

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

**PERFIL METABOLÔMICO DE MULHERES E HOMENS ATLETAS DE FUTEBOL:
UMA ANÁLISE DESCRITIVA
CLARA ELLEN LOUREIRO BRANDÃO FAGUNDES**

**MACEIÓ
2025**

CLARA ELLEN LOUREIRO BRANDÃO FAGUNDES

**PERFIL METABOLÔMICO DE MULHERES E HOMENS ATLETAS DE FUTEBOL:
UMA ANÁLISE DESCRITIVA**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Alagoas como requisito parcial para qualificação da dissertação.

Orientador: **Prof. Dr. Filipe Antônio de Barros Sousa**
Coorientadora: **Profa. Dra. Natália de Almeida Rodrigues**
Instituto de Educação Física e Esporte - IEFE
Universidade Federal de Alagoas - UFAL

**MACEIÓ
2025**

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

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

F156p Fagundes, Clara Ellen Loureiro Brandão.
Perfil metabólico de mulheres e homens atletas de futebol : uma análise
descritiva / Clara Ellen Loureiro Brandão Fagundes. – 2025.
65 f. : il.

Orientador: Filipe Antônio de Barros Sousa.

Co-orientadora: Natália de Almeida Rodrigues.

Dissertação (mestrado em ciências da saúde) – Universidade Federal de
Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Programa de Pós-
Graduação em Ciências da Saúde. Maceió, 2025.

Bibliografia: f. 55-65.

1. Futebol Feminino. 2. Mulheres atletas. 3. Perfil metabólico. 4.
Metabólica. I. Título.

CDU: 61:796.332

Folha de Aprovação

CLARA ELLEN LOUREIRO BRANDÃO FAGUNDES

PERFIL METABOLÔMICO DE MULHERES E HOMENS ATLETAS DE FUTEBOL: UMA ANÁLISE DESCRITIVA

Dissertação submetida ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Alagoas e aprovada em 22 de abril de 2025.

Documento assinado digitalmente
 FILIPE ANTONIO DE BARROS SOUSA
Data: 23/04/2025 17:27:17-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Filipe Antônio de Barros Sousa – PPGCS/ UFAL
Orientador

Profa. Dra. Natália de Almeida Rodrigues – PAPGCM/UFAL
Coorientadora

Banca Examinadora:

Documento assinado digitalmente
 ENAIAINE CRISTINA MENEZES
Data: 24/04/2025 18:02:41-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Profa. Dra. Enaiane Cristina Menezes – PAPGCM/UFAL
Examinador Externo

 Documento assinado digitalmente
GUSTAVO GOMES DE ARAUJO
Data: 29/04/2025 08:42:12-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Prof. Dr. Gustavo Gomes de Araújo – PPGCS/ UFAL
Examinador Interno

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus, que tem sido meu guia e fonte de força ao longo dessa jornada de dois anos de mestrado. Sua presença constante me proporcionou a coragem e a perseverança necessárias para superar os desafios e concluir essa etapa de maneira satisfatória.

Aos meus professores, meu sincero agradecimento. Em especial, ao meu orientador, Filipe Sousa, que se mostrou sempre solícito, compreensivo e paciente durante todo esse período. Sua orientação não foi apenas técnica, mas também humana, sempre atento às minhas dúvidas e dificuldades, e me proporcionando o apoio necessário para o desenvolvimento do meu trabalho. À minha co-orientadora, Natália Rodrigues, sou profundamente grata pela contribuição essencial e pelas valiosas ideias que sempre trouxe. Sua disposição em buscar soluções para os obstáculos que surgiram ao longo do caminho foi fundamental para a conclusão deste trabalho.

Agradeço também à minha colega e amiga, Suevellyn, que foi uma grande parceira neste processo. Juntas, enfrentamos os desafios do mundo da metabolômica e conseguimos nos apoiar mutuamente ao longo desses dois anos. Sua colaboração e amizade foram pilares essenciais para que eu pudesse avançar e concluir esta jornada.

Meu reconhecimento também vai para Alexandre e Edmilson, cuja colaboração na área metabólica foi imprescindível para o desenvolvimento desta pesquisa. Sua disponibilidade e expertise foram de grande valia, e sou grata por toda a troca de conhecimentos.

Finalmente, gostaria de expressar minha profunda gratidão à minha família, que foi meu maior suporte durante esse processo. Agradeço imensamente ao meu marido e minhas filhas, que, mesmo tão pequenas, souberam compreender o impacto do meu mestrado em nosso dia a dia e sempre me apoiaram com amor e paciência. Aos meus pais, que sempre estiveram ao meu lado, ofereço minha eterna gratidão. Sua dedicação, amor e ensinamentos me moldaram e me impulsionaram a seguir em frente, mesmo nos momentos mais desafiadores. O apoio incondicional de vocês foi fundamental para que eu pudesse chegar até aqui.

A todos que estiveram ao meu lado, minha eterna gratidão.

RESUMO

FAGUNDES, C. E. L. B. **Perfil metabolômico de mulheres e homens atletas de futebol: uma análise descritiva**. 64 f Dissertação (Mestrado em Ciências da Saúde) – Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde, Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde, Universidade Federal de Alagoas, Maceió, 2025.

Atletas profissionais realizam uma variedade de programas de treinamento para melhorar seu desempenho físico, habilidades técnico-táticas, enquanto buscam proteger sua saúde e bem-estar. O exercício regular induz mudanças generalizadas em todo o corpo em uma rede de sinalização extremamente complexa, e evidências indicam que diferenças genotípicas e fenotípicas relacionadas ao sexo biológico influenciam as adaptações fisiológicas à carga de jogadores de atletas profissionais. Contudo, para agravar a dificuldade de interpretação dos dados nesse tipo de comparação, ainda há uma sub-representação de mulheres em estudos clínicos em esportes com atletas profissionais, incluindo o futebol. O objetivo desse estudo é caracterizar e descrever as diferenças no perfil metabolômico entre mulheres e homens atletas, bem como descrever as alterações do perfil metabolômico relacionadas ao estado pré-jogo de futebol ao longo de uma fase equivalente de campeonato. Para isso, foi realizado um estudo do tipo descritivo observacional longitudinal, com amostra selecionada de maneira não probabilística por conveniência, composta por 49 atletas (18 mulheres e 31 homens). Os atletas foram agrupados por sexo biológico, sendo comparados os seus perfis metabólicos determinados por amostra de urina no momento linha de base (baseline) e antes de cinco partidas previstas para os seus respectivos campeonatos por um período de dois meses, tendo seus perfis metabólicos comparados. Foram encontrados e identificados 39 metabólitos para ambos os sexos biológicos. Os perfis metabolômicos foram comparados utilizando a análise de Projeções Ortogonais para Estruturas Latentes (OPLS-DA) e a análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA). A análise de OPLS-DA demonstrou boa separação dos grupos no momento baseline, tendo os metabólitos metilguanidina, lactato e hipurato atuando como os discriminantes com maiores valores de VIP do grupo feminino, enquanto para o grupo masculino os metabólitos ureia, TMAO, taurina, isobutirato,

metilamina, uracil e dimetilamina apresentando maiores valores de VIP scores. Ao longo da temporada, os cortes longitudinais também se diferenciaram, sendo os maiores responsáveis pela separação entre o grupo masculino e grupo feminino durante todo o período a ureia, isobutirato, dimetilamina, tirosina, TMAO, taurina, 2-hidroxiisobutirato, alanina, 4-hidroxifenilacetico, trans-aconitato, trimetilamina, dimetilsufona e metilguanidina. Ao analisar os perfis metabólicos de atletas masculinos e femininos ao longo de uma temporada de futebol, foi observado que, embora ambos os sexos apresentassem mudanças significativas, as mulheres exibiram uma maior variabilidade no perfil metabólico. Esses metabólitos refletem não apenas as respostas fisiológicas do corpo ao exercício, mas também as interações complexas entre fatores biológicos, como metabolismo energético e regulação hormonal, que são mais pronunciadas no sexo feminino. Nosso estudo mostrou que a maior variabilidade observada nas mulheres sugere que, para otimizar o treinamento e o desempenho, é essencial que os protocolos de treinamento e as estratégias de recuperação sejam personalizados, levando em consideração as diferenças de sexo e as respectivas respostas biológicas aos estímulos de exercício. Esse tipo de análise pode ajudar a refinar as abordagens de treinamento, maximizando o desempenho e minimizando o risco de lesões, destacando a importância de não negligenciar o fator sexo ao projetar programas de treinamento para atletas profissionais.

Palavras-chave: Futebol; Feminino; Mulher atleta; Perfil metabólico; Metabólica.

ABSTRACT

FAGUNDES, C. E. L. B. Metabolomic Profile of Female Soccer Athletes: Sex-Biological Controlled Descriptive Analysis. 64 f Dissertation (Master's in Health Sciences) – Graduate Program in Health Sciences, Institute of Biological and Health Sciences, Federal University of Alagoas, Maceió, 2025.

Professional athletes undergo a variety of training programs to improve their physical performance, technical-tactical skills, while also aiming to protect their health and well-being. Regular exercise induces widespread changes across the body through an extremely complex signaling network, and evidence suggests that genotypic and phenotypic differences related to biological sex influence the physiological adaptations to the load of professional athletes. However, to further complicate the interpretation of data in such comparisons, there is still an underrepresentation of women in clinical sports studies involving professional athletes, including football. The aim of this study is to characterize and describe the differences in the metabolomic profile between female and male athletes, as well as to describe the changes in the metabolomic profile related to the pre-game state in football throughout an equivalent phase of the championship. To achieve this, a descriptive observational longitudinal study was conducted, with a non-probabilistic convenience sample comprising 49 athletes (18 women and 31 men). The athletes were grouped by biological sex, and their metabolomic profiles, determined from urine samples at baseline and before five scheduled matches for their respective championships over a period of two months, were compared. A total of 39 metabolites were found and identified for both biological sexes. The metabolomic profiles were compared using Orthogonal Projection to Latent Structures Discriminant Analysis (OPLS-DA) and Partial Least Squares Discriminant Analysis (PLS-DA). The OPLS-DA analysis showed good separation between the groups at baseline, with metabolites such as methylguanidine, lactate, and hippurate acting as the major discriminants with the highest VIP values for the female group, while for the male group, the metabolites urea, TMAO, taurine, isobutyrate, methylamine, uracil, and dimethylamine exhibited the highest VIP scores. Throughout the season, longitudinal cuts also differentiated, with the most significant factors responsible for separating the male and female groups during the entire period being urea, isobutyrate, dimethylamine, tyrosine,

TMAO, taurine, 2-hydroxyisobutyrate, alanine, 4-hydroxyphenylacetic acid, trans-aconitate, trimethylamine, dimethylsulfone, and methylguanidine. When analyzing the metabolomic profiles of male and female athletes over the course of a football season, it was observed that, although both sexes showed significant changes, women exhibited greater variability in their metabolomic profiles. These metabolites reflect not only the body's physiological responses to exercise but also the complex interactions between biological factors such as energy metabolism and hormonal regulation, which are more pronounced in females. Our study demonstrated that the greater variability observed in women suggests that, to optimize training and performance, it is essential for training protocols and recovery strategies to be personalized, taking into account sex differences and their respective biological responses to exercise stimuli. This type of analysis can help refine training approaches, maximizing performance and minimizing the risk of injury, highlighting the importance of not neglecting the sex factor when designing training programs for professional athletes.

Keywords: Soccer; Female; Female athlete; Metabolomic profile; Metabolomics.

