao Laboratório de Ciências Aplicadas ao Esporte (LACAE) localizado na Universidade Federal de Alagoas, para uma familiarização com as atletas e suas rotinas. Posteriormente, foi realizada uma segunda visita na qual dados antropométricos e recordatórios 24 horas foram coletados. O consumo alimentar prosseguiu em coleta, na forma de registros alimentares, também no

momento pré-temporada durante 10 dias (linha de base), virtualmente. Após o início da temporada, foram realizadas coletas de urina no Estado Universitário UFAL e os registros alimentares continuaram sendo coletados virtualmente. Visto que o estudo se caracteriza como descritivo, não foram realizadas intervenções dietéticas ou recomendações de ingestão para as atletas objetivando verificar a alimentação real sem interferência direta das profissionais de nutrição responsáveis pelas coletas. Os dados de consumo alimentar fizeram parte do projeto, mas serão apresentados em outra comunicação científica, não figurando entre os resultados desse artigo.

CONSUMO ALIMENTAR

Na coleta de linha de base (10 dias antes do início da temporada) realizada no Estádio da Universitário da UFAL, foram coletados pelas nutricionistas responsáveis, recordatórios 24 horas das atletas, de forma presencial. Em seguimento, ao longo dos 10 dias de pré-temporada foram coletados, de forma virtual, registros alimentares enviados em tempo real pelas atletas por meio da rede social *Whatsapp*®, podendo a descrição das refeições serem feitas através de texto, mensagem de áudio ou foto dos alimentos consumidos. Cada nutricionista ficou responsável por contatar 4 a 5 atletas todos os dias. Então, no início do dia mandava-se uma mensagem solicitando as seguintes refeições: café da manhã, lanche da manhã, almoço, lanche da tarde, janta e ceia, os respectivos horários e formas de preparação dos alimentos. À noite, após o envio da última refeição, a nutricionista checava todas as informações enviadas e tirava dúvidas, se necessário. Dessa forma, foram obtidos 11 registros (1 recordatório 24h e 10 registros alimentares) das 14 atletas na linha de base e seis atletas permaneceram fornecendo o consumo alimentar ao longo da temporada alinhado com as datas dos jogos, foram feitas coletas 24 horas antes do jogo, no dia da partida e 24 horas depois do jogo e esses dados foram utilizados para confirmar a manutenção dos hábitos alimentares em relação à linha de base. Para o cálculo de Taxa Metabólica Basal (TMB) foram utilizadas as seguintes fórmulas da FAO/OMS (1985): $14,7 \times \text{massa corporal (kg)} + 496$ (atletas de 18-30 anos) e $8,7 \times \text{peso corporal (kg)} + 829$ (atletas >30 anos).

Para os recordatórios 24h foi aplicado o método *Multiple Pass Method* (MPM), que tem o objetivo auxiliar o entrevistado a fornecer informações mais detalhadas sobre o seu consumo alimentar do dia anterior e, assim, evitar erros no processo de coleta. O MPM possui cinco etapas, sendo elas: listagem rápida (tudo que foi

consumido no dia anterior); listagem de alimentos habitualmente esquecidos; definição do horário e da refeição; detalhamento e revisão (sabor, cor, tipo, forma de preparo) e por último, revisão final (TIPPETT et al., 1999).

COLETA URINÁRIA

Utilizando-se recipientes de coleta de 25 ml de volume, etiquetados com o nome das atletas, data e momento da coleta (pré ou pós-jogo), foram feitas coletas em concordância com as datas das partidas, sendo realizadas no dia dos jogos, antes do aquecimento (para o movimento físico não interferir no comportamento do metabóloma) e imediatamente após as partidas, no vestiário à medida que as atletas retornavam do campo. Em seguida, as amostras coletadas foram levadas em recipiente térmico com gelo para armazenamento em refrigerador no LACAE e posterior análise por Ressonância Nuclear Magnética no Instituto de Química da UFAL.

ANTROPOMETRIA

As medidas de peso e altura foram aferidas por uma balança antropométrica com estadiômetro (Balança Mecânica Adulto 180 kg, *Welmy®*, Santa Bárbara do Oeste, Brasil). O percentual de gordura e dobras cutâneas foram mensuradas com o auxílio de um adipômetro (*Lange Skinfold Caliper*, Cambridge Scientific Industries®, Cambridge, Estados Unidos), utilizando-se o protocolo de três dobras cutâneas (suprailíaca, coxa e tríceps) de Jackson, Pollock e Ward (1980) para determinar o percentual de gordura das atletas, através das seguintes fórmulas: Densidade Corporal = $1,0994921 - (0,0009929 \times \text{soma das dobras cutâneas}) + (0,0000023 \times \text{quadrado da soma das dobras cutâneas}) - (0,0001392 \times \text{idade})$ e Porcentagem de Gordura Corporal (%) = $(495 / \text{Densidade Corporal}) - 450$. As atletas não treinaram ou fizeram aquecimento antes da aferição dos dados antropométricos.

PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

ANÁLISE ALIMENTAR

Os recordatórios 24 horas e registro alimentares foram tabulados do Software *Microsoft Excell 2019* (uma planilha para cada atleta) de acordo com o momento do

campeonato (pré ou durante a temporada). Posteriormente, esses registros foram analisados no aplicativo online *Dietbox*[®] (*Dietbox*[®], Rio Grande do Sul, Brasil) utilizando-se os dados de tabelas de composição química dos alimentos (TBCA, 2020; PHILIPPI, 2002; IBGE, 2011; TACO, 2011; PACHECO, 2011; PINHEIRO et al., 2020). Tal site emite para cada registro alimentar, um resumo de nutrientes no formato pdf onde consta diversos macro e micronutrientes necessários para o presente estudo. Dessa forma, cada resumo de nutrientes/dia/atleta foi convertido para o formato Xlsx, cujo editor de planilhas do programa Excel reconhece e gera um banco de dados. A análise do consumo de energia e macronutrientes foi realizada através das medidas de tendência central e dispersão (média e desvio padrão) e comparando-se os valores aos momentos pré e durante a temporada, através do software *Jamovi* versão 2.3 (Sydney, Austrália) para Windows. Comparou-se os valores aos momentos pré e durante a temporada aos valores de referência para atletas do futebol feminino (DOBROWOSLKI et al., 2020; ABREU et al., 2021)

ANÁLISE METABOLÔMICA

As amostras foram levadas ao Núcleo de Análise e Pesquisa em Ressonância Magnética Nuclear do Instituto Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas para análise, cuja técnica utilizada é a abordagem metabolômica não direcionada/global. A análise foi feita por equipamento de ressonância nuclear magnética BRUKER 600 MHz, AVANCER III (*Bruker*[®], *Karlsruhe*, Alemanha) usando um probe de 5 mm a 300 K (PABBO) com a sequência de pulso: noesygppr1d. As amostras possuíam 1,5 ml retirados e transferidos para tubos *ependorf* para serem centrifugadas a 14000 rpm por 15 minutos (MIKRO 220R) e armazenados a temperatura -80°C, individualmente. Em seguida, para o processo de análise, a centrifugação 300 µL do sobrenadante de cada amostra foi transferido para um tubo de RMN de 5mm com adição de 300 µL de solução tampão fosfato 1mM (D₂O, pH= 7,4, TSP = 1mM) durante 20 minutos no espectrômetro BRUKER AVANCER, dotado de magneto supercondutor, operando a 600MHz para análise de hidrogênio, com sonda de banda-larga de 5mm PABBO a 300k. Quanto à supressão do sinal da água, foi feita pré-saturação seguindo os seguintes parâmetros: NS: 128 (número de scans); D1: 4,00 s (tempo entre os scans); TD: 64K (número de pontos do espectro); SW: 20

ppm (largura da janela); O1P: 4,69 ppm (posição onde aparece o sinal referente a água e, portanto, é irradiada); AQ: 5,11 s (tempo de aquisição).

Os espectros de cada amostra foram obtidos por Software específico *TopSpin® 3.6.5* (Bruker®, Karlsruhe, Alemanha) e identificados com auxílio do Software do *Chenomx profiler® 9.05* (Chenomix®, Edmonton, Canadá,) e confirmados com base na *Human Metabolome Database* (HMDB) (www.hmdb.ca). O pré-processamento, que envolve os processos de sobreposição, alinhamento e quantificação dos espectros, se deu através do *Software R (versão 4.2.2)* (Lucent Technologies®, Georgia, Estados Unidos) utilizando-se o pacote *PepsNMR* versão 3.17. Em seguida, os dados foram exportados para uma tabela no formato .xls, onde as amostras estavam identificadas em linhas e os 43 metabólitos encontrados, em colunas.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Em relação à análise metabolômica multivariada, a mesma foi realizada na plataforma online *Metaboanalyst 5.0* (Universidade de Alberta, Alberta, Canadá) para a análise de Projeções Ortogonais para Estruturas Latentes (OPLS) e geração de gráficos, utilizando-se a configuração de normalização por soma, transformação logarítmica e escalonamento por pareto. Considerou-se também os valores de Q^2 e $R^2 > 0,5$ para predizer a validação do modelo por permutação ($n=1000$).

RESULTADOS

Como forma de caracterizar a amostra ($n= 14$) foram coletados os dados de idade, massa corporal, estatura e IMC, como mostrado na Tabela 1. Já na Tabela 2 encontram-se os dados de caracterização do consumo de energia e macronutrientes das atletas.

Após as análises das amostras de urina por RMN, foram identificados 43 metabólitos. Tais metabólitos identificados estão listados na Tabela 3 com os seus respectivos sinais ppm mínimos e máximos.

Em relação às análises de dados, utilizando a técnica de OPLS-DA para separação de grupos, verificou-se que dos seis jogos coletados, os três jogos do Campeonato Brasileirão (que teve início primeiro), demonstraram uma melhor progressão de comportamento dos grupos no que diz respeito à separação e diferenciação dos indivíduos, assim como as semelhanças nos metabólitos

observados nos VIP-plots em cada jogo, como mostram as Figuras 2, 3 e 4 respectivamente, tal resultado pode estar associado a mudanças na escalação das atletas durante os dois campeonatos. Sendo assim, optamos por descrever apenas os achados metabólicos dos três jogos do Campeonato Brasileiro nesse estudo. Cada pequeno círculo em rosa representa a amostra de uma jogadora nos momentos pré-jogo e os círculos em verde representam as mesmas atletas, mas nos momentos pós-jogo.

Observa-se que no primeiro jogo, os grupos se diferenciaram, mas ainda se tangenciavam. À medida que os jogos foram ocorrendo os grupos pré e pós jogo ficaram cada vez mais separados e distintos. Com os mesmos dados e análise, também foram gerados gráficos VIP-plot que mostram a relevância dos 15 principais metabólitos influenciados pela prática do exercício (considerou-se valor de ponto de corte $VIP > 1$) de acordo com os momentos pré e pós-jogo para cada partida. As colunas laterais mostram o momento do jogo (pré ou pós) e as cores vermelha ou azul que, respectivamente, representam maior ou menor significância dos metabólitos em um dado momento, como observa-se nas Figuras 2,3 e 4. Os valores de R^2 e Q^2 dos jogos 1, 2 e 3 foram respectivamente: 0,844 e 0,534; 0,983 e 0,625; 0,991 e 0,899.

Nota-se nos gráficos VIP-plot que apesar dos 15 metabólitos mais relevantes se alterarem um pouco de acordo com o jogo, oito aparecem nos três jogos, sendo eles: glicina, formato, citrato, 3-hidroxicinurato, ácido glicólico, trimetilamina, ureia e dimetilglicina; metabólitos que de forma geral se relacionam com os metabolismos dos aminoácidos, energético e ciclo do ácido tricarboxílico.

DISCUSSÃO

Análises como as de OPLS-DA (supervisionada) e PCA (não supervisionada) buscam identificar mudanças metabólicas decorrentes de alguma causa e são capazes de fornecer uma boa percepção acerca de tendências de comportamento das amostras avaliadas, seja de forma mais preditiva como a primeira ou mais abrangente, em termos de variância de dados, como a PCA (WORLEY e POWERS, 2016). Nosso estudo utilizou a técnica de OPLS-DA para analisar os resultados e foi observada uma separação nítida dos grupos nos momentos de pré e pós-jogo. O estudo de Cao e colaboradores (2020) que buscou investigar os efeitos da fadiga em 11 jogadores de

futebol adolescentes do sexo masculino, por meio da análise metabolômica por espectrometria de massa utilizando amostras de urina, e também obteve separações dos grupos, porém investigou momentos de pré e pós um teste em cicloergômetro (aeróbico com velocidade de 55-60 rpm/min durante seis minutos e carga de 150w e anaeróbico Wingate durante 30 segundos), sendo três rodadas de teste. Outro estudo que avaliou o perfil metabolômico de 26 jogadores de futebol masculino, analisou amostras de plasma, urina e saliva por espectrometria de massa. Os resultados da análise de OPLS-DA também mostraram separações claras entre os grupos pré e pós treinamento, corroborando com os achados do presente trabalho (ALZHARANI et al., 2020). Já o estudo de Pitti e colaboradores (2019) avaliou amostras de saliva em 17 jogadoras de futebol feminino através de RMN e também verificou que houve separação entre as amostras de pré e pós jogo em termos de concentração de metabólitos, porém através de análises de PCA.