SUMÁRIO

	Pág
1. INTRODUÇÃO.....	12
1.2 PROBLEMATIZAÇÃO.....	12
1.2 PROBLEMA.....	15
1.3 HIPÓTESE.....	15
1.4 JUSTIFICATIVA.....	16
1.5 OBJETIVOS.....	18
1.5.1 Objetivo Geral	18
1.5.2 Objetivos Específicos	18
2. REVISÃO DA LITERATURA.....	20
2.1 ASPECTOS SOCIOCULTURAIS DO FUTEBOL FEMININO.....	20
2.2 DEMANDAS DO FUTEBOL FEMININO	23
2.3 FISIOLOGIA COMPARADA - HOMENS VS MULHERES ATLETAS.....	24
2.4 METABOLÔMICA.....	26
3. MATERIAL E MÉTODOS.....	31
3.1 TIPO DE ESTUDO.....	31
3.2 POPULAÇÃO/AMOSTRAGEM.....	31
3.3 ASPECTOS ÉTICOS.....	31
3.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO.....	32
3.5 DESENHO EXPERIMENTAL.....	32
3.6 PROCEDIMENTOS GERAIS.....	32
3.7 COLETA DE DADOS	33
3.8 PROCEDIMENTOS E ANÁLISE DOS DADOS.....	34
3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA.....	34
3.10 ANÁLISE DOS DADOS ESPECTRAIS.....	35

4. RESULTADOS.....	36
4.1 ANÁLISE METABÓLICA ENTRE ATLETAS DO SEXO FEMININO EM COMPARAÇÃO COM ATLETAS DO SEXO MASCULINO NA LINHA DE BASE.....	36
4.2 ANÁLISE COMPARATIVA POR METABÓLITOS ENTRE GRUPOS NA LINHA DE BASE	37
4.3 ANÁLISE DA VARIABILIDADE DO PERFIL METABOLÔMICO AO LONGO DO CAMPEONATO - GRUPO FEMININO.....	39
4.4 ANÁLISE DA VARIABILIDADE DO PERFIL METABOLÔMICO AO LONGO DO CAMPEONATO - GRUPO MASCULINO.....	40
4.5 ANÁLISE METABÓLICA COMPARATIVA ENTRE GRUPOS AO LONGO DA TEMPORADA.....	42
4.6 ANÁLISE COMPARATIVA POR METABÓLITOS ENTRE GRUPOS NOS PRÉ-JOGOS.....	43
5. DISCUSSÃO.....	46
6. CONCLUSÃO.....	53
7. REFERÊNCIAS.....	55

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1 PROBLEMATIZAÇÃO

O futebol é um dos esportes mais populares do mundo, tendo a categoria feminina ganhado espaço nos últimos anos no cenário profissional. No período entre 2000-2006, a Federação Internacional de Futebol (FIFA) estimou que o número de jogadores de futebol profissionais ativos aumentou 9%, passando de 242 para 265 milhões de atletas. Isso representou um ganho de mais de 4 milhões de atletas femininas registradas, passando de 21,9 para 26 milhões atletas mulheres (FIFA, 2007). Em 2014, havia 30,1 milhões capacitando ativamente (FIFA, 2014). Apesar do aumento de praticantes, esses dados tornam claro que a quantidade de mulheres é apenas uma fração no universo de jogadores de futebol. Isso levou a Fifa a estabelecer como meta aumentar o número de mulheres participando do futebol.

O futebol feminino vem apresentando considerável evolução e reconhecimento mundial, mas nem sempre a história foi assim. A prática de futebol feminino foi proibida em vários países, como França, Alemanha e Inglaterra. No Brasil, por exemplo, em 1941 houve a proibição da prática do futebol por mulheres, baseado em discursos que argumentavam que esse esporte ia contra a feminilidade. Essa narrativa estava fundamentada em explicações morais e fisiológicas de caráter pseudocientífico, sustentada por noções eugenistas, que visualizavam o futebol como incompatível com as mulheres, que seriam consideradas “frágeis” e “dóceis”. (BONFIM, 2023). A modalidade era alvo de intenso preconceito, gerando a sua proibição durante a década de 40. Somente em 1981 se tem no Brasil a oficialização da modalidade, e em seguida a sua regulamentação como esporte em 11/04/1983, pelo extinto Conselho Nacional de Desportos (CND). A partir desse fato, a modalidade experimentou um período de intenso crescimento de equipes no país e ao redor do mundo. Em 1991, devido a esse aumento significativo, a FIFA organizou a primeira Copa do Mundo Feminina (TAMASHIRO; GALATTI, 2018).

O futebol feminino representa um desafio às ideias binárias de gênero, refletindo as tensões e os discursos de gênero no Brasil (BONFIM, 2023). Nesse contexto, a prática do futebol por mulheres vai além da competição esportiva, tornando-se uma forma de resistência e expressão das dinâmicas de gênero que ainda permeiam a sociedade. A adaptação ao treinamento esportivo, particularmente

no futebol, envolve um complexo processo de gerenciamento da carga de treinamento. Um componente-chave desse processo é o gerenciamento diário e a manipulação da carga de treinamento externo (como minutos/horas, distâncias de corrida, velocidades de corrida via GPS), frequentemente ajustado com base nas respostas internas do corpo, como a frequência cardíaca e a classificação do esforço percebido. As respostas internas subsequentes, como o bem-estar subjetivo, a produção de força muscular e a recuperação da frequência cardíaca, também desempenham um papel crucial na adaptação e na performance dos atletas, destacando a importância de uma abordagem individualizada e sensível às diferenças biológicas de gênero, que devem ser levadas em consideração para otimizar o desempenho e a saúde das jogadoras de futebol.

Devido ao domínio significativo dos homens neste esporte, o planejamento dessas estratégias de treinamento para mulheres tem sido frequentemente marginalizadas. Entre muitos estudos sobre os aspectos de adaptações fisiológicas de jogadores de futebol, poucos envolveram mulheres. Há poucos estudos clínicos em esporte para jogadoras desta modalidade esportiva. É possível constatar um avanço na compreensão das características de desempenho e jogo do futebol masculino, que não é acompanhado pelo mesmo progresso na quantificação dos atributos físicos, técnicos e táticos de jogadoras mulheres (BRADLEY et al., 2014). Isso acarreta a um cenário onde o treinamento de atletas mulheres de futebol comumente apenas imita os processos de treinamento do futebol masculino. Diante disso, o sexo biológico dos atletas é um fator crítico frequentemente negligenciado a ser considerado.

As demandas físicas derivadas do jogo de futebol impõem um desgaste fisiológico significativo aos atletas, que varia de acordo com suas características individuais. O monitoramento individual das cargas de treinamento tem sido tópico de atenção para um melhor desempenho físico, recuperação e prontidão para o esforço (CASAMICHANA et al., 2013; DJAOUI et al., 2017; WARD et al., 2018). Se é reconhecida a necessidade de atenção à carga individual de treinamento de diferentes atletas, os aspectos fisiológicos exclusivos das mulheres não podem ser ignorados, como por exemplo as variações nos níveis de hormônios femininos durante as diferentes fases do ciclo menstrual (EMMONDS; HEYWARD; JONES, 2019). Esses cuidados individuais específicos podem ser fundamentais para aprimorar o desempenho e preservar a saúde das atletas do sexo feminino. Muitas pesquisas no campo das ciências do esporte foram realizadas em homens

(COSTELLO; BIEUZEN; BLEAKLEY, 2014), e os resultados dessas pesquisas têm sido inadequadamente aplicados às atletas do sexo feminino (EMMONDS; HEYWARD; JONES, 2019).

Uma maneira de se compreender melhor diferenças fisiológicas entre grupos com características distintas é compará-los usando técnicas de Metabolômica. A Metabolômica é uma abordagem biológica sistemática para o estudo de metabólitos no organismo, com foco no metabolismo de pequenas moléculas em organismos biológicos. A pesquisa dos metabólitos pode rastrear marcadores diferenciais e examinar vias e mecanismos metabólicos. Metabólitos são produtos intermediários ou finais do metabolismo em uma amostra biológica (FIEHN, 2002). O conjunto de todos os metabólitos de baixa massa molecular (até 1500 Da), presentes ou alterados em um sistema biológico, é chamado de metaboloma (do inglês, metabolome) (OLIVER et al., 1998). A pesquisa relacionada a metabólitos vem sendo desenvolvida há décadas, porém Nicholson et al. (1999) definiram a metabonomica (do inglês, metabonomics), como sendo a medida quantitativa da resposta metabólica de um sistema biológico após estímulos fisiopatológicos ou modificações genéticas. Já o termo metabolômica (do inglês, metabolomics) foi introduzido FIEHN (2001), como sendo a análise abrangente e quantitativa do metaboloma de um sistema biológico.

Aplicada ao esporte e à ciência do exercício, a metabolômica permite investigar a influência do exercício sobre a fisiologia do atleta, fornecendo informações úteis sobre as vias metabólicas afetadas por exercício físico e sobre possíveis metabólitos a serem utilizados para medir o desempenho físico do indivíduo (PINTUS et al., 2020). Para a seleção de amostras metabólicas, sangue e urina são tipicamente utilizados em testes em humanos devido à conveniência da amostragem (MARTIN-LORENZO et al., 2017; DYKSTRA et al., 2017), sendo possível a análise simultânea de um grande número de metabólitos. A urina é um biofluido que oferece a vantagem de ser amostrado de forma não invasiva (MUKHERJEE et al., 2014; DASKALAKI et al., 2015). Estudos recentes examinando alterações induzidas pelo exercício no perfil metabólico da urina sugerem que o metaboloma urinário também pode fornecer informações valiosas sobre a função fisiológica de todo o corpo (ENEA et al., 2010; PECHLIVANIS et al., 2010).

A esportômica, aplicação da metabolômica no esporte, tem sido utilizada em diferentes estudos, dos quais dois foram realizados em jogadores de futebol

(PRADO et al., 2017; QUINTAS et al., 2020; MARINHO et al., 2022; GOUVEIA et al., 2024).

Considerar os processos adaptativos em jogadoras profissionais de futebol feminino de maneira dissociada das evidências construídas com atletas masculinos, pode aprimorar as estratégias usadas para o treinamento físico e análise da adaptação do metabolismo da mulher atleta. Esse processo passa pela compreensão de como se apresenta a prontidão fisiológica para o jogo de jogadores de futebol de diferentes sexos biológicos. Deste modo a metabolômica pode ter a função de identificar novos bioindicadores e suas vias, ou ainda, de ser aplicada para uma melhor noção de fatores fisiológicos que atuam no desempenho de atletas ao nível molecular.

1.2 PROBLEMA

A ciência do esporte muitas vezes lida com processos de treinamento para atletas de futebol masculino e feminino de maneira intercambiável, como se partissem do mesmo estado de prontidão metabólica. Contudo, as diferenças entre esses atletas podem ter caráter complexo e multifatorial, indo do sexo biológico até os diferentes aspectos de investimento financeiro, de espaço, de comissão técnica e até mesmo de produção científica nas categorias masculina e feminina. Sendo assim, a compreensão do impacto provocado por esse conjunto de fatores pode ajudar a balizar cuidados imediatos individualizados a serem tomados com equipes femininas. Por isso, a compreensão das possíveis diferenças metabólicas apontadas pela Metabolômica pode trazer nova luz à visão de como essas diferenças precisam ser lidadas nos processos de treinamento.

1.3 HIPÓTESE

O estudo irá trabalhar com 2 hipóteses:

1 - Considerando as diferenças levantadas entre homens e mulheres atletas de futebol, e a aplicação promissora da Metabolômica para identificar o estado metabólico de atletas de futebol, a análise metabolômica terá sensibilidade para diferenciar o perfil metabolômico dos atletas mulheres e homens.

2 – Considerando possíveis flutuações oriundas das fases do ciclo menstrual, é esperado que as atletas do sexo feminino apresentem uma maior

variabilidade no seu perfil metabólico ao longo da temporada do que os atletas do sexo masculino.

1.4 JUSTIFICATIVA

É difícil a comparação equivalente entre grupos de atletas masculino e feminino devido ao fato de que as diferenças metabólicas podem ser mediadas não só pelo sexo biológico, como também pelos aspectos fenotípicos das duas modalidades (investimento em material humano, instalações, número de praticantes, etc).

Até o momento existe uma sub-representação de mulheres em estudos clínicos em esportes, incluindo o futebol. As pesquisas disponíveis sobre as demandas do futebol feminino têm se concentrado principalmente em descrever o volume, a intensidade e os padrões de atividade das jogadoras (DATSON et al., 2014).

Estudos indicam que as cargas fisiológicas relativas durante partidas oficiais são semelhantes entre os gêneros, sugerindo que o sistema aeróbico é fortemente sobrecarregado durante as partidas e particularmente durante períodos intensos (BANGSBO, 1994; KRUSTRUP et al., 2010; STOLEN et al. 2005). No entanto, as jogadoras parecem possuir uma menor capacidade física do que os jogadores do sexo masculino em toda uma gama de testes de aptidão aeróbica e anaeróbica (RHODES; MOSHER, 1992; TAMER et al., 1997; MUJICA et al, 2009).