Quanto aos gráficos de VIP-plot no nosso estudo, observa-se que um mesmo metabólito se comportou de maneira diferente em cada partida. Alguns estudos que avaliam metabolômica e futebol masculino e feminino relatam que metabólitos como lactato, piruvato, succinato podem aumentar suas concentrações no momento pós exercício, atuando como marcadores do grau de hipóxia tecidual atingida durante o exercício (PITTI et al., 2019; VIKE et al., 2022), possivelmente por serem metabólitos oriundos da fase anaeróbia da glicólise. No presente estudo, foi possível observar esse comportamento no lactato, que se encontrou aumentado nas amostras de pós jogo das partidas. Já o piruvato estava presente nas amostras, mas não ficou entre os 15 metabólitos principais dos jogos, mas por ser essencial ao metabolismo energético, geralmente tem uma produção aumentada ao longo do exercício, principalmente os extenuantes (SUN et al., 2017). O succinato surgiu como discriminante apenas no primeiro jogo, porém aumentado no momento pré-jogo, diferentemente de outros estudos como o de Alzharani e colaboradores (2020), no qual o succinato estava elevado no pós-treino, justificado pelo aumento das concentrações de malato.

O citrato pode ser considerado um marcador de fadiga pós exercício e geralmente encontra-se aumentado (ALZHARANI et al., 2020; CAO et al., 2020), mas no presente estudo, ele se mostrou aumentado no momento pré-jogo em todas as partidas e diminuído no pós-jogo. Um estudo que avaliou atletas homens em sessões de corridas de 80m, detectou que o citrato também diminuiu a sua concentração no momento pós exercício (PECHLIVANIS et al., 2010). O ácido glicólico, que também

foi discriminante nos três jogos, é um intermediário no metabolismo do glioxilato (relacionado ao ciclo de Krebs) (YAMAGUCHI e OGAWA, 1997). Tal metabólito se comportou como elevado no pré-jogo e reduzido no pós-jogo.

Quanto ao formato, trata-se de um metabólito envolvido em processos de acidose metabólica e redução da produção de energia por inibição da citocromo oxidase, sendo considerado um marcador de fadiga induzido pelo exercício (SUN et al., 2017). O estudo de Sun e colaboradores (2017) observou uma redução nos níveis de formato em atletas homens após corrida de 800m. Comportamento semelhante foi observado em nosso estudo onde o formato encontrou-se alto no pré-jogo e diminuído no pós-jogo. O estudo de Pechlivanis e colaboradores (2010) também obteve achados semelhantes com a redução do formato pós corrida e associam esse achado aos processos de desidrogenação que o metanol sofre até ser convertido em formato. Tais desidrogenações necessitam de NAD⁺ para ocorrerem. No entanto, exercícios de alta intensidade geram uma diminuição das concentrações de NAD⁺, o que consequentemente pode influenciar na diminuição dos níveis de formato.

O estudo de McFadden e colaboradores (2020) relata que atletas de futebol feminino percorrem maiores distâncias em moderada intensidade, como também maiores distâncias em intensidade de endurance em relação aos atletas de futebol masculino. Dessa forma, as partidas de futebol feminino tendem a ser mais anaeróbias, o que pode explicar o lactato aumentado e, consequentemente, o comportamento dos metabólitos supracitados, que estão envolvidos no ciclo de Krebs.

Os aminoácidos glicina e tirosina estão envolvidos no equilíbrio entre síntese e catabolismo proteicos (PITTI et al., 2019). No atual estudo, a glicina se mostrou elevada no momento pré-jogo e diminuída no pós-jogo, como nos estudos de Pechlivanis e colaboradores (2010) e Sun e colaboradores (2017). Esse comportamento da glicina é sugerido por Pechlivanis e colaboradores (2010) como uma possível indicação de alteração no funcionamento renal em decorrência da acidose láctica gerada pelo exercício. Já no estudo de Pitti e colaboradores (2019), que analisou amostras de saliva, a glicina aumentou no pós-exercício, achado divergente que pode estar associado ao tipo de biofluido utilizado. Já a tirosina, também teve o mesmo comportamento que a glicina no presente estudo, diferentemente do estudo de Pitti e colaboradores (2019), onde ela aumentou no pós-jogo. A dimetilglicina pode estar relacionada ao catabolismo proteico decorrente do esforço físico e muscular

(MARINHO et al., 2021). Em nossa análise, ela se mostrou maior no pré-jogo e diminuída no pós-jogo, nos três jogos.

A ureia, produzida no fígado a partir da amônia em decorrência do catabolismo proteico, em um estudo que avaliou amostras de urina, se mostrou aumentada após um dia da temporada de treinamento de inverno e reduziu após 10 dias de recuperação (KIM et al., 2022). Em nosso estudo, ela se manteve mais presente no pré-jogo e diminuída no pós-jogo, nos três jogos, possivelmente em decorrência de treinamentos prévios aos jogos. Outro metabólito indicativo de dano muscular ou declínio da função renal, a creatinina, se mostrou aumentada no pós-maratona (amostras de sangue) (BESTER et al., 2021). O mesmo ocorreu neste estudo, no entanto ela foi discriminante apenas no 2º jogo, o que pode indicar que nesse jogo houve mais dano muscular das atletas. Esses resultados podem ser suportados a partir de intervenções como a do estudo de Selmi e colaboradores (2022) que avaliou marcadores biológicos e fadiga neuromuscular em atletas de futebol masculino submetidos a treinamento intensificado, e relata que houve dano muscular e alteração no equilíbrio anabólico/catabólico induzido pelo treino, sendo relacionados a alguns fatores como estado de recuperação percebido pelos jogadores.

Assim como a creatinina, a trimetilamina pode ser considerada um marcador do funcionamento renal, podendo estar elevada na urina em caso de alguma disfunção/lesão renal aguda decorrente do exercício intenso (KIM et al., 2022). No presente trabalho, nos três jogos avaliados ela esteve mais elevada no momento pré-jogo e diminuída no pós-jogo. No estudo de Sun e colaboradores (2017), o metabólito 3-hidroxiisovalerato diminuiu concentração no momento pós-corrída, assim como no nosso estudo onde o mesmo esteve mais alto no pré-jogo e reduziu no pós-jogo, podendo estar relacionado ao funcionamento renal (SUN et al., 2017). Nesse mesmo estudo, o 2-hidroxiisovalerato, que pode ter relação com estresse oxidativo elevado, aumentou no pós-corrída. Tal comportamento foi oposto ao encontrado por nós no 3º jogo, onde o mesmo diminuiu pós-partida.

Quanto ao alpha-hidroxi-isobutirato ou 2-hidroxiisobutirato, metabólito relacionado à via de produção de corpos cetônicos (MARINHO et al., 2021) manteve-se alto no pré-jogo e reduzido no pós-jogo e foi discriminante apenas na 3ª partida, no atual estudo. Nesse caso, sugere-se que as atletas antes do jogo em questão estavam usando gordura como substrato para a produção de energia, possivelmente em algum treino dias antes e durante o jogo retornaram a produzir energia através da glicose.

No atual estudo, a metilguanidina, que pode ser considerada um marcador de estresse oxidativo, foi discriminante nos jogos 2 e 3 e teve o mesmo comportamento do estudo de Pechlivanis e colaboradores (2012) onde tal metabólito se mostrou reduzido no momento pós-corrída em um dos grupos avaliados, no qual o intervalo entre as sessões de corrida era de 10s. O hipurato, que pode estar relacionado a dano celular (MARINHO et al., 2021) também foi discriminante em 2 jogos, estando elevado no pós-jogo. A 1-metilnicotinamida envolvida nos metabolismos do nicotinato e nicotinamida (WANG et al., 2021), também se destacou em dois jogos, mantendo-se mais elevada no pré-jogo.

Metabólitos como dimetilsulfona, metilhistidina (considerada um marcador de consumo de carne e de quebra de proteína muscular) (PECHLIVANIS et al., 2010), ácido metilúrico (metabólito proveniente da cafeína) (ZAWORSKI et al., 2020), pode supostamente estar relacionado ao consumo, à suplementação ou uso de medicamentos com cafeína, e ácido mevalônico foram discriminantes apenas em 1 jogo e mostraram-se elevados no pré-jogo e reduzidos no pós-jogo. Já os metabólitos uracil e pi-metilhistidina também se destacaram apenas em um jogo, no entanto estavam baixos no pré-jogo e elevados no pós-jogo.

Ao descrever tais metabólitos, percebe-se que alguns deles se mantiveram constantes nos três jogos e outros oscilaram, em termos de relevância, a depender do jogo. Tal fato, pode ser atribuído principalmente às diferenças existentes entre os jogos em termos de fases da competição, adversários diferentes e táticas adotadas em cada jogo. Além disso, a amostra pequena (n=14) também pode ser considerada uma limitação do estudo.

CONCLUSÃO

Nossos resultados mostraram que, ao longo de três jogos de um campeonato, o perfil metabolômico de 14 atletas de futebol feminino se alterou com o passar dos jogos, aspecto observado através de gráficos de opsls-da e os metabólitos discriminantes observados no VIP estavam relacionados principalmente aos metabolismos energético e proteico, com uma tendência a um aumento do metabolismo da glicólise anaeróbia em detrimento do metabolismo oxidativo aeróbio, o que pode ser uma característica inerente ao futebol feminino em relação aos resultados encontrados anteriormente com o futebol masculino.

REFERÊNCIAS

- ABREU, Rodrigo et al. Portuguese Football Federation consensus statement 2020: nutrition and performance in football. **BMJ Open Sport & Exercise Medicine**, v. 7, n. 3, p. e001082, 2021.
- MARINHO, Alisson Henrique et al. The rating of perceived exertion is able to differentiate the post-matches metabolomic profile of elite U-20 soccer players. **European Journal of Applied Physiology**, v. 122, n. 2, p. 371-382, 2022.
- ALZHARANI, Mansour A. et al. Metabolomics profiling of plasma, urine and saliva after short term training in young professional football players in Saudi Arabia. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 19759, 2020.
- ANSDELL, Paul et al. Physiological sex differences affect the integrative response to exercise: acute and chronic implications. **Experimental physiology**, v. 105, n. 12, p. 2007-2021, 2020.
- BESTER, Rachele et al. Characterizing marathon-induced metabolic changes using 1H-NMR metabolomics. **Metabolites**, v. 11, n. 10, p. 656, 2021.
- BONGIOVANNI, Tindaro et al. Metabolomics in team-sport athletes: Current knowledge, challenges, and future perspectives. **Proteomes**, v. 10, n. 3, p. 27, 2022.
- BRAGAZZI, Nicola Luigi et al. Toward sportomics: Shifting from sport genomics to sport postgenomics and metabolomics specialties. Promises, challenges, and future perspectives. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v. 15, n. 9, p. 1201-1202, 2020.
- CAO, Ben et al. Changes of differential urinary metabolites after high-intensive training in teenage football players. **BioMed Research International**, v. 2020, 2020.
- DOBROWOLSKI, Hubert; KARCZEMNA, Aleksandra; WŁODAREK, Dariusz. Nutrition for female soccer players—recommendations. **Medicina**, v. 56, n. 1, p. 28, 2020.
- FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO), WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), THE UNITED NATION UNIVERSITY (UNU). **Energy and protein requirements**. Geneva: FAO/WHO/UNU., 1985.
- NAGANA GOWDA, G. A.; RAFTERY, Daniel. NMR-based metabolomics. **Cancer Metabolomics: Methods and Applications**, p. 19-37, 2021.
- KIM, Hyang-Yeon et al. Urinary metabolomics in young soccer players after winter training season. **Metabolites**, v. 12, n. 12, p. 1283, 2022.
- IBGE, 2011. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/vizualizacao/livros/liv50002.pdf>
- INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009**: tabela de medidas referidas para os alimentos consumidos no Brasil. Rio de Janeiro.
- MARKLEY, John L. et al. The future of NMR-based metabolomics. **Current opinion in biotechnology**, v. 43, p. 34-40, 2017.
- MCFADDEN, Bridget A. et al. Comparison of internal and external training loads in male and female collegiate soccer players during practices vs. games. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 34, n. 4, p. 969-974, 2020.
- PACHECO, M. **Tabela de medidas caseiras e composição química dos alimentos**. 2 ed. Rio de

Janeiro: Rubio, 2011.

PECHLIVANIS, Alexandros et al. ¹H NMR-based metabonomic investigation of the effect of two different exercise sessions on the metabolic fingerprint of human urine. **Journal of proteome research**, v. 9, n. 12, p. 6405-6416, 2010.

PECHLIVANIS, Alexandros 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.

PHILLIPPI, S.T. **Tabela de composição de alimentos: suporte para decisão nutricional**. 7 ed. São Paulo: Manole, 2002.

PITTI, Erica et al. Salivary metabolome and soccer match: Challenges for understanding exercise induced changes. **Metabolites**, v. 9, n. 7, p. 141, 2019.

RODAS, Gil et al. A targeted metabolic analysis of football players and its association to player load: Comparison between women and men profiles. **Frontiers in Physiology**, p. 2091, 2022.

SELMI, Okba et al. Training, psychometric status, biological markers and neuromuscular fatigue in soccer. **Biology of sport**, v. 39, n. 2, p. 319-327, 2022.

SUN, Tao et al. Metabolomic profiles investigation on athletes' urine 35 minutes after an 800-meter race. **The Journal of sports medicine and physical fitness**, v. 57, n. 6, p. 839-849, 2017.