Diferenças em atividades de alta intensidade durante uma partida também são observados por sexo (EKBLUM, 1986; KRUSTRUP et al., 2005), nível de treinamento (KRUSTRUP; BANGSBO, 2001), período de competição (MOHR et al., 2003; RAMPININI et al., 2007), nível de competição, estilo de jogo e fatores ambientais (REILLY, 1996).

Assim, não é surpreendente que os estudos relataram que a alta intensidade as distâncias percorridas em partidas femininas de elite são ~ 30% menor do que seus colegas do sexo masculino de um semelhante nível competitivo e idade (KRUSTRUP et al., 2005; MOHR et al, 2008; ANDERSSON et al, 2010).

A análise do desempenho desportivo permite ao treinador, aos jogadores e a equipe técnica avaliar objetivamente e, assim, melhorar seu desempenho esportivo (KUMAR, 2014). No entanto, há um número limitado de pesquisas atualmente sobre

as diferenças em capacidade entre jogadoras de elite competindo em diferentes níveis de competição.

A desigualdade de sexo e gênero nas pesquisas e projetos tem sido negligenciada, limitando a transferência e aplicabilidade dos avanços científicos à prática para as mulheres. Durante décadas, a maioria das pesquisas científicas e inovações no campo esportivo foi voltada, predominantemente, para o desempenho masculino, com uma compreensão insuficiente das necessidades fisiológicas, psicológicas e sociais das mulheres no esporte. Isso se reflete na falta de estudos que levem em consideração as especificidades do corpo feminino, como as variações hormonais ao longo do ciclo menstrual, a anatomia diferente, a predisposição a certas lesões, e as barreiras socioculturais que podem influenciar a participação e o desempenho das mulheres em várias modalidades esportivas. Considerando as diferenças fisiológicas entre homens e mulheres, além de fatores externos como o processo de treinamento, alimentação e questões sociais que impactam o investimento nas modalidades esportivas, é plausível a hipótese de que as diferenças sejam proeminentes o bastante para que a modalidade tenha atenção específica. Neste contexto, o presente estudo se destaca também pelo expressivo número de partidas analisadas e pelo tamanho amostral robusto, o que representa um avanço metodológico importante diante da escassez de dados disponíveis na literatura sobre o futebol feminino de alto rendimento. Tal conhecimento pode ajudar a desenvolver programas de treinamento potencialmente eficazes que visem resultados fisiológicos específicos ou que promovam a saúde geral para populações-alvo.

A Metabolômica pode ser uma ferramenta para compreender as mudanças em vias metabólicas específicas provocadas pelo processo de treinamento, utilizando-se da urina por ser um biomeio ideal para o estudo de doenças e que está prontamente disponível, é facilmente obtida e menos complexa do que outros fluidos corporais. O uso da Metabolômica poderia trazer informações pertinentes para melhor compreensão do sistema de treinamento que muitas vezes segue uma lógica de caixa preta (BULLOCK et al., 2022; CALVERT et al., 1976), onde é muito bem conhecida a entrada (estímulo de treinamento, alimentação, aspectos ambientais e sociais) e a saída (desempenho), porém menos conhecidos os pormenores fisiológicos do funcionamento biológico que intermediam esse sistema complexo.

Aplicada ao esporte e à ciência do exercício, a metabolômica permite investigar a influência do exercício sobre a fisiologia do atleta, fornecendo

informações úteis sobre as vias metabólicas afetadas por exercício físico e sobre possíveis metabólitos a serem utilizados para medir o desempenho físico do indivíduo e sua capacidade. Essa abordagem decorre do desejo de determinar as demandas metabólicas do jogo de futebol feminino em relação ao masculino.

1.5 OBJETIVOS

1.5.1 Objetivo Geral

Descrever as diferenças no perfil metabolômico entre mulheres e homens atletas, de um ponto de vista transversal e longitudinal, fazendo inferências sobre seus impactos no perfil metabolômico ao longo da temporada.

1.5.2 Objetivos Específicos

Comparar as diferenças metabólicas entre mulheres e homens atletas profissionais no momento baseline.

Descrever a variabilidade metabólica ao longo de uma temporada de jogos de mulheres atletas de futebol.

Descrever a variabilidade metabólica ao longo de uma temporada de jogos de homens atletas de futebol.

Comparar diferenças metabólicas entre mulheres e homens atletas ao longo da temporada esportiva.

REVISÃO DA LITERATURA

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 ASPECTOS SOCIOCULTURAIS DO FUTEBOL FEMININO

A primeira partida internacional de futebol feminino registrada aconteceu em Easter Road, Edimburgo, em 1881, entre os times da Escócia e da Inglaterra. O jogo feminino evoluiu lentamente desde então, embora tenha experimentado um crescimento importante com a Primeira Guerra Mundial, porque a maioria dos homens se juntou ao exército e as mulheres ocuparam seu lugar nas fábricas e também no campo (BURKE, 2005). No Brasil, a primeira partida que ocorreu oficialmente foi em 1921, por mulheres do bairro Tremembé e Cantareira, entretanto a mídia tratou a partida como uma prática “curiosa”, mostrando como a sociedade compreendia o futebol como sendo um esporte bruto e impróprio para mulheres (TAMASHIRO; GALATTI, 2018).

Foi por meio das festas esportivas organizadas por clubes que as mulheres experimentaram as primeiras experiências com o futebol no Brasil, ainda que de maneira desinteressada e não competitiva. Esses momentos figuraram em uma possibilidade de emancipação feminina na vida social. Em 1991 foi realizada a primeira Copa do Mundo internacional feminina da FIFA, enquanto a primeira Copa do Mundo internacional masculina da FIFA já tinha sido realizada há 61 anos atrás no ano de 1930. Tal fato se dá por conta da proibição do futebol feminino por parte de alguns países como França em 1932, Alemanha em 1955, na Inglaterra pela Football Association em 1921 e incluindo nesse rol de países o Brasil que teve sua proibição em 1941 (VOTRE; MOURÃO, 2003).

Com a formulação de diretrizes para o desenvolvimento do esporte a partir da formalização do Decreto-Lei nº 3.199, outorgado por Getúlio Vargas, em 1941, decretava-se a proibição do futebol feminino em solo nacional, por ser incompatível com a “natureza frágil” das mulheres (BONFIM, 2023, p. 111). As mulheres foram impedidas de participar de esportes como futsal, futebol, rugby, polo aquático, lutas e halterofilismo. Esse impedimento durou 38 anos, sendo revogado somente no ano de 1979 (SALVINI; MARCHI, 2016).

Mesmo com a revogação da lei que proibia as mulheres de jogarem futebol na década de 70 dando início a uma jornada nova para a modalidade entre as mulheres, o fim da proibição, não fez mudanças significativas. O futebol feminino não começou a receber estímulos de federações e clubes. Além de não ter sido

regulamentado e continuar tendo proibições pelo país (MOREL; SALLEA, 2006). Apenas em 1983 com a regulamentação, permitiram que se pudesse competir, usar estádios, criar calendários, ensinar nas escolas. Clubes como Saad e Radar tiveram surgimento pioneiros no profissionalismo, e tornaram-se os times competitivos da época (SALVANI; MARCHI, 2016).

A presença das mulheres no universo esportivo brasileiro tem se demonstrado, ao longo da história, um processo cerceado de controvérsias e dilemas. Um indício disso se deu já nas primeiras décadas do século XX, quando algumas modalidades esportivas eram indicadas às mulheres pelos benefícios à saúde, à maternidade ou por reforçarem atributos "feminis", enquanto outras eram proibidas por esbarrarem nas prerrogativas higienistas e eugenistas que então se instauravam no país (SALVINI; MARCHI JÚNIOR, 2015). Prevalecendo a ideia de renovação populacional, o corpo feminino acabou assumindo, sobretudo, o papel de reproduzir e gerar filhos fortes e saudáveis que defenderiam a então nação emergente.

Por representações estigmatizantes no contexto do futebol feminino brasileiro entendesse que os mesmos se constroem pela ausência de caracteres socialmente aceitos e entendidos como de feminilidade nessa prática (tais como: graciosidade, ações delicadas, cuidados de beleza etc.). Esse fator, por sua vez, promove em indivíduos desinformados, preconceitos de cunho sexista frente às mulheres que praticam esse esporte, de modo que as atletas jogadoras de futebol, somente pelo fato de praticarem essa modalidade passam a ser automaticamente caracterizadas como desacreditáveis do seu papel feminino (GOFFMAN, 1988).

Uma representação é "socializada", moldada e modificada para se ajustar à compreensão e às expectativas da sociedade em que é apresentada. Aplicando-se essa visão ao futebol feminino brasileiro com respaldo nos próprios relatos das atletas evocados, é possível então dizer que essa representação construída e moldada sob os preceitos das expectativas sociais, se pauta, sobretudo, na exposição de atributos de feminilidade fomentados em diferentes espaços sociais que não o esportivo - espaço que, por muitos anos, foi território exclusivo do público masculino. Ao mesmo tempo, essas expectativas sociais também incidem no ocultamento de possíveis nuances de masculinização das jogadoras, visando, dessa maneira, diminuir ou evitar que se contemporize o estigma de que a mulher brasileira que joga futebol é isenta de atributos de feminilidade (GOFFMAN, 2011). No Brasil, especificamente, a trajetória que o futebol feminino percorreu apresenta

aspectos que se diferenciam do futebol masculino. Por exemplo, a experiência nacional do futebol feminino é marcada por inúmeras complicações e restrições em face do contexto social da mulher esportista no país e pela construção estabelecida de que o futebol é o esporte nacional masculino (MORAES, PEREIRA e ANTUNES, 2017).

A noção de preconceito nesse esporte é uma temática recorrente (TEIXEIRA, 2013) que abrange desde preconceitos com relação ao gênero, que por sua vez, questionam a sexualidade das atletas (DARIDO, 2002; GOELLNER, 2005; KNIJNIK, 2006), como com relação a pouca visibilidade midiática (MOURÃO; MOREL, 2005; SOUZA; KNIJNIK, 2007; MARTINS; MORAES, 2007) também à falta de incentivo financeiro e de campeonatos (SALVINI, 2012; FRANZINI, 2005). No entanto, outra noção que acompanha as reflexões acerca do futebol feminino é a noção de resiliência (BORGES; LOPES; ALVES, 2007), ou mesmo, de força de vontade para se manterem na prática mesmo com tantos fatores contrários.

A mudança de atenção dada ao futebol feminino passa pela necessidade de que haja consumo (SALVINI; MARCHI, 2016). Para que exista o consumo, deve haver inicialmente algum tipo de oferta, seja de produtos, de equipes, de campeonatos, ou de modo abrangente, de incentivo. E, concomitantemente à oferta, deve haver demanda. No entanto, para que seja criada uma demanda que venha a consumir essa modalidade, as jogadoras são incentivadas (pelos diretores, clubes e também patrocinadores) a se apresentarem de maneira mais próxima à normatividade do gênero feminino, dentro e fora dos gramados. Essa nova roupagem na apresentação das jogadoras se dá no sentido de desmistificar o estereótipo de jogadora de futebol que não cuida da aparência física para além das atribuições do esporte (SALVINI; MARCHI, 2016).

O preconceito, seja de gênero ou pela falta de incentivo, caracteriza-se como violência simbólica, que consiste em uma violência que se exerce com a cumplicidade tácita dos que a sofrem e também, com frequência, dos que a exercem, na medida em que uns e outros são inconscientes de exercê-la ou de sofrê-la (BOURDIEU, 1997). Dessa forma, a necessidade de atrelar a jogadora de futebol aos atributos considerados normativos do gênero feminino, intenta alargar as fronteiras do consumo dessa modalidade, aproximando a jogadora do corpo consumido pela sociedade patriarcal.

Discorrer acerca da história do futebol feminino brasileiro está além de relembrar gols, derrotas, vitórias, lances marcantes e seus protagonistas. É

apresentar a história da resistência, barreiras superadas e descaso. Trazer a memória, como já visto, períodos de proibição, amadorismo e preconceito (SALVINI; MARCHI, 2016).

O esporte é uma atividade física em constante desenvolvimento, construída e determinada conforme uma perspectiva sociocultural, e em franco processo de profissionalização, mercantilização e espetacularização (SALVINI; MARCHI, 2016).

2.2 DEMANDAS DO FUTEBOL FEMININO

O futebol feminino profissional, semi-profissional e comunitário é um dos esportes que mais cresce em todo o mundo (AFL, 2018; MARTÍNEZ-LAGUNAS; NIESSEN; HARTMANN, 2014). O interesse pelo futebol feminino tem crescido exponencialmente nos últimos anos. Em todo o mundo, a FIFA está comprometida em aumentar o número de jogadoras de futebol feminino para 60 milhões até 2026. (FIFA, 2019). Esse objetivo é parte de um esforço contínuo para promover a igualdade de gênero no esporte e dar mais visibilidade e oportunidades para as mulheres no futebol.

Diferentemente do futebol masculino, os incentivos no futebol feminino no Brasil são notavelmente insuficientes, o que impede que o país seja visto como uma referência mundial na modalidade. Enquanto o futebol masculino conta com um sistema estruturado de investimentos, mídia e apoio institucional, o futebol feminino enfrenta sérias dificuldades, como a falta de visibilidade, patrocínios e até mesmo infraestruturas adequadas para o treinamento das atletas. Para que o Brasil se torne uma potência no futebol feminino, é necessário aumentar os investimentos, fomentar o interesse e garantir uma melhor organização da modalidade em todos os níveis, desde as categorias de base até os times profissionais.

Na categoria profissional feminino, assim como no masculino, cabe aos treinadores e equipe de apoio o planejamento da rotina de treinamento, alimentação e descanso, a fim de otimizar seu desempenho. Mas, em contraste com o futebol masculino profissional, e em grande parte devido à explosão da participação feminina, a ciência tem tido dificuldades para acompanhar a demanda por estudos baseados em evidências para informar a prática (OKHOLM KRYGER et al., 2022), à medida que as jogadoras fazem a transição do nível amador para o profissional.

Em qualquer nível do futebol, planos táticos eficazes exigem movimento coordenado dos jogadores ao redor do campo. O desempenho de habilidades

técnicas para completar as principais ações de match complementa esses movimentos. Esses fatores determinam as exigências físicas do futebol. Alguns autores sugerem que as demandas do futebol feminino de elite contemporâneo estão aumentando (BRADLEY et al., 2014, MOHR et al., 2008), mas isso ainda não foi determinado devido à disponibilidade limitada de dados sobre jogadoras competindo no mais alto padrão competitivo do futebol, como a Liga dos Campeões da União das Associações Europeias de Futebol (UEFA).

Embora existam algumas discrepâncias na definição específica de atividade de sprint repetida, a maioria dos artigos usa classificações amplas que incluem várias corridas de alta velocidade e/ou corridas dentro de um determinado período de recuperação, por exemplo (DATSON et al, 2019). Estudos indicam que, em média, as mulheres tendem a ser cerca de 10 a 12% mais lentas do que os homens em uma ampla gama de atividades físicas, incluindo corridas de alta velocidade (MCCLELLAND; WEYAND, 2022). No entanto, é importante notar que essas diferenças podem ser influenciadas por diversos fatores, como treinamento, genética e características individuais.

No futebol, o modo de exercício é intermitente e o desempenho está relacionado à capacidade dos jogadores de realizar séries repetidas de exercícios de alta intensidade intercaladas por períodos de recuperação (MOHR; KRUSTRUP; BANGSBO, 2005; BANGSBO; MOHR; KRUSTRUP, 2006; Bradley et al., 2009); KRUSTRUP et al., 2010).

A distância percorrida em atividades de alta intensidade é geralmente calculada aplicando limiares de velocidade específicos aos movimentos dos jogadores, sendo que corridas de alta intensidade são consideradas aquelas acima de 20 km/h, enquanto corridas moderadas variam entre 14 km/h e 20 km/h. Em seguida, calcula-se a quantidade de atividade que ultrapassa esses limites estabelecidos (MARA et al., 2017).

2.3 FISILOGIA COMPARADA - HOMENS VS MULHERES ATLETAS

O sexo biológico é um determinante primário do desempenho em muitos eventos atléticos e tarefas físicas. Em eventos atléticos e esportes que dependem de resistência, força muscular, velocidade e potência, os homens normalmente superam as mulheres por causa das diferenças sexuais fundamentais ditadas por seus cromossomos sexuais e hormônios sexuais na puberdade, em particular, a

testosterona (HUNTER et al., 2023). Ansdell e colaboradores (2020) em seu estudo defendem que os efeitos do sexo biológico sobre as respostas agudas e crônicas devem ser estudados e considerados na prescrição de exercício aeróbio, assim como qualquer intervenção que vise à otimização da função fisiológica. Completa afirmando que evidências emergentes sugerem que a resposta dos sistemas fisiológicos ao exercício difere entre homens e mulheres, destacando evidências de que os limiares metabólicos integrativos durante o exercício são influenciados por diferenças fenotípicas entre os sexos ao longo de vários sistemas fisiológicos, dando destaque à influência dos hormônios sexuais endógenos e exógenos nas respostas fisiológicas ao exercício em mulheres.

Com relação as diferenças anatômicas de sexo no cérebro, aparecem durante o início da vida, quando os surtos intrauterinos e pós-natais de testosterona masculinizam o cérebro masculino (MCCARTHY, 2016). Sendo a testosterona um fator impulsionador de massa muscular, diferenças de sexo claras existem. O que pode ser demonstrado por atletas masculinos de elite que em média possuem mais massa muscular do que atletas femininas de elite, para qualquer peso corporal (HEALY et al., 2014). Os homens têm aproximadamente o dobro da área de secção transversa do músculo superior do corpo e 30% mais área de secção transversal do músculo inferior do corpo em relação às mulheres (SALE et al, 1983).

As diferenças anatômicas e fisiológicas entre os sexos no corpo humano são impulsionadas pela testosterona, diferenças de sexo as quais podem ser arquitetônicas (permanentes) ou podem ser influenciadas por concentrações de testosterona circulantes em nível adulto (modificáveis). As diferenças sexuais permanentes que afetam o desempenho atlético envolvem o cérebro, estrutura esquelética e sistema cardiorrespiratório. Diferenças modificáveis entre os sexos incluem efeitos da testosterona sobre massa e força muscular e capacidade aeróbica (HEATHER, 2022).

As mulheres atletas são conhecidas por serem menos fortes e potentes do que homens igualmente treinados (BISHOP; CURETON; COLLINS, 1987), a força muscular das mulheres é tipicamente relatada na faixa de 40 a 75% da dos homens (MIYASHITA; KANEHISA, 1979). A massa muscular e a potência dos membros dos homens podem ser duas vezes maiores do que as das mulheres em várias faixas etárias (ALCAZAR et al., 2020; SUNDBERG et al., 2018) com maiores diferenças de massa e força muscular na parte superior do corpo do que na parte inferior do corpo (HUBAL et al., 2005; SENEFELD et al., 2013; BARTOLOMEI et al., 2021). Acredita-

se que as características do músculo esquelético que realiza o exercício influenciam a provisão de energia, a resistência à fadiga e a adaptabilidade a longo prazo ao exercício (WESTERBLAD; BRUTON; KATZ, 2010) portanto, qualquer diferença entre os sexos nessas qualidades fisiológicas poderia influenciar as respostas ao exercício agudo e crônico. Nesse contexto Ansdell e colaboradores (2020) defendem a possibilidade de que programas de treinamento baseados em dados obtidos de participantes do sexo masculino levem as mulheres a receber uma "dosagem" de exercício potencialmente subótima. Além disso, o ciclo menstrual, processo fisiológico feminino contínuo, é caracterizado por flutuações cíclicas nos hormônios sexuais femininos estrogênio e progesterona. Esses hormônios sexuais flutuantes influenciam tanto na reprodução quanto em várias vias fisiológicas, particularmente aquelas relevantes para o exercício (EMMONDS; HEYWARD; JONES, 2019).

Por exemplo, sabe-se que os hormônios estrogênio e progesterona são influentes na modulação da cognição, termorregulação, metabolismo de substratos e inflamação, os quais podem influenciar a capacidade de exercício (AU et al., 2016; CHARKOUDIAN; STACHENFELD, 2014; HACKNEY, 2021; VAN WINGEN et al, 2011).

As flutuações nos hormônios sexuais femininos, como estrogênio, progesterona, hormônio folículo estimulante (FSH) e hormônio luteinizante (LH) caracterizam as subfases de um ciclo menstrual eumenorréico (REED; CARR, 2015). Aproximadamente 67%-91% das atletas de elite do sexo feminino são eumenorréicas (DADGOSTAR et al., 2009; VERRILLI et al.,2018) e cerca de metade das atletas eumenorréicas não utilizam contraceptivos hormonais (MARTIN et al., 2018; LARSEN et al., 2020). Sugerindo desta forma que uma proporção considerável de atletas do sexo feminino pode experimentar flutuações hormonais cíclicas.

2.4 METABOLÔMICA

A metabolômica é uma disciplina voltada para estudar as alterações metabólicas que ocorrem em condições fisiológicas e patológicas (LINDON; NICHOLSON; HOLMES, 2006). Uma técnica poderosa para a descoberta de novos biomarcadores e elucidação de vias bioquímicas para melhorar o diagnóstico, prognóstico e terapia. Em particular, pode fornecer uma imagem do que está acontecendo no nível celular em resposta a fatores como dieta, estilo de vida,

presunções sobre drogas e doenças. Este objetivo é alcançado pela análise de fluidos biológicos, células e tecidos, realizada por um uso combinado de ressonância magnética nuclear (RMN), espectrometria e/ou espectrometria de massa com ferramentas de análise estatística multivariada (VEENSTRA, 2012; DETTMER; ARONOV; HAMMOCK, 2007).

Os metabólitos podem ser produzidos em todos os níveis das células de um organismo, organelas, tecidos, órgãos, fluidos corporais entre outros (LINDON, et al, 2004). Toda atividade fisiológica no corpo tem que ser regulada e influenciada por metabólitos. A metabolômica, definida como "medida quantitativa da resposta metabólica dinâmica multiparamétrica de sistemas vivos a estímulos fisiopatológicos ou modificação genética", permite a avaliação de uma ampla gama de metabólitos endógenos e exógenos com potencial impacto na investigação do estado fisiológico, diagnóstico de doenças, descoberta de biomarcadores e identificação de vias bioquímicas perturbadas (ZHOU et al., 2009; ZHANG et al., 2012). A urina contém vários metabólitos eliminados pelos rins, que são filtrados pelos glomérulos plasmáticos, excretados pelos túbulos renais e secretados pelo sistema urogenital.

Muitos estudos que têm sido realizados recentemente usando metabolômica para monitorar a resistência dos jogadores e projetar adequadamente programas de treinamento (QUINTAS et al, 2020; VIKÉ et al., 2022) relataram que alguns metabólitos na urina, como xantina, ácidos graxos e ácidos biliares primários, poderiam ser usados como biomarcadores para mudanças pré e pós-temporada em atletas de futebol. Além disso, Kim et al. (2016) e Jang et al. (2018) relataram que, quando os atletas sofriam danos no músculo esquelético, os níveis de creatina quinase e mioglobina bem como os de aminoácidos, ácidos orgânicos e açúcares, eram alterados.

O exercício induz mudanças generalizadas em todo o corpo em uma complexa rede de sinalização causada por ou como resposta ao aumento da atividade metabólica dos músculos esqueléticos em contração (HAWLEY et al., 2014). Os resultados até o momento na pesquisa esportiva metabolômica mostraram mudanças induzidas por exercícios de curto e longo prazo nas vias metabólicas, incluindo os metabolismos de aminoácidos e ATP, glicólise, beta-oxidação de ácidos graxos livres e corpos cetônicos e a regulação positiva de diferentes sistemas antioxidantes (FINAUD; LAC; FILAIRE, 2006; GOROSTIAGA et al., 2016; PECHLIVANIS et al., 2015; DUFT et al., 2017). Mudanças nos protocolos de treinamento tiveram impacto em metabólitos relacionados aos metabolismos de

ATP-PCr e lactato, purina, degradação de ácidos graxos e aminoácidos de cadeia ramificada (BCAA), metabolismos do glutamato e ciclo de Krebs, catabolismo de triptofano e fenilalanina, estresse oxidativo e quebra de proteínas musculares (PECHLIVANIS et al., 2010).

Com foco no futebol, mudanças de curto prazo nos perfis metabólicos das respostas de jovens jogadores profissionais do sexo masculino revelaram um aumento significativo pós-exercício nas acilcarnitinas envolvidas na oxidação de ácidos graxos e ligeiros aumentos nos metabólitos das purinas, especialmente hipoxantina e xantina (Alzharani et al., 2020).