TIPPETT, Katherine S.; ENNS, Cecilia Wilkinson; MOSHFEGH, Alanna J. Food consumption surveys in the US Department of Agriculture. **Nutrition Today**, v. 34, n. 1, p. 33-46, 1999.

TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS (TBCA). Universidade de São Paulo (USP). Food Research Center (FoRC). Versão 7.1. São Paulo, 2020. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tbca>.

TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS (TACO)/NEPA- UNICAMP- 4. Ed. rev. e ampl. Campinas: NEPA- UNICAMP, 2011

PINHEIRO, A.B.V. et al. **Tabela para avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras**. 5ª ed. São Paulo: Atheneu, 2001.

VIKE, Nicole L. et al. Metabolomic response to collegiate football participation: Pre-and Post-season analysis. **Scientific reports**, v. 12, n. 1, p. 3091, 2022.

WANG, Lei-lei et al. Mechanism of the Effect of High-Intensity Training on Urinary Metabolism in Female Water Polo Players Based on UHPLC-MS Non-Targeted Metabolomics Technique. In: **Healthcare**. MDPI, 2021. p. 381.

WORLEY, Bradley; POWERS, Robert. PCA as a practical indicator of OPLS-DA model reliability. **Current Metabolomics**, v. 4, n. 2, p. 97-103, 2016.

YAMAGUCHI, K.; OGAWA, Y. Determination of urinary glycolate by ion chromatography: clinical and experimental implication. **Nihon Hinyokika Gakkai zasshi. The Japanese Journal of Urology**, v. 88, n. 12, p. 984-991, 1997.

ZAWORSKI, Jeremy et al. 1-Methyluric acid nephropathy. **Kidney International Reports**, v. 5, n. 5, p. 737-741, 2020.

ZHAO, Jingjing et al. Integration of metabolomics and proteomics to reveal the metabolic characteristics of high-intensity interval training. **Analyst**, v. 145, n. 20, p. 6500-6510, 2020.

TABELAS E FIGURAS

Tabela 1. Dados de caracterização antropométrica da amostra

	Idade	Massa corp.(kg)	Estatura (cm)	IMC(kg/m²)	Densid. corp. (g/cm³)	% Gord. corp.
Média	22,6	56,0	162	21,4	1,06	18,8
Mediana	21,5	56,3	162	21,5	1,10	18,9
Desvio-padrão	3,46	5,99	7,64	1,54	0,04	4,70
Mínimo	19,0	45,8	148	19,3	1,00	12,7
Máximo	32,0	69,0	175	23,8	1,10	26,5

Legenda: Massa corp.(kg): massa corporal em quilogramas; IMC: Índice de massa corporal. Densid. Corp(g/cm³): densidade corporal em gramas por centímetros cúbicos; % Gord. Corp: gordura corporal em percentual. Os valores são expressos em média \pm desvio padrão

Tabela 2. Consumo alimentar de energia e macronutrientes

	Energia	TMB	% PTN	% CHO	% LIP
Média	1330	1324	16,2	56,0	27,8
Mediana	1291	1324	15,9	55,5	29,3
Desvio-padrão	263	81,6	3,72	8,55	5,35
Mínimo	843	1216	11,4	41,9	18,2
Máximo	1981	1510	23,2	66,7	35,1

Legenda: Energia: quilocalorias; TMB: taxa metabólica basal em kcal; PTN %: Proteínas em percentual; CHO %: carboidratos em percentual; LIP %: lipídeos em percentual.

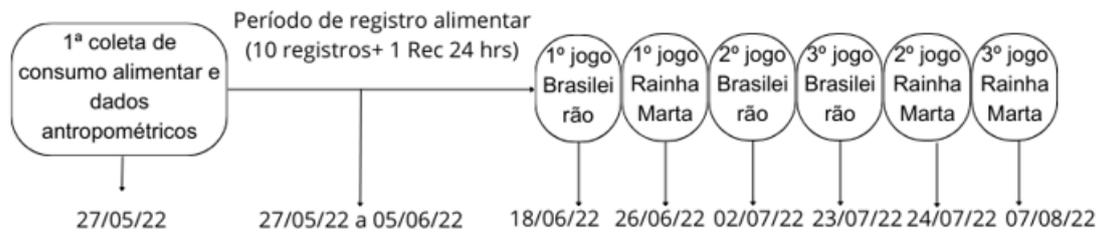
Tabela 3. Metabólitos identificados e seus sinais ppm mínimos e máximos (continua)

Metabólitos	Ppm (mín)	Ppm (máx)
2-Hidroxiisovalerato	0.864	0.911
Leucina	0.92	0.951
Isobutirato	1.064	1.089
3-Aminoisobutirato	1.18	1.212
3-Hidroxiisovalerato	1.262	1.282

Lactato	1.305	1.354
Ácido Mevalonico	1.121	1.147
Alanina	1.47	1.5
Piruvato	2.332	2.358
Succinato	2.4	2.417
Citrato	2.501	2.577
Metilamina	2.589	2.6
Dimetilamina	2.713	2.736
Metilguanidina	2.822	2.842
Trimetilamina	2.9	2.91
Dimetilglicina	2.921	2.94
Creatinina	3.023	3.066
Ácido malônico	3.108	3.117
Dimetilsulfona	3.134	3.142
TMAO	3.264	3.281
Ácido metilúrico	3.281	3.29
Metanol	3.335	3.346
Alpha-Hydroxi- isobutirato	3.351	3.367
Taurina	3.405	3.446
Glicina	3.559	3.583
Pi-metilhistidina	3.671	3.684
Guanadioacetato	3.79	3.811
Fosfocreatina	3.928	3.944
Ácido glicólico	3.943	3.953
Creatinina	4.031	4.086
tartarato	4.351	4.333
Trigonelina	4.433	4.456
Glicose	5.224	5.266
Ureia	5.712	5.921
Trans-aconitato	6.587	6.607
Hidroxifenilacetico	6.849	6.88
Tirosina	6.889	6.915
Metilhistidina	7.005	7.022
Ácido Fenilacetico	7.342	7.386
Uracil	7.493	7.518
Hipurato	7.529	7.596
Formato	8.452	8.476
1-Metilnicotinamida	9.282	9.3

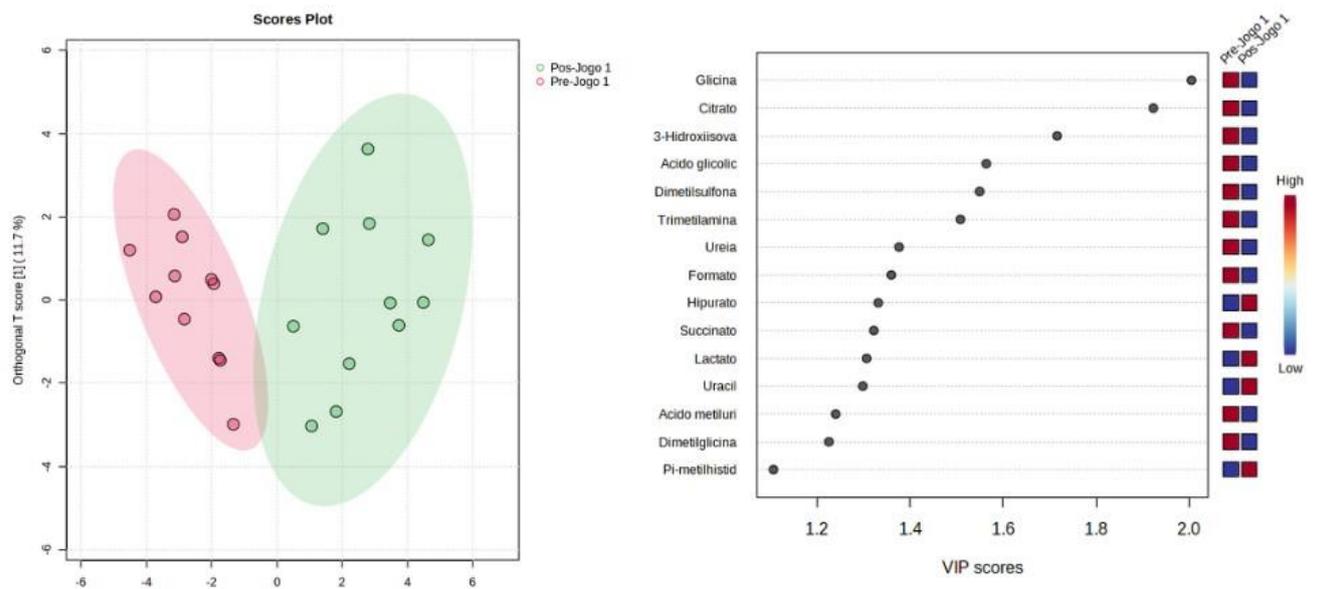
Fonte: elaborado pelo autor (2024).

Figura 1. Desenho experimental do estudo.



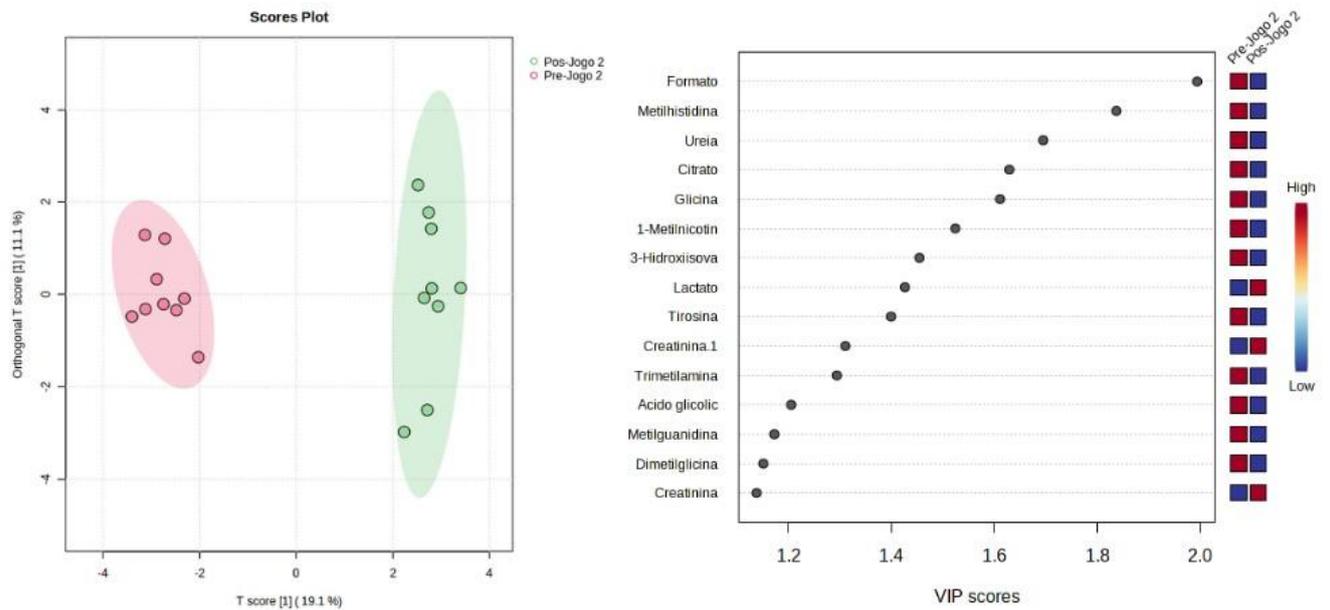
*Nos dias de jogos, as coletas urinárias foram realizadas nos momentos pré-jogo (antes do aquecimento) e pós-jogo imediato.

Figura 2. Gráficos de OPLS-DA e VIP-plot do pré e pós-jogo 1



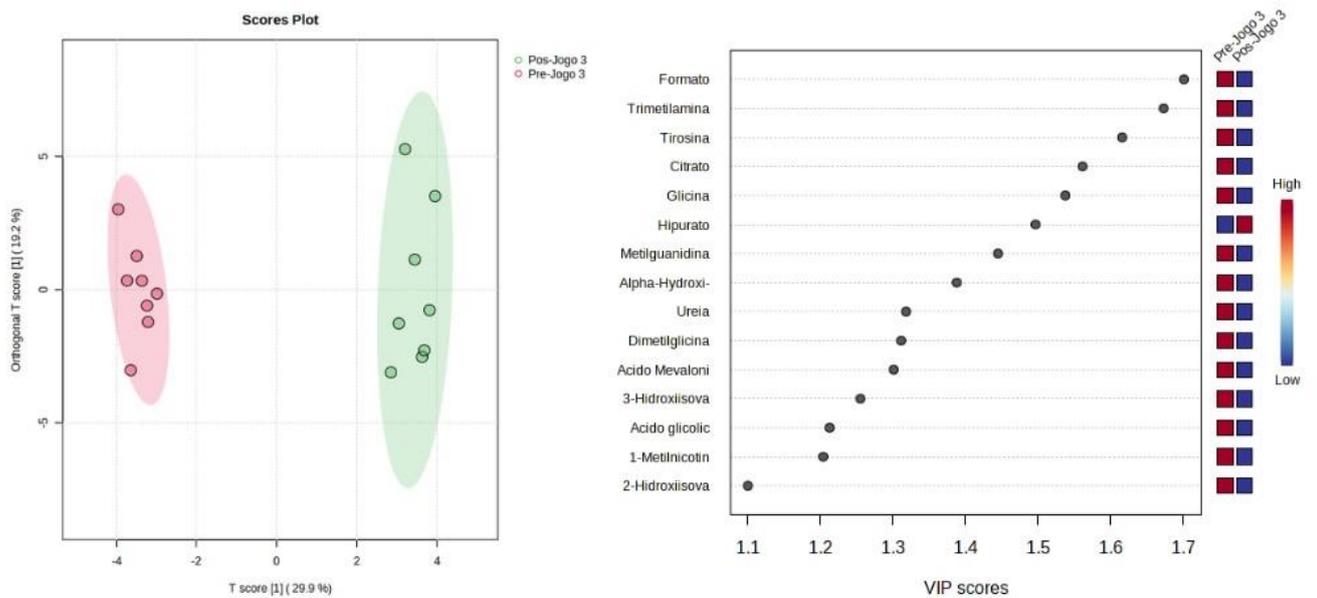
Legenda: As cores rosa e verde representam os momentos de pré e pós-jogo 1, respectivamente e cada pequeno ponto representa uma atleta. Ao lado no VIP estão os 15 principais metabólitos (VIP > 1) e suas representatividades em cada momento de jogo.