Um estudo recente avaliou alterações metabômicas urinárias por RMN em jogadores brasileiros de elite sub-20 em amostras coletadas imediatamente e 20 horas após duas partidas de futebol. Os resultados obtidos mostraram perfil metabólico diferente entre os atletas com maiores e menores valores de PSE. Atletas com valores mais altos de PSE apresentaram um alto perfil de metabólitos relacionados ao dano muscular (por exemplo, creatina, creatinina e glicina) e produção de energia (por exemplo, creatina, formato, piruvato, 1,3 dihidroxiacetona) 20 horas após a partida de futebol (MARINHO et al., 2022). Coletivamente, os resultados indicam que a metabolômica pode detectar alterações ligadas à adaptação fisiológica à carga externa, fornecendo informações sobre fadiga, capacidade física e desempenho potencialmente úteis em esportes competitivos (GOUVEIA et al., 2024).

A influência das diferenças sexuais fenotípicas ao longo de muitos sistemas fisiológicos (por exemplo, sistemas respiratório, circulatório e hormonal, músculo esquelético) nos limiares metabólicos integrativos durante o exercício foi revista (Ansdell et al., 2020), e também é aceito que o sexo está entre as variáveis biológicas mais relevantes que influenciam os perfis metabômicos e lipidômicos (AUDANO et al., 2018).

Por fim, a metabolômica é uma área da biologia de sistemas que vem ganhando força na fisiologia do esporte nos últimos anos. Envolve os produtos a jusante da regulação e expressão gênica, bem como a interação de um sistema biológico com o ambiente, fornecendo um instantâneo dinâmico significativo de seu nível funcional.

MATERIAL E MÉTODOS

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 TIPO DE ESTUDO

Esse estudo é do tipo descritivo observacional transversal/longitudinal, no qual a amostra foi obtida por conveniência (THOMAS, NELSON e SILVERMAN, 2012).

3.2 POPULAÇÃO/AMOSTRAGEM

A amostra foi selecionada de maneira não probabilística por conveniência. O tamanho amostral é composto por 49 atletas dos quais 18 são atletas profissionais do sexo feminino (idade $22,6 \pm 3,46$ anos) que formam um dos times que realizam seus treinos no estádio da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) e competem na categoria adulto, série A2 do campeonato brasileiro. Os demais 31 atletas são jogadores de futebol profissional do sexo masculino (idade $18,91 \pm 0,82$ anos) pertencentes a uma equipe da primeira divisão sub-20 do campeonato brasileiro.

As atletas do sexo feminino foram acompanhadas durante o campeonato “Brasileirão” série A2 que compreendeu três jogos e o campeonato “Rainha Marta” com dois jogos, ao longo de aproximadamente três meses compreendidos entre 27 de maio a 07 de agosto de 2022.

Os atletas do sexo masculino foram acompanhados a partir da 3a. Fase Classificatória do Campeonato Paulista sub 20 de Futebol 2022, o que totalizou 5 jogos ocorridos entre 30 de agosto a 19 de outubro de 2022.

3.3 ASPECTOS ÉTICOS

Antecedendo o início do estudo, todos os atletas foram esclarecidos a respeito dos procedimentos a serem realizados durante o decorrer da pesquisa, assim como a existência de possíveis riscos e benefícios. Ulteriormente assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE).

A parte do estudo realizada com as atletas do sexo feminino 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, o

estudo realizado com os atletas do sexo masculino também faz parte de um projeto universal e igualmente aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) sob o número de CAAE 55909822.5.0000.501, e foi conduzido de acordo com a Declaração de Helsinki.

3.4 CRITÉRIOS DE EXCLUSÃO

Neste estudo foram considerados como critérios de exclusão o fato de ter sido afetado por depressão, conter histórico de lesão musculoesquelética nos últimos 6 meses, apresentar doenças que possam causar interferência nos resultados da pesquisa, fazer uso de drogas e recursos nutricionais ergogênicos.

3.5 DESENHO EXPERIMENTAL

Os atletas foram agrupados por sexo biológico, sendo comparados os seus perfis metabólicos determinados por amostra de urina no momento linha de base (baseline) antes do início das coletas de dados. Na sequência, os grupos fizeram coletas de urina ao longo de dois meses de temporada esportiva, tomando o momento antes de partidas oficiais previstas para os seus respectivos campeonatos por um período de dois meses. Os momentos de pré-jogo foram selecionados nas respectivas temporadas de forma que houvesse uma quantidade de dias compatível para amostras de diferentes sexos biológicos (Figura 1). Os perfis metabólicos da amostra foram comparados com a finalidade de buscar diferenças ao longo do processo de treinamento/recuperação da temporada.

	BASE LINE	JOGO 1	JOGO 2	JOGO 3	JOGO 4	JOGO 5
FEMININO	05/06	18/06	26/06	02/07	23/07	07/08
		13d	8d	6d	21d	15d
MASCULINO	30/08	05/09	11/09	16/09	05/10	19/10
		6d	6d	5d	19d	14d

Figura 1- Representação das datas das coletas ao longo do estudo e o número de dias entre cada coleta de dados.

3.6 PROCEDIMENTOS GERAIS

Para caracterização da amostra, os indivíduos foram submetidos a uma avaliação antropométrica para determinação da composição corporal, por meio de uma balança/estadiômetro com precisão de 100g e 0,5 cm (Welmy®, Santa Bárbara d'Oeste, São Paulo, Brasil) em que foram registrados o peso corporal e a altura. Em seguida o percentual de gordura foi determinado de acordo com o protocolo de Jackson; Pollock, 1978. Para a localização dos pontos anatômicos em que foram medidas as variáveis antropométricas foi utilizado uma fita métrica metálica com extensão de 2m e precisão de 0,1 cm (Sanny®, São Paulo, Brasil). Para a medição das dobras cutâneas foi utilizado um plicômetro com precisão de 0,1 mm (Lange®, Estados Unidos da América).

3.7 COLETA DE DADOS

No período de 15 dias que antecedeu o início das competições, com o intuito de estabelecer a linha de base do perfil metabólico de repouso dos jogadores, foram realizadas coletas de urina de todos os atletas. Para isso, utilizaram-se recipientes de coleta universal esterilizáveis da marca Needs, com capacidade de 25 ml. Foi orientado aos participantes que, nas 48 horas anteriores à coleta, evitassem o consumo de bebidas alcoólicas e a prática de atividades físicas, a fim de minimizar influências externas sobre o perfil metabólico.

Além disso, no dia das partidas, para análise e verificação dos metabólitos, as coletas de urina foram realizadas antes do aquecimento de cada jogo, garantindo que o movimento físico durante a preparação para a partida não interferisse no comportamento do metaboloma. O total de coletas realizadas incluiu 5 partidas para as atletas do sexo feminino e 5 partidas para os atletas do sexo masculino, conforme ilustrado na Figura 1.

Em seguida, as amostras coletadas do grupo de atletas feminino foram levadas em recipiente térmico com gelo para armazenamento no LACAE e posterior análise por Ressonância Nuclear Magnética no Instituto de Química da UFAL. As amostras do grupo de atletas masculino foram imediatamente congeladas a temperatura entre -20° C e -80°C em compartimento apropriado e enviadas por via aérea ao Departamento de Química da Universidade Federal de Alagoas para análise das mesmas.

No Instituto de Química, as amostras foram centrifugadas a 10000 rpm (Hettich Zentrifugen, ROTANTA 460R). Os ensaios de RMN foram conduzidos em um espectrômetro BRUKER 600MHz, tendo os espectros pré-processados conforme Martin e colaboradores (2018) tendo os dados normalizados e transformados em uma matriz de dados. Quanto a identificação dos sinais dos metabólitos se deu por meio de bibliotecas especializadas e dados da literatura.

3.8 PROCESSAMENTO E ANÁLISE DOS DADOS

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 magnética nuclear (BRUKER 600 MHz, AVANCE III) usando uma sonda PABBO de 5 mm com a sequência de pulso: noesygppr1d. As amostras possuíam 1,5 ml retirados e transferidos para tubos eppendorf 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, foram coletados 300 µL do sobrenadante de cada amostra e transferidos para um tubo de RMN de 5mm com adição de 300 µL de solução tampão fosfato 1mM (D₂O, pH= 7,4, TSP = 1mM). A aquisição das amostras durou 20 minutos em um espectrômetro operando a 600MHz para o núcleo de hidrogênio, todas as amostras foram analisadas sob temperatura de 300K. As aquisições dos espectros foram realizadas utilizando um pulso de presaturação para supressão do sinal da água e os seguintes parâmetros de análise: 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 o pulso de presaturação é aplicado); AQ: 5,11 s (tempo de aquisição). Os espectros de cada amostra foram obtidos através do Software TopSpin® 4.0.

3.9 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Em relação à análise multivariada dos dados obtidos da metabolômica, a mesma foi realizada utilizando a análise de Projeções Ortogonais para Estruturas Latentes (OPLS-DA) e a análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-

DA). A fim de remover influências de processos de diluição e variações sistemáticas das amostras, foi aplicada uma normalização pela soma total das intensidades, além de transformação logarítmica dos dados e escalonamento pelo método de Pareto, a fim de aproximar os dados da distribuição normal e reduzir as discrepâncias causadas pela diferença de escala entre os metabolitos. Considerou-se também os valores de Q^2 e $R^2 > 0,5$ para predizer a validação do modelo por permutação ($n=1000$).

3.10 ANÁLISE DOS DADOS ESPECTRAIS

Os espectros foram pré-processados para correção de fase e calibração do deslocamento químico com referência no TSP ($\delta = 0$ ppm). Para identificação dos metabólitos foi utilizado o software Chenomx® e os bancos de dados disponíveis nas plataformas online www.hmdb.ca. e www.smpdb.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) (utilizando o pacote PepsNMR versão 3.17) onde todos os espectros foram sobrepostos e alinhados, por fim os dados foram transportados para o Excel® formando uma matriz de dados para a estatística multivariada contendo aproximadamente 24 mil variáveis, onde as amostras estavam identificadas em linhas e os 39 metabólitos encontrados, em colunas.

4. RESULTADOS

4.1 ANÁLISE METABÓLICA ENTRE ATLETAS DO SEXO FEMININO EM COMPARAÇÃO COM ATLETAS DO SEXO MASCULINO NA LINHA DE BASE.

A análise multivariada supervisionada por OPLS-DA foi aplicada para discriminar e separar os grupos na Figura 2. Os resultados obtidos pelo modelo foram validados por permutação e validação cruzada, obtendo R^2Y de 0.988 e Q^2Y de 0.882, atestando a robustez e capacidade preditiva do modelo. Além disso, as métricas de validação foram testadas quanto a significância do resultado da validação cruzada por meio da permutação dos dados, indicando significância estatística para os resultados obtidos ($p < 0.001$; 1000 permutações).

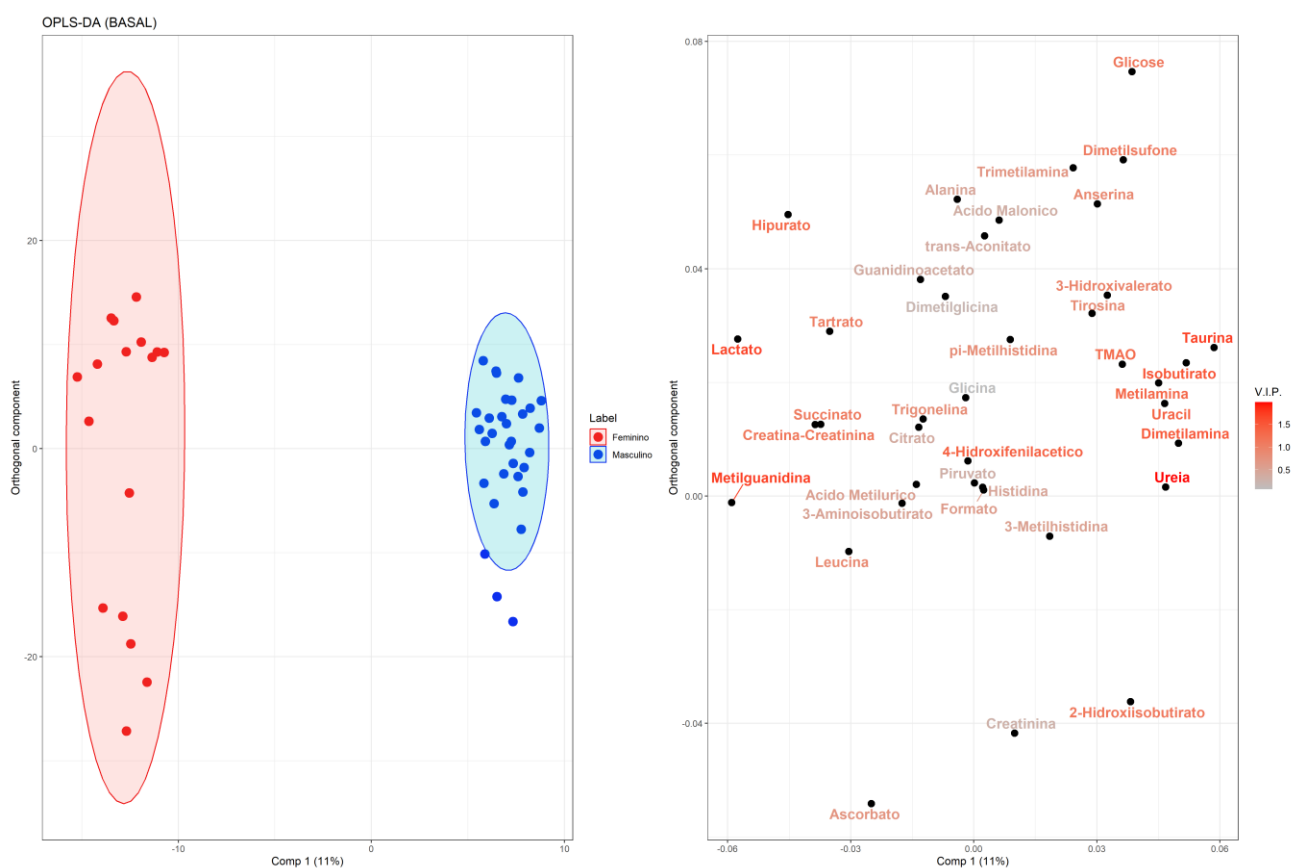


Figura 2- Gráficos de scores e loadings da análise OPLS-DA da linha de base do sexo feminino e sexo masculino. O gradiente de cores aplicados no gráfico de loadings (a direita) destaca em vermelho mais intenso os metabolitos de maior importância para a projeção segundo a métrica de importância da variável na projeção (VIP).

No gráfico de scores, lado esquerdo da Figura, a cor vermelha representa o grupo de atletas feminino e a cor azul representa o grupo de atletas masculino no momento da linha de base, onde cada ponto representa um atleta. Ao observarmos a componente ortogonal (eixo y) percebemos a dispersão de cada grupo entre si.

No *loading*, localizado do lado direito do gráfico, estão os metabólitos encontrados nas amostras. Aqueles que possuem o VIP mais elevado são os que contribuem melhor para a separação dos grupos, representados em uma escala de vermelho mais intensa. Na componente 1, resumindo 11% da variação dos metabólitos, são destacados os marcadores responsáveis pela separação entre os grupos feminino e masculino. Nesse sentido, é possível observar que os metabólitos metilguanidina, lactato e hipurato atuam como os principais discriminantes do grupo feminino, possuindo os valores de VIP mais elevados neste grupo. Por outro lado, os metabólitos ureia, TMAO, taurina, isobutirato, metilamina, uracil e dimetilamina discriminaram principalmente o grupo de atletas masculino, destacando-se com valores de VIP mais elevado entre os marcadores deste grupo.

4.2 ANÁLISE COMPARATIVA POR METABÓLITOS ENTRE GRUPOS NA LINHA DE BASE

Na Figura 3 estão representados a variabilidade entre os grupos em relação aos 39 metabólitos encontrados na análise, onde o grupo de atletas do sexo masculino é representado pela cor azul e o grupo de atletas do sexo feminino é representado pela cor vermelha.

No eixo y nos gráficos de caixa encontram-se descritas as concentrações relativas normalizadas por metabólitos. Ao compararmos as diferenças entre os grupos de atletas foi possível observar que houve significância estatística para os metabólitos 4-hidroxifenilacetico, dimetilamina, hipurato, lactato, isobutirato, succinato, tartrato, taurina, TMAO e ureia.

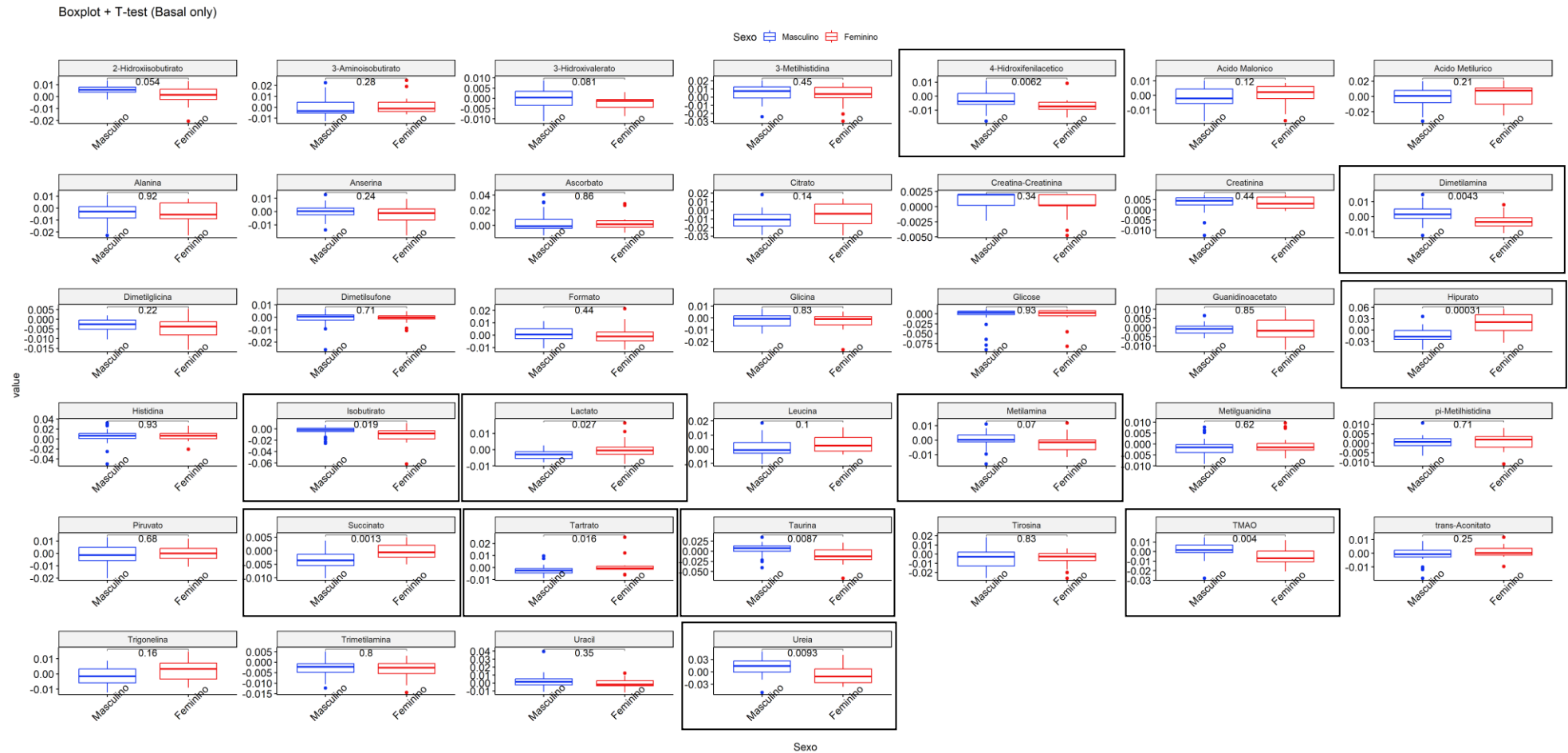


Figura 3_Boxplot mais teste de Wilcoxon por metabólitos da linha de base do sexo feminino e sexo masculino. Os valores acima das caixas representam o valor de p do teste estatístico univariado. Os metabólitos com $p < 0,05$ na análise de Wilcoxon estão destacados usando quadrados pretos.

4.3. ANÁLISE DA VARIABILIDADE DO PERFIL METABOLÔMICO AO LONGO DO CAMPEONATO - GRUPO FEMININO

A análise multivariada supervisionada por PLS-DA foi aplicada para discriminar o comportamento metabólico durante cada momento pré-jogo das atletas de sexo feminino, como representado a Figura 4. No gráfico de scores, lado esquerdo da Figura, os pré-jogos 1, 2, 3, 4 e 5 são representados através das cores vermelha, oliva, verde, azul e lilás, respectivamente - cada ponto representa um atleta conforme a coloração do pré-jogo correspondente.

No *loading*, localizado do lado direito da Figura 4, estão os metabólitos encontrados nas análises das amostras realizados por RMN. Os que possuem o VIP mais elevado são os que contribuem melhor para a separação dos grupos em cada pré-jogo. Na componente 1 e 2, 13% da variação total são responsáveis pela separação que difere os grupos em cada pré-jogo. Creatinina, uracil, leucina, ureia, succinato, glicina, taurina, 3-hidroxivalerato, alanina, dimetilamina, trans-Aconitato, piruvato, tartrato e o lactato foram os metabólitos que possuíram peso maior para diferenciar os grupos em cada pré-jogo na temporada.

Apesar da dispersão dos grupos ser apresentada no gráfico de scores, havendo uma separação entre estes, exibem também momentos de sobreposições as quais mostram pontos de similaridades entre os pré-jogos, não caracterizando uma separação completa.

Basicamente toda elipse do pré-jogo 4, representada pela cor azul, encontra-se sobreposta pela elipse dos demais pré-jogos, havendo sempre pontos de similaridades com pelo menos um destes.

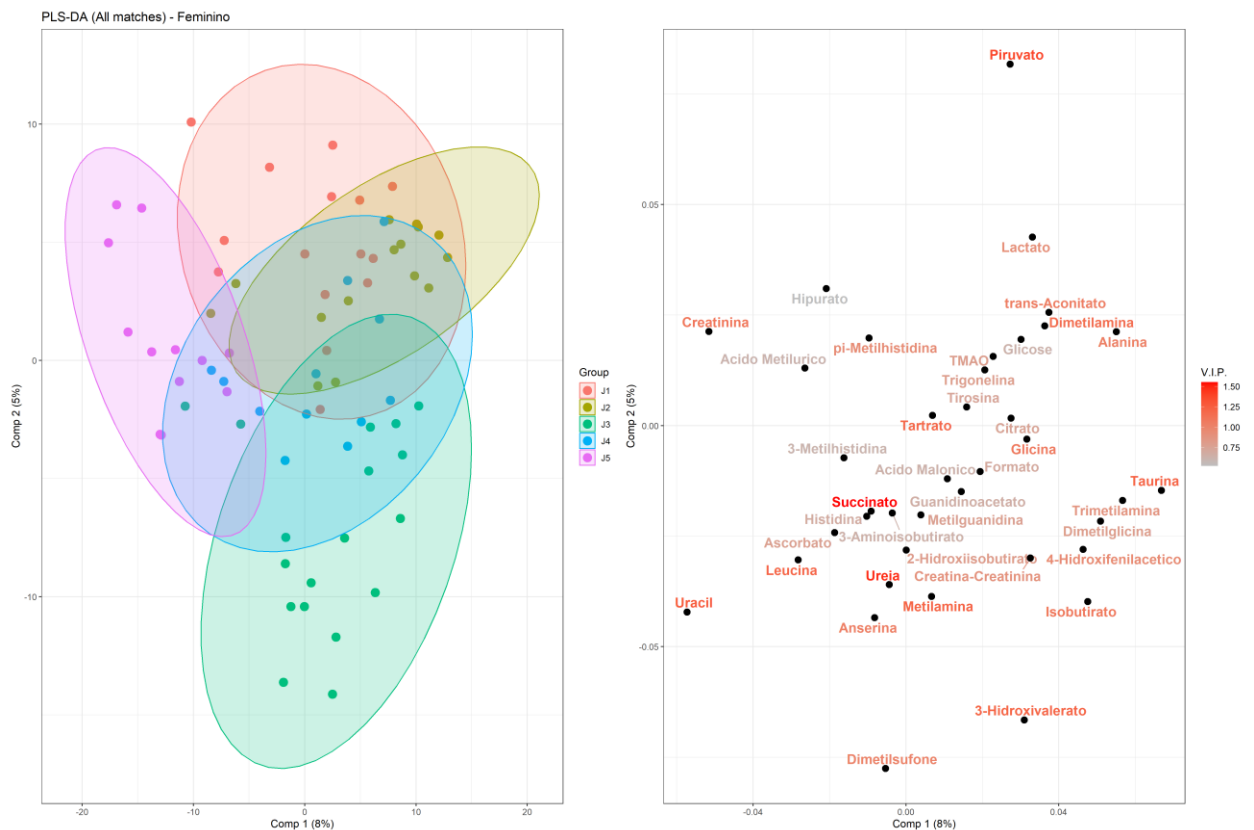


Figura 4- Gráficos de scores e loadings da análise PLS-DA durante os pré-jogos do grupo de atletas feminino. O gradiente de cores aplicados no gráfico de loadings (a direita) destaca em vermelho mais intenso os metabólitos de maior importância para a projeção segundo a métrica de importância da variável na projeção (VIP). O modelo foi validado por permutação e validação cruzada a fim de estimar a validade interna do modelo e sua capacidade preditiva ($R^2Y = 0.452$; $Q^2Y = 0.159$; $p < 0.001$; 1000 permutações).