Figura 3. Gráficos de OPLS-DA e VIP-plot do pré e pós-jogo 2



Legenda: As cores rosa e verde representam os momentos de pré e pós-jogo 2, respectivamente e cada pequeno ponto representa uma atleta. Ao lado no VIP estão os 15 principais metabólitos (VIP>1) e suas representatividades em cada momento de jogo.

Figura 4. Gráficos de OPLS-DA e VIP-plot do pré e pós-jogo 3



Legenda: As cores rosa e verde representam os momentos de pré e pós-jogo 3, respectivamente e cada pequeno ponto representa uma atleta. Ao lado no VIP estão os 15 principais metabólitos (VIP>1) e suas representatividades em cada momento de jogo.

2º ARTIGO

Gouveia, M.M.S., Silva, T.D.A., & Sousa, F.A.B. (2024). A influência da ingestão de micronutrientes antioxidantes sobre o perfil metabólico de atletas de futebol feminino.

RESUMO

A grande demanda energética exigida pelo futebol provoca uma resposta inflamatória no organismo resultando na maior produção de radicais livres ou espécies reativas de oxigênio (EROs). A produção de EROs em práticas esportivas é algo esperado. Porém, quando há a síntese excessiva de radicais livres, o desempenho físico e a recuperação podem ser afetados, a depender também de variáveis de treinamento. Nesse sentido, destaca-se o papel de uma alimentação mais adequada e que favoreça um aporte interessante de antioxidantes de origem exógena. Considerando a popularidade crescente do futebol feminino, faz-se necessário um estudo mais aprofundado do padrão alimentar de mulheres atletas. Assim, o presente estudo transversal objetivou avaliar a ingestão alimentar na prática esportiva, com foco na análise alimentar de micronutrientes antioxidantes (Vitaminas A, C e E, selênio, zinco e magnésio) e suas possíveis correlações (correlação de Pearson e Circos plot) com o perfil metabólico oxidativo/antioxidante de 14 atletas de futebol feminino do estado de Alagoas, Brasil ao longo de uma temporada composta por 6 jogos. Apenas a vitamina C e o mineral selênio demonstraram maiores percentuais de adequação na ingestão. Quanto à análise metabolômica, foram identificados 43 metabólitos e a Vitamina E, os minerais selênio e zinco se correlacionaram com os principais metabólitos considerados marcadores de estresse oxidativo encontrados em nosso estudo: ácido malônico e piruvato. Assim, o presente estudo demonstrou que o consumo de micronutrientes antioxidantes pode estar relacionado com o comportamento de metabólitos ligados ao estresse oxidativo, em atletas de futebol feminino.

Palavras-chaves: futebol; metabolômica; ressonância magnética nuclear; estresse oxidativo; micronutrientes

ABSTRACT

The great energy demand required by soccer causes an inflammatory response in the body resulting in greater production of free radicals or reactive oxygen species (ROS). The production of ROS in sports practices is expected. However, when there is

excessive synthesis of free radicals, physical performance and recovery can be affected, also depending on training variables. In this sense, the role of a more adequate diet that favors an interesting supply of antioxidants of exogenous origin stands out. Considering the growing popularity of women's soccer, a more in-depth study of the dietary patterns of female athletes is necessary. Thus, the present cross-sectional study aimed to evaluate dietary intake during sports, focusing on the dietary analysis of antioxidant micronutrients (Vitamins A, C and E, selenium, zinc and magnesium) and their possible correlations (Pearson correlation and Circos plot) with the oxidative/antioxidant metabolic profile of 14 female soccer athletes from the state of Alagoas, Brazil over a season consisting of 6 games. Only vitamin C and the mineral selenium demonstrated higher percentages of adequacy in intake. Regarding the metabolomic analysis, 43 metabolites were identified and Vitamin E, the minerals selenium and zinc correlated with the main metabolites considered markers of oxidative stress found in our study: malonic acid and pyruvate. Thus, the present study demonstrated that the consumption of antioxidant micronutrients may be related to the behavior of metabolites linked to oxidative stress, in female soccer athletes.

Key-words: soccer; metabolomics; nuclear magnetic resonance, oxidative stress; micronutrientes

INTRODUÇÃO

Sabe-se que o futebol é um dos esportes mais praticados do mundo, sendo uma prática de alta intensidade (DOBROWOLSKI et al., 2020) com diversas habilidades de aporte físico-energético elevado, como corrida em velocidade, sprints curtos, saltos e giros. O desempenho pode ser influenciado por composição antropométrica dos atletas; alterações metabólicas decorrentes do esforço físico e alimentação (com possíveis oscilações nas concentrações de lactato, hormônios, aminoácidos, enzimas, corpos cetônicos no pré e pós treino) (CAO et al., 2020; MARINHO et al., 2021), estresse oxidativo e aporte energético advindo do padrão alimentar dos jogadores.

A grande demanda energética exigida pelo futebol, que comumente depende de esforços prolongados, gera contrações, lesões de fibras musculares e danos musculares nos atletas. Esse panorama provoca uma resposta inflamatória no organismo resultando na maior produção de radicais livres ou espécies reativas de

oxigênio (EROs) (HIGGINS et al., 2020). A produção de EROs em práticas esportivas é algo esperado e, quando em concentrações moderadas, favorecem a otimização das contrações musculares, melhorando a secreção de cálcio no retículo sarcoplasmático (SUZUKI, 2021).

A partir disso, como consequência de uma maior produção de EROs, o organismo eleva sua produção endógena de enzimas antioxidantes como glutathione peroxidase; superóxido dismutase; glutathione dismutase. Porém, quando há a síntese excessiva de radicais livres (ação oxidante > ação antioxidante), o desempenho físico e a recuperação podem ser afetados, a depender também de variáveis de treinamento como intensidade, duração, tipo de treino (HADZOVIC-DZUVO et al, 2014; SUZUKI, 2021). Nesse sentido, o papel de uma alimentação mais adequada e que favoreça um aporte interessante de antioxidantes de origem exógena se faz importante como estratégia de busca do equilíbrio de defesa do organismo das atletas (GRAVINA et al., 2012).

No entanto, ainda não há uma diretriz bem estabelecida para atletas mulheres acerca de um padrão alimentar que melhor favoreça as atletas a alcançarem os seus objetivos, observando o nível de estresse metabólico ao qual estão submetidas. Considerando que a prática de futebol masculino foi exclusiva durante muitos anos, as necessidades nutricionais masculinas foram estendidas às atletas mulheres (ABREU et al., 2021). Contudo, é de se esperar que essa demanda seja diferente, haja vista que atletas de futebol feminino comumente percorrem distâncias menores durante o jogo (em torno de 10km e 28% do percurso em alta intensidade) e em intensidades relativas diferentes do que seus pares do sexo masculino, que percorrem distâncias maiores e velocidades mais altas (BRADLEY et al., 2014; MCFADDEN et al., 2020). Além disso, destaca-se as diferenças anatômicas e hormonais, que podem influenciar na incidência e localidade de lesões (ROBLES-PALAZÓN et al., 2021).

Nesse sentido, em decorrência da natureza dos esforços, da qualidade do aporte nutricional, e do sexo biológico, os compostos que circulam no organismo podem ser alterados no sangue ou urina em função do estado corporal do indivíduo (repouso; ativo; alterações hormonais;). A ciência da metabolômica estuda, através de amostras biológicas, os metabólitos produzidos pelo organismo a nível molecular. Tais compostos, por serem subprodutos de diversas reações, conseguem refletir o estado que o organismo se encontra em um dado momento (GUO et al., 2021).

Trazendo o potencial da utilização da metabolômica para o futebol, essa técnica demonstrou eficácia na avaliação de fadiga induzida pelo exercício em jovens atletas com modificação de metabólitos de algumas vias metabólicas como da tirosina, ácido tricarbóxico e glicerofosfato (CAO et al., 2020). Também mostrou evidências acerca do tempo necessário para recuperação pós treinamento, através da análise de amostras de urina, onde a concentração aumentada de metabólitos como amônia, lactato e adenina possibilitaram a sugestão de um intervalo de até cinco dias de recuperação para evitar lesões nos atletas (KIM et al., 2022)

Diante do exposto, nota-se que a alimentação é capaz de alterar o metaboloma humano. Assim, é possível que a ingestão de antioxidantes através da alimentação mantém uma associação com o metaboloma de mulheres atletas de futebol, sob a perspectiva do estresse oxidativo, relação pouco explorada em estudos que envolvam esse público. A partir disso, o presente estudo transversal objetivou avaliar a ingestão alimentar na prática esportiva, com foco na análise alimentar de micronutrientes antioxidantes e suas possíveis correlações com metabólitos envolvidos no metabolismo oxidativo/antioxidante de praticantes de futebol feminino da Universidade Federal de Alagoas, ao longo de uma temporada.

MÉTODOS

POPULAÇÃO/AMOSTRAGEM

A amostra foi selecionada de forma não probabilística por conveniência e o tamanho amostral composto por 14 atletas de elite do sexo feminino (de idades entre 19-32 anos) que formam o time União Desportiva Alagoana (UDA), time que realiza seus treinos no estádio da Universidade Federal de Alagoas (UFAL). As atletas foram acompanhadas durante uma temporada que compreendeu seis jogos (três jogos do “Campeonato Brasileirão” e três jogos do campeonato “Rainha Marta”) em um período de aproximadamente três meses (27 de maio a 07 de agosto de 2022), como mostra o desenho experimental representado na Figura 1. A rotina de treinos das atletas era diária no campo de futebol da UFAL, podendo ter duração de 60, 90 ou 120 minutos.

ASPECTOS ÉTICOS

Anteriormente ao início do estudo, as atletas foram informadas acerca de todos os procedimentos que seriam realizados durante a pesquisa, bem como os possíveis

riscos e benefícios. Posteriormente, assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Este estudo faz parte de um projeto maior intitulado “Análise e Melhoramento do desempenho do atleta” aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) sob o número CAAE: 29269020.8.0000.5013 e Parecer: 4297907.

COLETA DE DADOS

Inicialmente foi feita uma visita ao Laboratório de Ciências Aplicadas ao Esporte (LACAE) localizado na Universidade Federal de Alagoas, para uma familiarização com as atletas e suas rotinas. Posteriormente, foi realizada uma segunda visita na qual dados antropométricos e recordatórios 24 horas foram coletados. O consumo alimentar prosseguiu em coleta, na forma de registros alimentares, também no momento pré-temporada durante 10 dias (linha de base), virtualmente. Após o início da temporada, foram realizadas coletas de urina no Estado Universitário UFAL e os registros alimentares continuaram sendo coletados virtualmente. Visto que o estudo se caracteriza como descritivo, não foram realizadas intervenções dietéticas ou recomendações de ingestão para as atletas objetivando verificar a alimentação real sem interferência direta das profissionais de nutrição responsáveis pelas coletas.

CONSUMO ALIMENTAR

Na coleta de linha de base (10 dias antes do início da temporada) realizada no Estádio da Universitário da UFAL, foram coletados pelas nutricionistas responsáveis, recordatórios 24 horas das atletas, de forma presencial. Em seguimento, ao longo dos 10 dias de pré-temporada foram coletados, de forma virtual, registros alimentares enviados em tempo real pelas atletas por meio da rede social *Whatsapp*®, podendo a descrição das refeições serem feitas através de texto, mensagem de áudio ou foto dos alimentos consumidos. Cada nutricionista ficou responsável por contatar 4 a 5 atletas todos os dias. Então, no início do dia mandava-se uma mensagem solicitando as seguintes refeições: café da manhã, lanche da manhã, almoço, lanche da tarde, janta e ceia, os respectivos horários e formas de preparação dos alimentos. À noite, após o envio da última refeição, a nutricionista checava todas as informações enviadas e tirava dúvidas, se necessário. Dessa forma, foram obtidos 11 registros (1

recordatório 24h e 10 registros alimentares) das 14 atletas na linha de base e seis atletas permaneceram fornecendo o consumo alimentar ao longo da temporada alinhado com as datas dos jogos, foram feitas coletas 24 horas antes do jogo, no dia da partida e 24 horas depois do jogo e esses dados foram utilizados para confirmar a manutenção dos hábitos alimentares em relação à linha de base. Para o cálculo de Taxa Metabólica Basal (TMB) foram utilizadas as seguintes fórmulas da FAO/OMS (1985): $14,7 \times \text{massa corporal (kg)} + 496$ (atletas de 18-30 anos) e $8,7 \times \text{peso corporal (kg)} + 829$ (atletas >30 anos).