4.4 ANÁLISE DA VARIABILIDADE DO PERFIL METABOLÔMICO AO LONGO DO CAMPEONATO - GRUPO MASCULINO

A análise multivariada supervisionada do PLS-DA também foi aplicada para discriminar o comportamento metabólico durante cada momento pré-jogo dos atletas de sexo masculino representado na Figura 5. Do lado esquerdo da Figura, no gráfico de scores, os pré-jogos 1, 2, 3, 4 e 5 são representados através das cores vermelha, oliva, verde, azul e lilás, respectivamente - cada ponto representa um atleta conforme a coloração do pré-jogo correspondente. Ao lado, no gráfico de loading, estão os metabólitos encontrados, os que possuíram VIP mais elevado são os que contribuem melhor para a apresentação do grupo de atletas masculino em cada pré-jogo.

Na componente 1 e 2, 15% da variação total são responsáveis pela separação que difere os grupos em cada pré-jogo. Succinato, creatina-creatina, ácido malônico, ureia, creatinina e ascorbato foram os metabólitos que o peso contribuiu de forma mais efetiva para diferenciar o grupo em cada pré-jogo na temporada.

Nos pré-jogos 2 e 5 praticamente não foram apresentadas similaridades entre eles, o mesmo ocorreu com os pré-jogos 2 e 4 e com os pré-jogos 1 e 4. Ao analisarmos todos os pré-jogos juntos, em dado momento sempre há sobreposição de parte das elipses, exibindo assim algum ponto de similaridade de um determinado pré-jogo com outros. O pré-jogo 3 foi o único que apresentou ponto de similaridade com todos os demais.

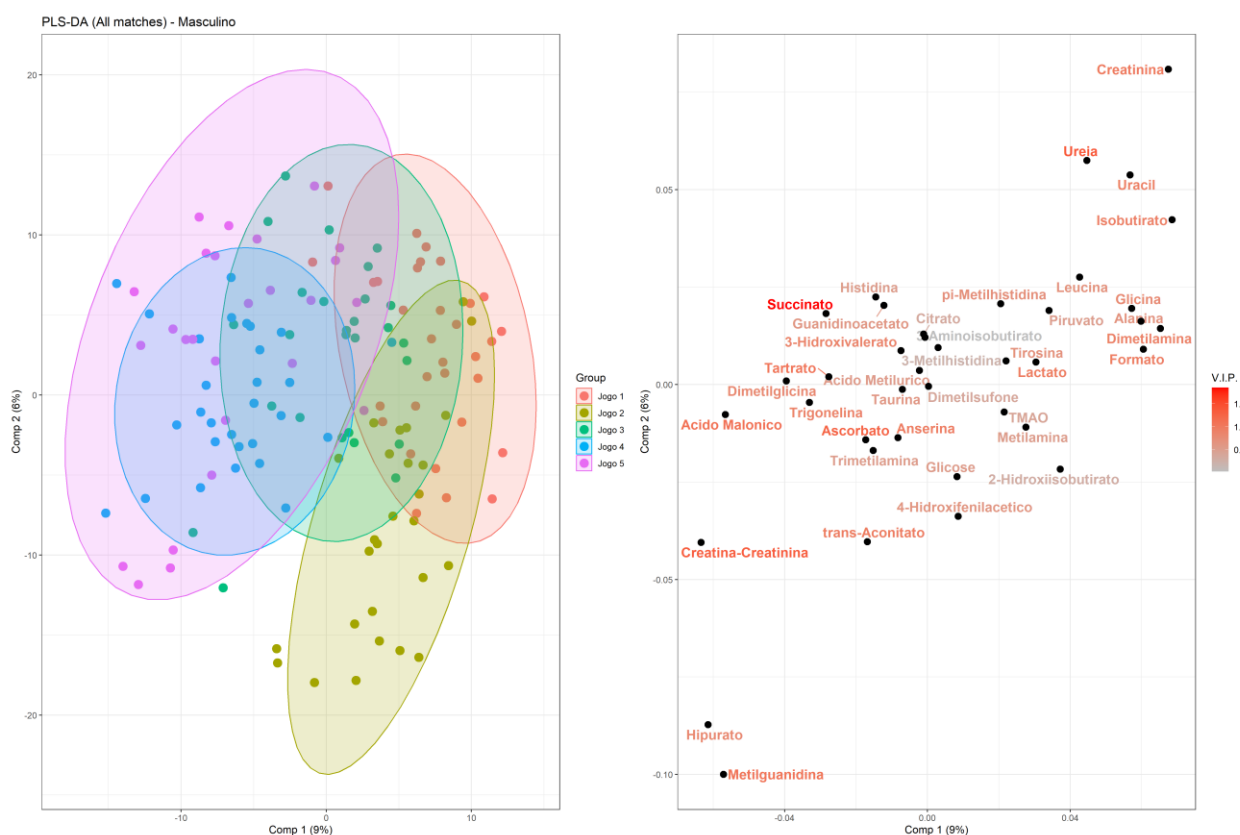


Figura - Gráficos de scores e loadings da análise PLS-DA durante os pré-jogos do grupo de atletas masculino. O gradiente de cores aplicados no gráfico de loadings (a direita) destaca em vermelho mais intenso os metabólitos de maior importância para a projeção segundo a métrica de importância da variável na projeção (VIP). O modelo foi validado por permutação e validação cruzada a fim de estimar a validade interna do modelo e sua capacidade preditiva ($R^2Y = 0.643$; $Q^2Y = 0.342$; $p < 0.001$; 1000 permutações).

4.5 ANÁLISE METABÓLICA COMPARATIVA ENTRE GRUPOS AO LONGO DA TEMPORADA

A análise multivariada supervisionada do OPLS-DA foi aplicada para discriminar e separar os grupos como mostra a Figura 6. No lado esquerdo da Figura, no gráfico de scores, a cor vermelha representa o grupo de atletas feminino e a cor azul representa o grupo de atleta masculino durante os 5 pré-jogos. Ao observarmos a componente ortogonal percebemos a dispersão de cada grupos entre si.

No *loading*, localizado do lado direito da Figura, estão os metabólitos, os que possuem o VIP mais elevado são os que contribuem melhor para a separação dos grupos. Na componente 1, resumindo 8% da variação dos metabólitos, são destacados os marcadores responsáveis pela separação entre os grupos feminino e masculino. Os metabólitos que possuíram mais peso, sendo os maiores responsáveis pela separação do grupo masculino do grupo feminino durante todos os pré-jogos analisado foram a ureia, isobutirato, dimetilamina, tirosina, TMAO, taurina, 2-hidroxiisobutirato, alanina, 4-hidroxifenilacetico, trans-aconitato, trimetilamina, dimetilsufona e metilguanidina.

Assim como observado para o momento baseline, a análise metabólica mostrou sensibilidade em diferenciar o perfil metabolômico a partir do sexo biológico dos atletas durante os pré-jogos ao longo da temporada. Os metabólitos metilguanidina, ureia, TMAO, taurina, isobutirato e dimetilamina foram listados como tendo VIP scores significativos na separação dos grupos masculino e feminino, tanto no momento baseline quanto ao longo da temporada. Outros metabólitos como lactato, hipurato e uracil só apresentaram valores de VIP scores mais elevados no momento baseline.

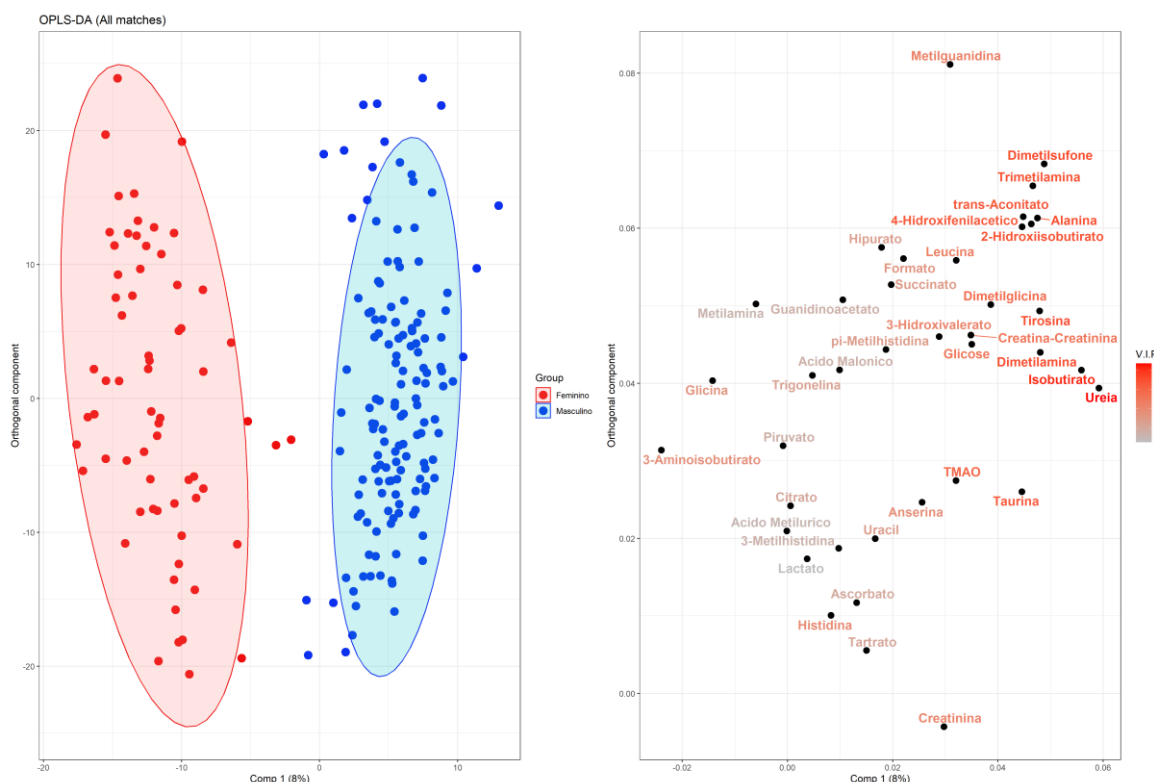


Figura 6- Gráficos de scores e loadings da análise OPLS-DA durante os pré-jogos do grupo de atletas sexo feminino e sexo masculino. O gradiente de cores aplicados no gráfico de loadings (a direita) destaca em vermelho mais intenso os metabólitos de maior importância para a projeção segundo a métrica de importância da variável na projeção (VIP). O modelo foi validado por permutação e validação cruzada a fim de estimar a validade interna do modelo e sua capacidade preditiva ($R^2Y = 0.905$; $Q^2Y = 0.792$; $p < 0.001$; 1000 permutações).

4.6 ANÁLISE COMPARATIVA POR METABÓLITOS ENTRE GRUPOS NOS PRÉ-JOGOS

Na Figura 7 estão representados a variabilidade entre os grupos dos 39 metabólitos encontrados na análise, onde o grupo de atletas do sexo masculino é representado pela cor azul e o grupo de atletas do sexo feminino é representado pela cor vermelha.

Nos gráficos de caixa, em seu eixo y, encontram-se descritas as concentrações relativas normalizadas por metabólitos. Ao compararmos os grupos de atletas foi possível observar que houve significância estatística em alguns metabólitos em determinados pré-jogos.