Para os recordatórios 24h foi aplicado o método *Multiple Pass Method* (MPM), que tem o objetivo auxiliar o entrevistado a fornecer informações mais detalhadas sobre o seu consumo alimentar do dia anterior e, assim, evitar erros no processo de coleta. O MPM possui cinco etapas, sendo elas: listagem rápida (tudo que foi consumido no dia anterior); listagem de alimentos habitualmente esquecidos; definição do horário e da refeição; detalhamento e revisão (sabor, cor, tipo, forma de preparo) e por último, revisão final (TIPPETT et al., 1999).

COLETA URINÁRIA

Utilizando-se recipientes de coleta de 25 ml de volume, etiquetados com o nome das atletas, data e momento da coleta (pré ou pós-jogo), foram feitas coletas em concordância com as datas das partidas, sendo realizadas no dia dos jogos, antes do aquecimento (para o movimento físico não interferir no comportamento do metabóloma) e imediatamente após as partidas, no vestiário à medida que as atletas retornavam do campo. Em seguida, as amostras coletadas foram levadas em recipiente térmico com gelo para armazenamento em refrigerador no LACAE e posterior análise por Ressonância Nuclear Magnética no Instituto de Química da UFAL.

ANTROPOMETRIA

As medidas de peso e altura foram aferidas por uma balança antropométrica com estadiômetro (Balança Mecânica Adulto 180 kg, *Welmy*®, Santa Bárbara do Oeste, Brasil). O percentual de gordura e dobras cutâneas foram mensuradas com o auxílio de um adipômetro (*Lange Skinfold Caliper*, Cambridge Scientific Industries®),

Cambridge, Estados Unidos), utilizando-se o protocolo de três dobras cutâneas (suprailíaca, coxa e tríceps) de Jackson, Pollock e Ward (1980) para determinar o percentual de gordura das atletas, através das seguintes fórmulas: Densidade Corporal = $1,0994921 - (0,0009929 \times \text{soma das dobras cutâneas}) + (0,0000023 \times \text{quadrado da soma das dobras cutâneas}) - (0,0001392 \times \text{idade})$ e Porcentagem de Gordura Corporal (%) = $(495 / \text{Densidade Corporal}) - 450$. As atletas não treinaram ou fizeram aquecimento antes da aferição dos dados antropométricos.

PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

ANÁLISE METABOLÔMICA

As amostras foram levadas ao Núcleo de Análise e Pesquisa em Ressonância Magnética Nuclear do Instituto Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas para análise, cuja técnica utilizada é a abordagem metabolômica não direcionada/global. A análise é feita por equipamento de ressonância nuclear magnética BRUKER 600 MHz, AVANCER III (*Bruker®*, Karlsruhe, Alemanha) usando um probe de 5 mm a 300 K (PABBO) com a sequência de pulso: noesygppr1d. As amostras possuíam 1,5 ml retirados e transferidos para tubos *ependorf* para serem centrifugadas a 14000 rpm por 15 minutos (MIKRO 220R) e armazenados a temperatura -80°C, individualmente. Em sequência, para o processo de análise, a centrifugação 300 µL do sobrenadante de cada amostra foi transferido para um tubo de RMN de 5mm com adição de 300 µL de solução tampão fosfato 1mM (D2O, pH= 7,4, TSP = 1mM) durante 20 minutos no espectrômetro BRUKER AVANCER, dotado de magneto supercondutor, operando a 600MHz para análise de hidrogênio, com sonda de banda-larga de 5mm PABBO a 300k. Quanto à supressão do sinal da água, foi feita pré-saturação seguindo os seguintes parâmetros: NS: 128 (número de scans); D1: 4,00 s (tempo entre os scans); TD: 64K (número de pontos do espectro); SW: 20 ppm (largura da janela); O1P: 4,69 ppm (posição onde aparece o sinal referente a água e, portanto, é irradiada); AQ: 5,11 s (tempo de aquisição).

Os espectros de cada amostra foram obtidos por Software específico *TopSpin®* 3.6.5 (*Bruker®*, Karlsruhe, Alemanha) e identificados com auxílio do Software do *Chenomx profiler®* 9.05 (*Chenomix®*, Edmonton, Canadá) e confirmados com base na *Human Metabolome Database* (HMDB) (www.hmdb.ca). O pré-processamento,

que envolve os processos de sobreposição, alinhamento e quantificação dos espectros, se deu através do *Software R (versão 4.2.2)* (Lucent Technologies®, Georgia, Estados Unidos) utilizando-se o pacote PepsNMR versão 3.17. Em seguida, os dados foram exportados para uma tabela no formato .xls, onde as amostras estavam identificadas em linhas e os metabólitos em colunas.

ANÁLISE ALIMENTAR

Os recordatórios 24 horas e registro alimentares foram tabulados do *Software Microsoft Excell 2019* (uma planilha para cada atleta) de acordo com o momento do campeonato (pré ou durante a temporada). Posteriormente, esses registros foram analisados no aplicativo online *Dietbox®* (*Dietbox®*, Rio Grande do Sul, Brasil) utilizando-se os dados de tabelas de composição química dos alimentos (TBCA, 2020; PHILIPPI, 2002; IBGE, 2011; TACO, 2011; PACHECO, 2011; PINHEIRO et al., 2020). Tal site emite para cada registro alimentar, um resumo de nutrientes no formato pdf onde consta diversos macro e micronutrientes necessários para o presente estudo. Dessa forma, cada resumo de nutrientes/dia/atleta foi convertido para o formato Xlsx, cujo editor de planilhas do programa Excel reconhece e gera um banco de dados.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise do consumo de energia e macronutrientes foi realizada através das medidas de tendência central e dispersão (média e desvio padrão) e comparando-se os valores aos momentos pré e durante a temporada, através do software *Jamovi* versão 2.3 (Sydney, Austrália) para Windows. Para o cálculo de Taxa Metabólica Basal (TMB) foram utilizadas as seguintes fórmulas da FAO/OMS (1985): $14,7 \times \text{massa corporal (kg)} + 496$ (atletas de 18-30 anos) e $8,7 \times \text{peso corporal (kg)} + 829$ (atletas >30 anos). Já a análise de vitaminas e minerais foi realizada através da avaliação probabilística de adequação ou inadequação em concordância com as DRIs (Dietary Reference Intake) sob avaliação da ingestão de nutrientes para indivíduos estabelecida pelo IOM (INSTITUTE OF MEDICINE, 2000), exceto o selênio que não possui valor de desvio padrão estabelecido, portanto o cálculo de probabilidade se tornou inviável. Assim, apenas para o selênio a adequação se deu pela comparação da média de consumo com o valor de EAR (Estimated Average Requirement).

Em relação à análise metabolômica multivariada, através do Software *R* (Lucent Technologies®, Georgia, Estados Unidos) foram gerados gráficos de correlação de Pearson, que relacionaram as médias de ingestão de cada micronutriente com os 43 metabólitos encontrados nas amostras das atletas, separadamente em cada um dos seis jogos.

Ademais, para comparar o consumo alimentar habitual das atletas (médias de cada nutriente) com os metabólitos pertencentes às amostras dos seis jogos (colocando em foco da análise as atletas), foi gerado um gráfico de Análise Discriminante de Mínimos Quadrados Parciais (PLS-DA), no qual é possível verificar correlações positivas (linhas azuis) e negativas (linhas vermelhas) e a intensidade das correlações através da espessura de tais linhas.

RESULTADOS

DESCRIÇÃO DA AMOSTRA

A fim de caracterizar a amostra (n=14), foram realizadas medidas antropométricas como massa corporal, altura, IMC e dobras cutâneas das atletas (representadas na tabela pelos valores de densidade corporal e percentual de gordura corporal), cujos resultados são mostrados na Tabela 1.

DESCRIÇÃO DO CONSUMO ALIMENTAR HABITUAL E MICRONUTRIENTES

Quanto aos resultados de energia, macronutrientes e fibras estão representadas na Tabela 2, nota-se que a média de consumo calórico foi consideravelmente baixa, mas ainda estava acima do valor médio da TMB (Taxa Metabólica Basal) e dentre os macronutrientes, o mais consumido na alimentação das atletas foi o carboidrato, com um percentual de 56% em relação ao valor energético total.

Em relação aos dados do consumo de micronutrientes antioxidantes, estão representados na Tabela 3 através das medidas de tendência central e dispersão, além do valor de EAR para cada nutriente. No Apêndice A estão representadas as tabelas de probabilidade de adequação do consumo individual das 14 atletas pertencentes à amostra para os micronutrientes de interesse, exceto o selênio.

Entre as quatorze atletas avaliadas, o consumo alimentar habitual de vitamina A apresentou algum percentual de concluir corretamente que estava inadequado para 12 atletas, para vitamina E foi para 13 atletas, para vitamina C foi para 11 atletas, para zinco foram 10 atletas e para magnésio foram todas as atletas (Apêndice A). A média da ingestão de selênio apresentou-se acima do valor da EAR.

DESCRIÇÃO METABOLÔMICA DOS JOGOS *versus* CONSUMO HABITUAL

Para correlacionar as médias do consumo de micronutrientes de caráter antioxidante das atletas decorrente de 10 dias de registro alimentar pré-campeonato com os 43 metabólitos identificados nas amostras de urina coletadas pré e pós jogos, tem-se na Figura 2 um gráfico de correlação de Pearson, que mostra quais correlações foram significativas entre si ($p < 0,05$ ou $p < 0,01$ ou $p < 0,001$). A partir disso, o gráfico representado na Figura 3 foi gerado utilizando-se um ponto de corte de 50% para as correlações ($r = 0.5$). Esse gráfico é capaz de mostrar a força de correlação entre as médias de consumo dos micronutrientes antioxidantes com os metabólitos das amostras de urina das atletas (sendo o foco da análise as atletas ao invés dos jogos).

As linhas vermelhas e azuis no centro da Figura 3 significam correlações negativas e positivas, respectivamente. A espessura das linhas está relacionada com a força de correlação, assim, linhas mais espessas indicam correlações mais fortes e as mais finas, correlações menos fortes. Além disso, cada linha por fora do círculo representa uma atleta, especificadas por cores diferentes. Essas linhas representam a expressão média de cada metabólito para cada atleta. Assim, linhas com picos maiores mostram uma maior expressão de um dado metabólito numa determinada atleta e linhas mais retilíneas, expressões menores.

De acordo com os resultados presentes em ambas as figuras, pode-se observar que ocorreram diversas correlações entre os micronutrientes antioxidantes e metabólitos, alguns que possuem certo caráter antioxidante e outros que não têm essa característica. Nota-se também que algumas correlações se repetem em ambos as análises como Vitamina E e piruvato, Zinco e ácido malônico, Vitamina C e guanidinoacetato, magnésio e 3-aminoisobutirato, selênio e dimetilglicina e Vitamina E e fosfocreatina. No gráfico de circos plot, a Vitamina A foi o único nutriente analisado que não demonstrou correlação positiva ou negativa com nenhum dos metabólitos. Já

na correlação de Pearson, ela teve algumas correlações negativas com a fosfocreatina e com o 3-aminoisobutirato e uma positiva com o ácido mevalônico.

DISCUSSÃO

No nosso estudo, buscamos analisar o consumo alimentar de atletas de futebol feminino como um todo, mas objetivamos analisar de forma específica os micronutrientes antioxidantes de interesse, além de correlacioná-los com as atletas ao longo dos jogos. Nesse contexto, as vitaminas A, C e E agem como antioxidantes exógenos. Dessa forma, além da defesa endógena contra as espécies reativas de oxigênio, acredita-se que alimentos fontes dessas vitaminas como também as suplementações podem proporcionar uma proteção secundária e auxiliar contra os radicais livres produzidos em decorrência do esforço físico. No presente trabalho, a ingestão das vitaminas C e o mineral selênio, através da alimentação, demonstrou-se adequada. Já o consumo de vitamina A e E, zinco e magnésio estavam com maior probabilidade de inadequação na amostra avaliada.

O trabalho de DOBROWOLSKI e WLODAREK (2019) com atletas de futebol polonesas verificou a ingestão de micronutrientes, também utilizando os valores de EAR como referência. A respeito das vitaminas A e C e do mineral zinco, encontraram-se superiores aos valores recomendados. Já em relação à vitamina E e ao mineral magnésio estavam com valores abaixo da EAR. O mineral selênio não foi avaliado no estudo citado.

Um outro estudo que avaliou 33 atletas de futebol feminino adolescentes, investigou o consumo alimentar e verificou que as Vitaminas A e C estavam acima dos valores de EAR assim como os minerais magnésio e zinco. A média de vitamina E estava abaixo do valor de referência e o selênio não foi avaliado (GIBSON et al., 2011).

A respeito do papel do Zinco (Zn), um estudo de Toro-Román e colaboradores (2022) sugere que possivelmente ele mantém uma relação direta com o esporte, já que em média 60% da sua concentração está localizada no músculo esquelético. Além disso, ele atua como cofator de diversas metaloenzimas como a lactato desidrogenase e superóxido dismutase, atuando também no sistema imune e em todo processo de divisão e desenvolvimento celular.

Uma revisão sistemática que avaliou o papel da suplementação de minerais e oligoelementos no desempenho atlético de atletas de elite relata que o Magnésio (Mg) pode ter relação com a massa muscular, potência e com os marcadores de inflamação (HEFFERNAN et al., 2019). Verificou-se que a intensidade do exercício tem ligação com a concentração plasmática do Mg. Atletas de handebol de elite que treinaram numa maior duração, mas em intensidade baixa a moderada apresentaram níveis maiores de Mg (MOLINA-LÓPEZ et al., 2012). As evidências sugerem que a suplementação de 300-500 mg/dia de magnésio durante 1-4 semanas pode melhorar o desempenho muscular e reduzir inflamação induzida pelo exercício e danos ao DNA (HEFFERNAN et al., 2019). Quanto ao selênio, sua suplementação mostrou aumento da atividade da glutathione peroxidase em comparação com o grupo placebo em um programa de treinamento de resistência de 10 semanas (TESSIER et al., 1995).

Um ensaio clínico que avaliou a influência da alta ingestão de alimentos ricos em antioxidantes na resposta ao treinamento em atletas de elite que treinaram em altitude, relata o aumento da capacidade antioxidante e diminuição de biomarcadores inflamatórios induzidos pela altitude, porém sem efeito no estresse oxidativo (KOIVISTO et al., 2018). Isso reforça o fato de que o ideal é obter os antioxidantes exógenos através da alimentação e que a suplementação pode prejudicar as vias de sinalização anabólica (HIGGINS et al., 2020).

No gráfico circos plot (Figura 3), nota-se que a Vitamina C possui uma correlação positiva com o guanidinoacetato, composto orgânico precursor da creatina (OSTOJIC et al., 2022), assim como no mapa de calor (Figura 2) onde ambos mantêm uma correlação significativa ($p < 0,001$), o que pode significar uma relação entre vitamina C e produção de energia, mas não com potencial antioxidante levando em consideração apenas o guanidinoacetato. Quanto às correlações negativas, na Figura 3 a vitamina C se correlacionou com o 3-aminoisobutirato que se trata de um intermediário das vias da valina e timina (PODEBRAD et al., 2000). O magnésio também demonstrou correlações negativas e significativas com 3-aminoisobutirato ($p < 0,01$). O zinco manteve relação positiva e significativa com o ácido malônico em ambos os gráficos ($p < 0,001$). O mineral selênio relacionou-se positivamente com metanol e succinato (Figura 3) e com piruvato e ácido malônico (Figura 2). Além deles a Vitamina E também manteve correlação com ácido malônico ($p < 0,01$).

Estudos relatam que alguns dos metabólitos supracitados podem representar um papel antioxidante ou de marcador de estresse oxidativo. Um aumento da

oxidação de succinato em decorrência do aumento na concentração de malato, pode estar associado a oxidação de ácidos graxos (ALZHARANI et al., 2020). Em relação ao malonato ou ácido malônico pode ser formado pela oxidação do malondialdeído, considerado um marcador de estresse oxidativo (BOWMAN e WOLFGANG, 2019).

Já o piruvato, correlacionado positivamente e significativamente com a Vitamina E ($p < 0,001$) e com o selênio na Figura 2 ($p < 0,001$), possivelmente atua como um antioxidante. O estudo de Enea e colaboradores (2009) avaliou atletas mulheres através de amostras de urina em RMN verificou que houve um aumento na concentração do acetato nas atletas que fizeram um teste intenso de curta duração (ciclo ergômetro). Tal elevação de acetato foi atribuída ao piruvato que utiliza H_2O_2 (metabólito pró-oxidativo) e gera acetato e CO_2 numa reação de descarboxilação oxidativa.

Outros metabólitos como dimetilglicina e fosfocreatina, mantiveram correlações negativas com o selênio ($p < 0,001$) e Vitamina E ($p < 0,01$), respectivamente (ambas as análises) e com a Vitamina A na Figura 2 ($p < 0,05$). No entanto, a literatura majoritariamente os correlaciona com os metabolismos de aminoácidos e energético, respectivamente (ZHAO et al., 2020). Além da fosfocreatina, a Vitamina A apenas se correlacionou negativamente com o 3-aminoisobutirato no mapa de calor ($p < 0,01$), não demonstrando correlações positivas ou negativas na Figura 3.

Finalizando as correlações existentes nas análises realizadas, o selênio também demonstrou uma correlação negativa com a metilamina, amina encontrada na urina e que, além de ter ligação com doenças renais, pode estar relacionada a toxicidade decorrente de estresse oxidativo (MITCHELL e ZHANG, 2001). Nesse contexto, observa-se que níveis mais elevados de selênio (como mostrado na análise de consumo alimentar do presente estudo) estão associados com menores níveis de metilamina, um marcador de estresse oxidativo, na urina das atletas.

Por fim, o zinco manteve uma correlação negativa com a trimetilamina, considerada marcador de lesão renal causada por esforço físico (KIM et al., 2022) e uma correlação significativa na Figura 2 com a metilguanidina ($p < 0,001$), possível marcador de estresse oxidativo (PECHLIVANIS et al., 2012).

Até onde se tem conhecimento, esse é o primeiro estudo que visou correlacionar o consumo de micronutrientes antioxidantes com metabolômica em atletas do sexo feminino.

O estudo de Pinto e colaboradores (2022) que comparou atletas de basquete dos sexos feminino e masculino com controles sedentários para compreender melhor perfis metabólicos e hormonais, capacidade antioxidante (metabolômica com amostras de plasma) verificou que mulheres e homens atletas obtiveram um aumento da capacidade antioxidante em comparação com o grupo controle (aumento um pouco maior para os homens), como também diminuição dos níveis de cortisol salivar e ativação de vias araquidônicas e ciclo da ureia como resposta à inflamação.

Outro estudo que avaliou metabolômica em atletas de ambos os sexos, porém no futebol, para verificar a influência da carga externa de treinamento nos metabólitos urinários destacou o metabólito 8-hidroxi-guanosina (presente no perfil masculino) considerado um biomarcador de estresse oxidativo (RODAS et al., 2022)

Um outro estudo que avaliou homens jogadores de Rugby em momentos pré e pós jogo (amostras de urina, saliva e sangue) para verificar resposta inflamatória, dano muscular, estado de recuperação do atleta relata que o ácido orgânico 2-hidroxi-butarato (relacionado à estresse oxidativo) atingiu um pico (no soro) no momento pós-jogo imediato. Já entre um dia antes e dois dias depois do jogo houve modificações no metabolismo da glutatona, glicina e serina (relacionados à recuperação) no soro e da metionina na saliva. Tal estudo avaliou a ingestão alimentar, mas apenas analisou os resultados de macronutrientes (HUDSON et al., 2021).

Ao longo da presente discussão foi possível observar correlações entre alguns metabólitos relacionados ao estresse oxidativo com alguns micronutrientes antioxidantes de interesse. Em contrapartida, também houve correlações relacionadas a outras vias metabólicas como energética e dos aminoácidos, que não pertencem ao escopo desse trabalho. Dessa forma, observa-se que a metabolômica é uma ciência muito abrangente e que pode variar seus resultados de acordo com a técnica utilizada e o biofluido analisado. Em nosso estudo, utilizamos urina como forma de amostra, encontrando correlações interessantes entre alguns micronutrientes e metabólitos ligados ao estresse oxidativo como piruvato e ácido malônico. Apesar da vantagem ecológica da coleta de urina, por ser menos invasiva e apresentar menor risco de contaminação em ambiente de exercícios físicos, outros biofluidos como o sangue são mais sensíveis à presença de certo tipo de metabólito e conseguem, por vezes, alguns achados mais específicos como a glutatona (marcador antioxidante) supracitada e que não foi encontrada no presente estudo.

Assim, algumas limitações encontradas seriam o tipo de biofluido utilizado e possivelmente o tamanho reduzido da amostra. Além disso, a dieta não padronizada em todas as refeições devido ao fato de que o time em questão, apesar de ser de elite, é um time jovem e que está procurando se estabelecer no cenário competitivo nacional, podem ter impactado na alimentação das atletas e, conseqüentemente, nos resultados de consumo observados.

CONCLUSÃO

Diante do exposto, observa-se que houve correlações entre metabólitos e micronutrientes antioxidantes em ambas as análises (PLS-DA e correlação de Pearson), com destaque para a Vitamina E, os minerais selênio e zinco que se correlacionaram com os principais metabólitos considerados marcadores de estresse oxidativo: ácido malônico e piruvato. Assim, conclui-se que o consumo alimentar de micronutrientes antioxidantes, mesmo não tendo atingido os valores de referência em alguns casos, demonstrou que pode estar relacionado com o comportamento de metabólitos ligados ao estresse oxidativo em atletas de futebol feminino.

REFERÊNCIAS

- ABREU, Rodrigo et al. Portuguese Football Federation consensus statement 2020: nutrition and performance in football. **BMJ Open Sport & Exercise Medicine**, v. 7, n. 3, p. e001082, 2021.
- MARINHO, Alisson Henrique et al. The rating of perceived exertion is able to differentiate the post-matches metabolomic profile of elite U-20 soccer players. **European Journal of Applied Physiology**, v. 122, n. 2, p. 371-382, 2022.
- ALZHARANI, Mansour A. et al. Metabolomics profiling of plasma, urine and saliva after short term training in young professional football players in Saudi Arabia. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 19759, 2020.
- BOWMAN, Caitlyn E.; WOLFGANG, Michael J. Role of the malonyl-CoA synthetase ACSF3 in mitochondrial metabolism. **Advances in biological regulation**, v. 71, p. 34-40, 2019.
- BRADLEY, Paul S. et al. Gender differences in match performance characteristics of soccer players competing in the UEFA Champions League. **Human movement science**, v. 33, p. 159-171, 2014.
- CAO, Ben et al. Changes of differential urinary metabolites after high-intensive training in teenage

football players. **BioMed Research International**, v. 2020, 2020.

DOBROWOLSKI, Hubert; KARCZEMNA, Aleksandra; WŁODAREK, Dariusz. Nutrition for female soccer players—recommendations. **Medicina**, v. 56, n. 1, p. 28, 2020.

DOBROWOLSKI, Hubert; WŁODAREK, Dariusz. Dietary intake of Polish female soccer players. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 7, p. 1134, 2019.

ENEA, C. et al. ¹H NMR-based metabolomics approach for exploring urinary metabolome modifications after acute and chronic physical exercise. **Analytical and bioanalytical chemistry**, v. 396, p. 1167-1176, 2010.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION (FAO), WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO), THE UNITED NATION UNIVERSITY (UNU). **Energy and protein requirements**. Geneva: FAO/WHO/UNU., 1985.

GIBSON, Jennifer C. et al. Nutrition status of junior elite Canadian female soccer athletes. **International journal of sport nutrition and exercise metabolism**, v. 21, n. 6, p. 507-514, 2011.

GRAVINA, Leyre et al. Influence of nutrient intake on antioxidant capacity, muscle damage and white blood cell count in female soccer players. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 9, n. 1, p. 32, 2012.

GUO, Shenghao; ZHANG, Cissy; LE, Anne. The limitless applications of single-cell metabolomics. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 71, p. 115-122, 2021.

HADŽOVIĆ-DŽUVO, Almira et al. Oxidative stress status in elite athletes engaged in different sport disciplines. **Bosnian journal of basic medical sciences**, v. 14, n. 2, p. 56, 2014.

HIGGINS, Madalyn Riley; IZADI, Azimeh; KAVIANI, Mojtaba. Antioxidants and exercise performance: with a focus on vitamin E and C supplementation. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 17, n. 22, p. 8452, 2020.

HEFFERNAN, Shane Michael et al. The role of mineral and trace element supplementation in exercise and athletic performance: a systematic review. **Nutrients**, v. 11, n. 3, p. 696, 2019.

HUDSON, James F. et al. "Fuel for the Damage Induced": Untargeted Metabolomics in Elite Rugby Union Match Play. **Metabolites**, v. 11, n. 8, p. 544, 2021.

KIM, Hyang-Yeon et al. Urinary metabolomics in young soccer players after winter training season. **Metabolites**, v. 12, n. 12, p. 1283, 2022.

IBGE, 2011. Disponível em: <https://biblioteca.ibge.gov.br/vizualizacao/livros/liv50002.pdf>

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Pesquisa de Orçamentos Familiares 2008-2009**: tabela de medidas referidas para os alimentos consumidos no Brasil. Rio de Janeiro.

KOIVISTO, A. E. et al. Antioxidant-rich foods and response to altitude training: A randomized controlled trial in elite endurance athletes. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 28, n. 9, p. 1982-1995, 2018.

MCFADDEN, Bridget A. et al. Comparison of internal and external training loads in male and female collegiate soccer players during practices vs. games. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 34, n. 4, p. 969-974, 2020.

Institute of Medicine (IOM). Dietary Reference Intakes: Applications in Dietary Assessment. Washington: The National Academy Press, 2000. Disponível em:

<https://nap.nationalacademies.org/catalog/9956/dietary-reference-intakesapplications-in-dietary-assessment>

MITCHELL, Stephen C.; ZHANG, Ai Qin. Methylamine in human urine. **Clinica chimica acta**, v. 312, n. 1-2, p. 107-114, 2001.

MOLINA-LÓPEZ, Jorge et al. Association between erythrocyte concentrations of magnesium and zinc in high-performance handball players after dietary magnesium supplementation. **Magnesium Research**, v. 25, n. 2, p. 79-88, 2012.

OSTOJIC, Sergej M. et al. Guanidinoacetate–creatine in secondary progressive multiple sclerosis: a case report. **Journal of International Medical Research**, v. 50, n. 1, p. 03000605211073305, 2022.

PACHECO, M. **Tabela de medidas caseiras e composição química dos alimentos**. 2 ed. Rio de Janeiro: Rubio, 2011.

PECHLIVANIS, Alexandros 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.

PHILLIPPI, S.T. **Tabela de composição de alimentos: suporte para decisão nutricional**. 7 ed. São Paulo: Manole, 2002.

PINTO, Gabriella et al. Relationships between Sex and Adaptation to Physical Exercise in Young Athletes: A Pilot Study. In: **Healthcare**. MDPI, 2022. p. 358.

PODEBRAD, Frank et al. Stereodifferentiation of 3-hydroxyisobutyric-and 3-aminoisobutyric acid in human urine by enantioselective multidimensional capillary gas chromatography–mass spectrometry. **Clinica chimica acta**, v. 292, n. 1-2, p. 93-105, 2000.

ROBLES-PALAZÓN, Francisco Javier et al. Epidemiology of injuries in male and female youth football players: A systematic review and meta-analysis. **Journal of sport and health science**, v. 11, n. 6, p. 681-695, 2022.

RODAS, Gil et al. A targeted metabolic analysis of football players and its association to player load: Comparison between women and men profiles. **Frontiers in Physiology**, p. 2091, 2022.

SUZUKI, Katsuhiko. Recent Progress in Applicability of Exercise Immunology and Inflammation Research to Sports Nutrition. **Nutrients**, v. 13, n. 12, p. 4299, 2021.

TESSIER, FRANCK et al. Selenium and training effects on the glutathione system and aerobic performance. **Medicine and Science in Sports and Exercise**, v. 27, n. 3, p. 390-396, 1995.

TIPPETT, Katherine S.; ENNS, Cecilia Wilkinson; MOSHFEGH, Alanna J. Food consumption surveys in the US Department of Agriculture. **Nutrition Today**, v. 34, n. 1, p. 33-46, 1999.

TORO-ROMÁN, Víctor et al. Extracellular and Intracellular Concentrations of Molybdenum and Zinc in Soccer Players: Sex Differences. **Biology**, v. 11, n. 12, p. 1710, 2022.

TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS (TBCA). Universidade de São Paulo (USP). Food Research Center (FoRC). Versão 7.1. São Paulo, 2020. Disponível em: <http://www.fcf.usp.br/tbca>.

TABELA BRASILEIRA DE COMPOSIÇÃO DE ALIMENTOS (TACO)/NEPA- UNICAMP- 4. Ed. rev. e ampl. Campinas: NEPA- UNICAMP, 2011

PINHEIRO, A.B.V. et al. **Tabela para avaliação de consumo alimentar em medidas caseiras**. 5ª ed. São Paulo: Atheneu, 2001.

ZHAO, Jingjing et al. Integration of metabolomics and proteomics to reveal the metabolic characteristics of high-intensity interval training. **Analyst**, v. 145, n. 20, p. 6500-6510, 2020.

TABELAS E FIGURAS

Tabela 1. Dados de caracterização antropométrica da amostra

	Idade	Massa corp.(kg)	Estatura (cm)	IMC(kg/m²)	Densid. corp. (g/cm³)	% Gord. corp.
Média	22,6	56,0	162	21,4	1,06	18,8
Mediana	21,5	56,3	162	21,5	1,10	18,9
Desvio-padrão	3,46	5,99	7,64	1,54	0,04	4,70
Mínimo	19,0	45,8	148	19,3	1,00	12,7
Máximo	32,0	69,0	175	23,8	1,10	26,5

Legenda: Massa corp.(kg): massa corporal em quilogramas; IMC: Índice de massa corporal. Densid. Corp(g/cm³): densidade corporal em gramas por centímetros cúbicos; % Gord. Corp: gordura corporal em percentual. Os valores são expressos em média \pm desvio padrão

Tabela 2. Consumo alimentar de energia e macronutrientes.

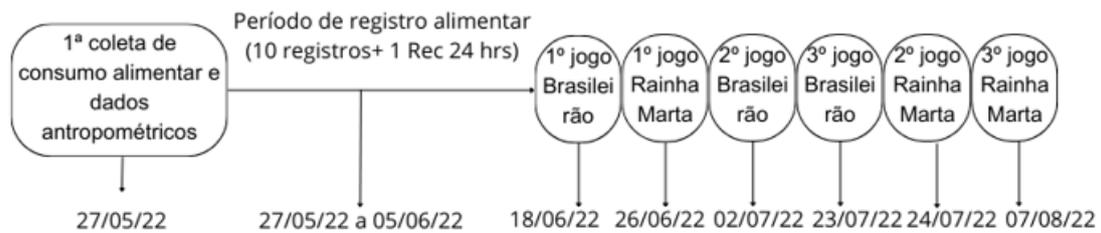
	Energia	TMB	PTN/Kg	% PTN	CHO/Kg	% CHO	LIP/Kg	% LIP	Fibras (g)
Média	1330	1324	0,99	16,2	3,28	56,0	0,75	27,8	13,4
Mediana	1291	1324	0,92	15,9	3,31	55,5	0,74	29,3	13,7
Desvio-padrão	263	81,6	0,35	3,72	0,51	8,55	0,24	5,35	4,55
Mínimo	843	1216	0,46	11,4	2,49	41,9	0,36	18,2	8,61
Máximo	1981	1510	1,49	23,2	4,26	66,7	1,08	35,1	25,2

Legenda: Energia: quilocalorias; TMB: taxa metabólica basal em kcal; PTN/Kg: proteínas por quilo de peso; PTN %: proteínas em percentual; CHO/Kg: carboidratos por quilo de peso; CHO %: carboidratos em percentual; LIP/Kg: lipídeos por quilo de peso; LIP %: lipídeos em percentual.

Tabela 3. Consumo alimentar de micronutrientes antioxidantes

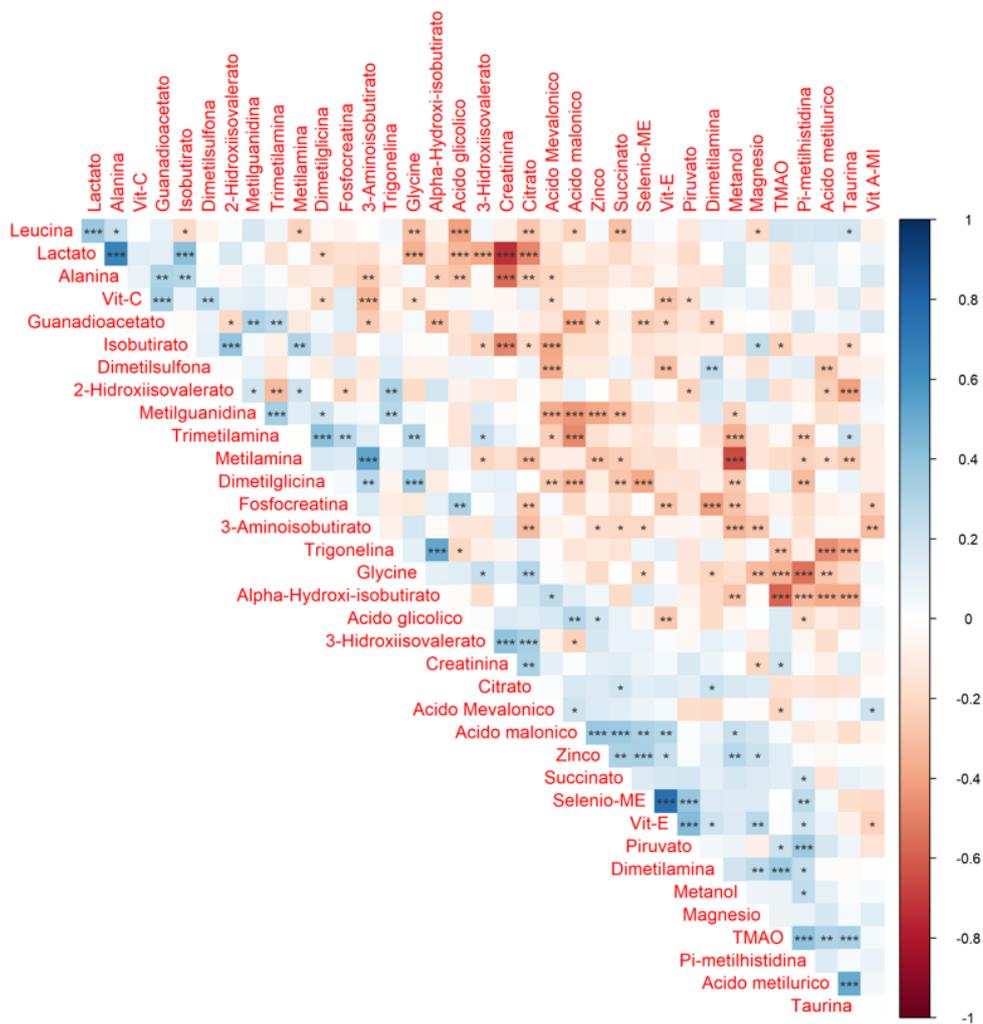
	Vitamina A	Vitamina E	Vitamina C	Zinco	Magnésio	Selênio
Média	513	6,70	312	6,01	140	58,4
Mediana	204	5,87	196	5,53	135	62,9
Desvio-padrão	1066	3,05	342	2,12	27,0	18,8
Mínimo	25,7	2,72	23,3	2,94	90,9	30,2
Máximo	4187	13,6	1134	11,4	194	88,0
EAR	500	12	60	6,8	255	45

Legenda: EAR: Necessidade média estimada, do inglês Estimated Average Requirement.

Figura 1. Desenho experimental do estudo.

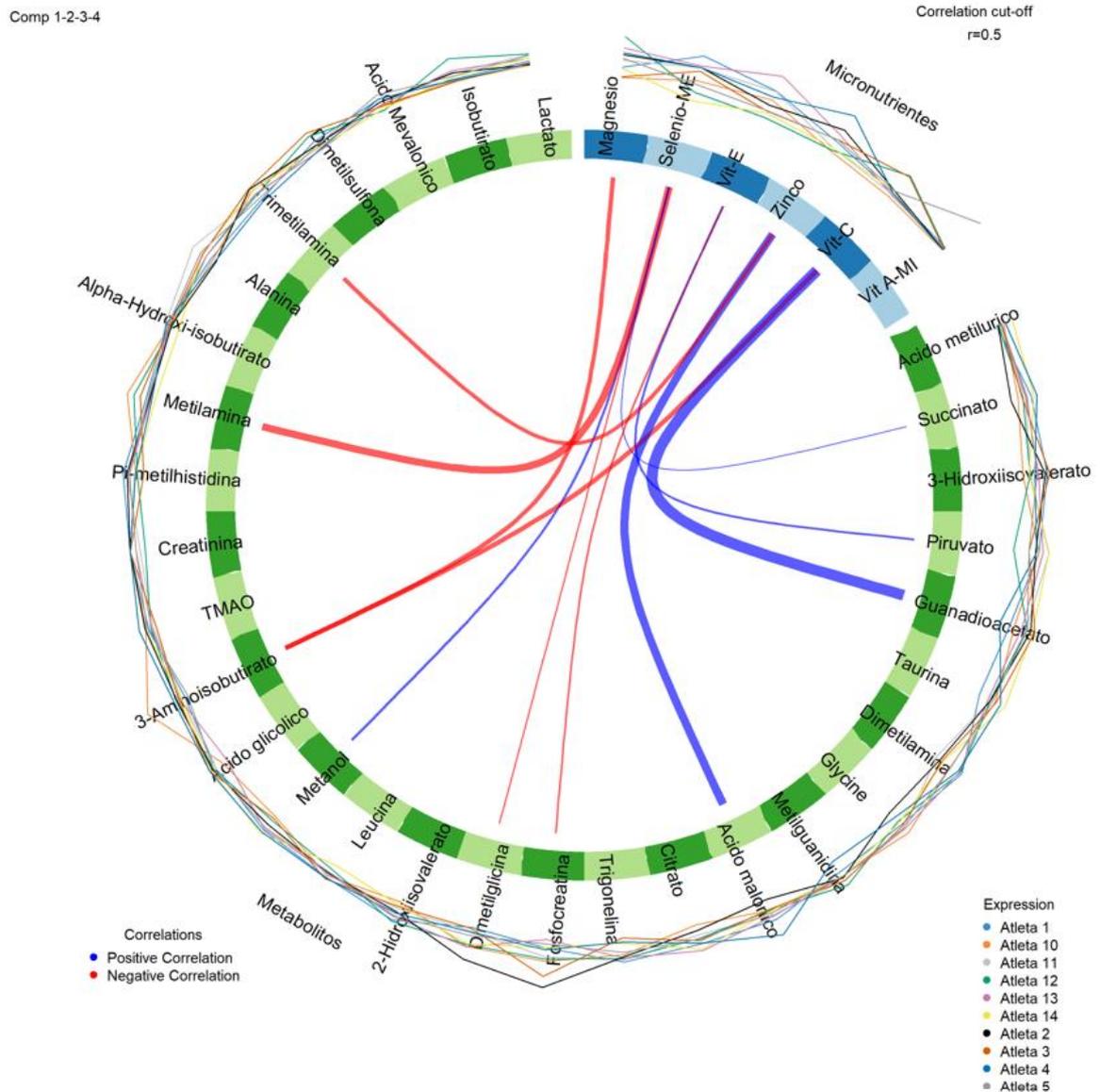
*Nos dias de jogos, as coletas urinárias foram realizadas nos momentos pré-jogo (antes do aquecimento) e pós-jogo imediato.

Figura 2. Gráfico de correlação de Pearson entre 43 metabólitos e micronutrientes



Legenda: A escala de cores representa as correlações positivas (azuis) e negativas (vermelhas) e as significativas são representadas pelos asteriscos: $p < 0,05^*$; $p < 0,01^{**}$ e $p < 0,001^{***}$.

Figura 3. Gráfico Circos Plot correlacionando 43 metabólitos e micronutrientes



Legenda: O ponto de corte foi de 0,5 para as correlações. Correlações positivas são representadas pelas linhas azuis e as negativas por linhas vermelhas. A força das correlações é dada pela espessura das linhas. Quanto maior a espessura das linhas internas do gráfico, mais forte e próxima de 1 é a correlação. As linhas coloridas por fora do círculo representam a expressão média dos metabólitos para cada atleta. Linhas externas com picos maiores mostram uma maior expressão de um dado metabólito numa determinada atleta e linhas mais retilíneas, expressões menores.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A partir das discussões feitas nos artigos da presente dissertação, pode-se considerar que a ciência da metabolômica, além de suas inúmeras atribuições em diversos campos científicos (GOWDA e RAFTERY, 2021), é capaz de avaliar as alterações metabólicas provocadas por diversos esportes, em específico no futebol. Isso pôde ser descrito no artigo 1, onde as separações observadas nos gráficos de OPLS-DA mostram que as atletas se agrupam de maneira diferente ao longo dos jogos, assim como metabólitos específicos são responsáveis por forçar tal separação, estando relacionados principalmente à geração de energia e metabolismo de aminoácidos.

Já no artigo 2, foi possível observar o padrão de consumo alimentar das atletas, com ênfase em seis micronutrientes principais, e de que forma (correlações positivas ou negativas) tais nutrientes se relacionaram com os metabólitos (estando eles envolvidos no processo de estresse oxidativo ou não), demonstrando que a alimentação das atletas pode estar associada ao processo oxidativo, mesmo que o estresse oxidativo não tenha sido avaliado direta e individualmente nesse estudo.

AGRADECIMENTOS E FINANCIAMENTO

Agradecemos a todas as atletas de futebol feminino voluntárias desse projeto e a todos que contribuíram de alguma maneira. O presente estudo é derivado de um projeto universal, realizados com o apoio do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq)- código 408972/2021-1.

5. REFERÊNCIAS

ABREU, Rodrigo et al. Portuguese Football Federation consensus statement 2020: nutrition and performance in football. **BMJ Open Sport & Exercise Medicine**, v. 7, n. 3, p. e001082, 2021.

BARCELOS, Rômulo P. et al. Caffeine effects on systemic metabolism, oxidative-inflammatory pathways, and exercise performance. **Nutrition Research**, v. 80, p. 1-17, 2020.

BRAGAZZI, Nicola Luigi et al. Toward sportomics: Shifting from sport genomics to sport postgenomics and metabolomics specialties. Promises, challenges, and future perspectives. **International Journal of Sports Physiology and Performance**, v. 15, n. 9, p. 1201-1202, 2020.

CANUTO, Gisele AB et al. Metabolomics: definitions, state-of-the-art and representative applications. **Química Nova**, v. 41, p. 75-91, 2018.

CAO, Ben et al. Changes of differential urinary metabolites after high-intensive training in teenage football players. **BioMed Research International**, v. 2020, 2020.

CORREIA, Paulo RM; FERREIRA, Márcia. Non-supervised pattern recognition methods: exploring chemometrical procedures for evaluating analytical data. **Química Nova**, v. 30, p. 481-487, 2007.

CROSSLEY, Kay M. et al. Making football safer for women: a systematic review and meta-analysis of injury prevention programmes in 11 773 female football (soccer) players. **British journal of sports medicine**, v. 54, n. 18, p. 1089-1098, 2020.

DA CRUZ, João Pedro et al. A Metabolomic Approach and Traditional Physical Assessments to Compare U22 Soccer Players According to Their Competitive Level. **Biology**, v. 11, n. 8, p. 1103, 2022.

DOBROWOLSKI, Hubert; KARCZEMNA, Aleksandra; WŁODAREK, Dariusz. Nutrition for female soccer players—recommendations. **Medicina**, v. 56, n. 1, p. 28, 2020.

DOBROWOLSKI, Hubert; WŁODAREK, Dariusz. Dietary intake of Polish female soccer players. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 16, n. 7, p. 1134, 2019.

GRAVINA, Leyre et al. Influence of nutrient intake on antioxidant capacity, muscle damage and white blood cell count in female soccer players. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 9, n. 1, p. 32, 2012.

GUIJAS, Carlos et al. Metabolomics activity screening for identifying metabolites that modulate phenotype. **Nature biotechnology**, v. 36, n. 4, p. 316-320, 2018.

HÄGGLUND, Martin; WALDÉN, Markus. Risk factors for acute knee injury in female youth football. **Knee surgery, sports traumatology, arthroscopy**, v. 24, n. 3, p. 737-746, 2016.

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.

HULTON, Andrew T. et al. Energy requirements and nutritional strategies for male soccer players: A review and suggestions for practice. **Nutrients**, v. 14, n. 3, p. 657, 2022.

JOHNSON, Caroline H.; IVANISEVIC, Julijana; SIUZDAK, Gary. Metabolomics: beyond biomarkers and towards mechanisms. **Nature reviews Molecular cell biology**, v. 17, n. 7, p. 451-459, 2016.

LUTI, Simone et al. Preliminary results indicate that regular training induces high protection against oxidative stress in basketball players compared to soccer. **Scientific Reports**, v. 12, n. 1, p. 18526, 2022.

MARGARITELIS, Nikos V. et al. Antioxidants in personalized nutrition and exercise. **Advances in Nutrition**, v. 9, n. 6, p. 813-823, 2018.

- MAUGHAN, Ronald J.; SHIRREFFS, Susan M. Nutrition and hydration concerns of the female football player. **British Journal of Sports Medicine**, v. 41, n. suppl 1, p. i60-i63, 2007.
- MIELGO-AYUSO, Juan et al. Caffeine supplementation and physical performance, muscle damage and perception of fatigue in soccer players: A systematic review. **Nutrients**, v. 11, n. 2, p. 440, 2019.
- MORVILLE, Thomas et al. Plasma metabolome profiling of resistance exercise and endurance exercise in humans. **Cell reports**, v. 33, n. 13, p. 108554, 2020.
- NAGANA GOWDA, G. A.; RAFTERY, Daniel. NMR-based metabolomics. **Advances in Experimental Medicine and Biology**, p. 19-37, 2021.
- PÉREZ-CASTILLO, Íñigo M. et al. Biomarkers of post-match recovery in semi-professional and professional football (soccer). **Frontiers in Physiology**, v. 14, p. 592, 2023.
- PONCE-GONZALEZ, Jesus Gustavo et al. Antioxidants markers of professional soccer players during the season and their relationship with competitive performance. **Journal of Human Kinetics**, v. 80, n. 1, p. 113-123, 2021.
- POWERS, Scott K. et al. Exercise-induced oxidative stress: Friend or foe?. **Journal of sport and health science**, v. 9, n. 5, p. 415-425, 2020.
- RANDELL, Rebecca K. et al. Physiological characteristics of female soccer players and health and performance considerations: a narrative review. **Sports Medicine**, v. 51, n. 7, p. 1377-1399, 2021
- SCHRIMPE-RUTLEDGE, Alexandra C. et al. Untargeted metabolomics strategies—challenges and emerging directions. **Journal of the American Society for Mass Spectrometry**, v. 27, n. 12, p. 1897-1905, 2016
- STELLINGWERFF, Trent et al. Nutrition and altitude: strategies to enhance adaptation, improve performance and maintain health: a narrative review. **Sports Medicine**, v. 49, p. 169-184, 2019.

APÊNDICE A- Avaliação individual de consumo de vitaminas e minerais antioxidantes

Vitamina A			
Atleta	MI	D/DP(D)	Adequação
1	421.27	-0.19925	70% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
2	154.17	-0.8752	85% de probabilidade concluir corretamente que IAI
3	211.08	-0.69766	85% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
4	138.10	-0.91588	85% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
5	4187.06	9.331	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAA
6	125.49	-0.94779	85% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
7	512.34	0.031229	50% de probabilidade de concluir corretamente que IAI/IAA
8	145.35	-0.89752	85% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
9	196.80	-0.76732	85% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
10	25.70	-1.20033	93% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
11	296.52	-0.49135	70% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
12	339.89	-0.76732	70% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
13	298.57	-0.50977	70% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
14	128.77	-0.93948	85% de probabilidade de concluir corretamente que IAI

MI- Média de Ingestão; D/DP(D): Razão entre a Diferença e o Desvio Padrão da Diferença; IAA: Ingestão Alimentar está Adequada; IAI: Ingestão Alimentar está Inadequada; IAI/IAA- Ingestão Alimentar está Inadequada/Ingestão Alimentar está Adequada

Vitamina E			
Atleta	MI	D/DP(D)	Adequação
1	10.09	-0.99126	85% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
2	6.56	-2.82233	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
3	4.86	-3.59758	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
4	8.61	-1.75935	95% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
5	5.17	-3.54466	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
6	4.45	-3.91832	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
7	4.40	-3.94427	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
8	2.72	-4.81617	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
9	7.29	-2.44441	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
10	7.86	-2.14859	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
11	9.95	-1.03278	93% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
12	3.56	-4.38211	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
13	13.59	0.825184	70% de probabilidade de concluir corretamente que IAA
14	4.62	-3.83057	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAI

MI- Média de Ingestão; D/DP(D): Razão entre a Diferença e o Desvio Padrão da Diferença; IAA: Ingestão Alimentar está Adequada; IAI: Ingestão Alimentar está Inadequada; IAI/IAA- Ingestão Alimentar está Inadequada/Ingestão Alimentar está Adequada

Vitamina C			
Atleta	MI	D/DP(D)	Adequação
1	166.40	4.663911	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAA
2	239.32	7.860347	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAA

3	804.65	31.22022	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAA
4	158.86	4.333404	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAA
5	240.28	7.902348	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAA
6	228.90	7.40352	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAA
7	48.95	-0.48436	70% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
8	53.94	-0.26581	70% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
9	1133.76	47.06692	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAA
10	23.26	-1.61045	85% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
11	137.75	3.259736	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAA
12	799.51	32.41565	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAA
13	107.91	2.100075	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAA
14	225.46	7.252772	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAA

MI- Média de Ingestão; D/DP(D): Razão entre a Diferença e o Desvio Padrão da Diferença; IAA: Ingestão Alimentar está Adequada; IAI: Ingestão Alimentar está Inadequada; IAI/IAA- Ingestão Alimentar está Inadequada/Ingestão Alimentar está Adequada

Zinco			
Atleta	MI	D/DP(D)	Adequação
1	6.05	-0.38807	70% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
2	8.43	0.842932	70% de probabilidade de concluir corretamente que IAA
3	6.43	-0.18258	70% de probabilidade de concluir corretamente que IAI

4	11.42	2.390503	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAA
5	6.41	-0.2018	70% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
6	4.95	-0.95724	85% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
7	5.00	-0.93136	85% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
8	2.94	-1.99726	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
9	7.08	0.144879	50% de probabilidade de concluir corretamente que IAI/IAA
10	4.18	-1.35565	93% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
11	4.75	-1.0171	93% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
12	4.40	-1.24182	93% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
13	7.29	0.253538	50% de probabilidade de concluir corretamente que IAI/IAA
14	4.85	-1.00757	93% de probabilidade de concluir corretamente que IAI

MI- Média de Ingestão; D/DP(D): Razão entre a Diferença e o Desvio Padrão da Diferença; IAA: Ingestão Alimentar está Adequada; IAI: Ingestão Alimentar está Inadequada; IAI/IAA- Ingestão Alimentar está Inadequada/Ingestão Alimentar está Adequada

Magnésio			
Atleta	MI	D/DP(D)	Adequação
1	136.43	-3.26031	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
2	160.10	-2.60938	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
3	115.09	-3.75277	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
4	163.72	-2.50992	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
5	153.11	-2.80166	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAI

6	125.10	-3.57195	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
7	120.40	-3.70108	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
8	90.87	-4.51306	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
9	129.33	-3.45553	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
10	116.54	-3.80722	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
11	146.64	-2.9066	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
12	193.81	-1.68243	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
13	172.85	-2.25887	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAI
14	134.55	-3.31207	98% de probabilidade de concluir corretamente que IAI

MI- Média de Ingestão; D/DP(D): Razão entre a Diferença e o Desvio Padrão da Diferença; IAA: Ingestão Alimentar está Adequada; IAI: Ingestão Alimentar está Inadequada; IAI/IAA- Ingestão Alimentar está Inadequada/Ingestão Alimentar está Adequada