No pré-jogo 1 os metabólitos 3-hidroxivalerato, creatinina, dimetilglicina, dimeltisufona, trigonelina, tirosina, isobutirato, lactato, TMAO, trimetilamina, taurina e 4-hidroxifenilacetico apresentaram diferenças significativas. No pré-jogo 2, lactato e 4-hidroxifenilacetico apresentaram diferenças significativas. No pré-jogo 3, os metabólitos 2-hidroxiisobutirato, citrato, dimetilamina, glicina, hipurato, histidina, guanidinoacetato, taurina e 4-hidroxifenilacetico apresentaram significância estatística. No pré-jogo 5, os metabólitos metilguanidina, uracil, ureia, taurina e 4-hidroxifenilacetico mostraram diferenças com significância estatística. Diante disso, percebe-se que alguns metabólitos apresentaram diferenças em dois ou mais jogos, sendo eles os metabólitos isobutirato (1 e 4), lactato (1 e 2), TMAO (1 e 4), trimetilamina (1 e 4) e ureia (4 e 5), que apresentaram significância estatística em 2 dos 5 pré-jogos; a taurina mostrou significância estatística em 3 pré-jogos (1, 3 e 5); e o 4-hidroxifenilacetico foi o único metabólito que apresentou significância estatística durante todos os pré-jogos estudados.

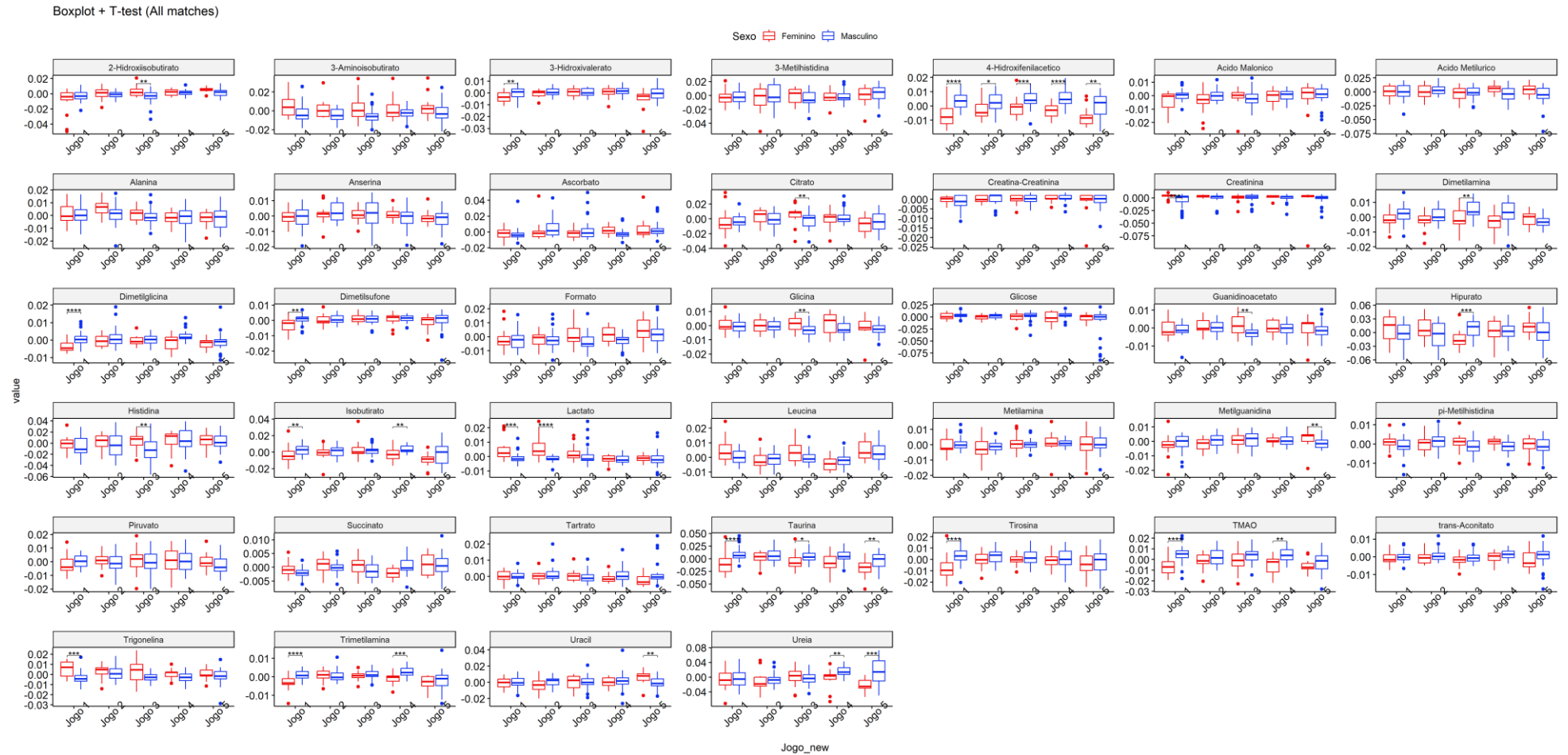


Figura 7- Boxplot mais teste de Wilcoxon por metabólitos. Comparativo durante todos os jogos do grupo de atletas do sexo feminino e sexo masculino. Os valores acima das caixas representam o valor de p do teste estatístico univariado. Os metabólitos com $p < 0,05$ na análise de Wilcoxon estão destacados usando quadrados pretos. * $P < 0,05$. ** $P < 0,01$. *** $P < 0,001$. **** $P < 0,0001$.

5. DISCUSSÃO

Os métodos de Projeção para estruturas latentes (PLS) e projeção ortogonal para estruturas latentes (OPLS) são comumente utilizados para análise estatística multivariada em metabólica (WORLEY; POWERS, 2013). Por questões classificatórias ou de discriminação, esses métodos são denominados de PLS-DA e OPLS-DA, onde DA significa análise discriminante. O monitoramento não direcionado de milhares de moléculas, transcritos ou proteínas de baixo peso permite a caracterização de perfis multivariados envolvendo um grande número de características relacionadas, para descrever uma realidade biológica (BOCCARD; RUTLEDGE, 2013). O presente estudo utilizou a técnica de OPLS-DA para analisar os resultados onde foi notada uma separação clara entre o grupo de atletas feminino e grupo de atletas masculino tanto na linha de base como também na análise comparativa envolvendo ao longo do período de dois meses, a partir da comparação de momentos pré-jogos do grupo feminino versus masculino. A PLS-DA foi aplicada para discriminar e comparar o comportamento metabólico durante os pré-jogos das atletas de sexo feminino e os pré-jogos do masculino distintamente. O estudo de Rodas e colaboradores (2022), que buscou fazer uma análise metabólica direcionada de jogadores de futebol comparando o perfil de atletas mulheres e homens, mostrou diferenças significativas do efeito do treinamento sobre os perfis metabólicos nas equipes analisadas, demonstrando assim que o desenvolvimento de modelos metabólicos de adaptação no grupo alvo pode se beneficiar da análise separada entre equipes ao ser considerado o fator sexo biológico. Estudos anteriores demonstram que a metabolômica é sensível para realizar a diferenciação de sexos biológicos, como foi o caso em Kochhar e colaboradores (2006), que ao estudar perfis de metabólitos da urina e do plasma de 150 humanos saudáveis usando RNM revelaram que, em jovens e/ou indivíduos com baixo índice de massa corporal, as mulheres apresentaram maiores taxas de biossíntese lipídica do que os homens, enquanto os homens apresentaram maiores taxas de turnover proteico do que as mulheres. Nos resultados apresentados aqui, o modelo apresentou diferença entre os sexos biológicos em atletas de futebol. Há uma clara diferenciação entre os jogadores masculinos e femininos já no momento baseline, como demonstrado pela comparação no OPLS-DA. O grupo feminino parece apresentar maior heterogeneidade em relação ao componente ortogonal. Os metabólitos metilguanidina, lactato e hipurato foram identificados como os principais

discriminantes do grupo feminino, enquanto os metabólitos ureia, TMAO, taurina, isobutirato, metilamina, uracil e dimetilamina se destacaram como os principais discriminantes para o grupo masculino.

No gráfico de Boxplot associado ao teste de Wilcoxon, representado na Figura 3, nos mostra que um mesmo metabólito se comportou de maneira diferente no grupo de atletas feminino versus masculino na linha de base, constatamos que os metabólitos 4-hidroxifenilacético, dimetilamina, hipurato, lactato, isobutirato, succinato, tartrato, taurina, TMAO e ureia apresentaram diferenças estatisticamente significativas.

No nosso estudo, a metilguanidina foi um dos metabólitos que possuiu maior peso no grupo feminino na separação do masculino no momento da linha de base. A metilguanidina foi identificada como uma toxina urêmica de acordo com o European Uremic Toxin Working Group (DURANTON et al, 2012). Acumula-se na insuficiência renal, no entanto também exibe efeitos anti-inflamatórios. Evidências recentes sugerem que a metilguanidina pode atenuar o grau de inflamação e dano tecidual associado ao choque endotóxico.

O lactato, é um metabólito comumente estudado na ciência do exercício o qual está dentro de vias celulares para a produção de trifosfato de adenosina como glicólise, foi mais um dos metabólitos que possuiu maior peso no grupo feminino na separação do masculino durante a linha de base neste estudo. O ácido láctico desempenha um papel em vários processos bioquímicos e é produzido nos músculos durante a atividade intensa. O estudo de Ozimek e colaboradores (2022) investigou os efeitos agudos de exercícios de treinamento resistido com amplitude de movimento total e amplitude de movimento parcial sobre a acurácia de chutes em jogadores de futebol, os achados do estudo suportam que os exercícios com amplitude de movimento parcial aumentam significativamente o lactato sanguíneo, resultando em uma redução na precisão do chute de futebol. Essa diminuição na acurácia correlaciona-se diretamente com o acúmulo de ácido láctico e íons hidrogênio (H⁺) e demonstra que o treinamento de força com amplitude de movimento parcial não deve ser utilizado antes de uma sessão esportiva específica para evitar interferência no desenvolvimento de habilidades especiais. Um outro estudo (MCMILLAN et al., 2005) indicou que a avaliação submáxima do lactato sanguíneo de jogadores de futebol pode ser usada como um indicador de mudança nos níveis de desempenho de resistência dos jogadores de futebol durante um período de tempo específico.

Um outro metabólito que se destacou na separação do grupo feminino em relação ao masculino no momento da linha de base foi o hipurato, também denominado de ácido hipúrico. Este também está incluído no rol de metabólito identificado como uma toxina urêmica de acordo com o European Uremic Toxin Working Group (DURANTON et al, 2012). O ácido hipúrico é um componente normal da urina e é tipicamente aumentado com o aumento do consumo de compostos fenólicos (chá, vinho, sucos de frutas).

Ao analisarmos as Figuras 4 e 5, onde a primeira nos mostra a PLS-DA de todos os pré-jogos do feminino e a segunda nos mostra o PLS-DA de todos os pré-jogos da equipe masculina, tanto o succinato como a ureia se destacam nos dois grupos com o vip de peso elevado. O ácido succínico tem múltiplos papéis biológicos, incluindo papéis como intermediário metabólico e papéis como molécula de sinalização celular, pode alterar os padrões de expressão gênica, modulando assim a paisagem epigenética ou pode exibir funções de sinalização semelhantes a hormônios (TRETTER; PATOCS; CHINOPOULOS, 2016). No estudo de Wang e Abdella Kemal (2021), envolvendo atletas de polo aquático, os resultados metabolômicos mostraram que o conteúdo de onze metabólitos, incluindo ácido succínico na urina dos indivíduos, aumentou imediatamente após a competição. Um outro estudo, agora envolvendo jogadores de futebol adolescentes, afirmou que o ácido succínico pode ser um dos metabólitos usado como indicador para a avaliação da fadiga induzida por exercícios (GUO et al., 2020). Na nossa comparação entre os momentos da temporada usando PLS-DA, tanto para o grupo do feminino quanto para o masculino, não apareceram diferenças claras entre os jogos. Os metabólitos que oscilaram ao longo da temporada para um mesmo grupo sugerem flutuações no estado de prontidão para o jogo, porém não foi possível constatar uma diferença sistemática de crescimento ou acúmulo de determinado metabólito ao longo do tempo. Logo, as diferenças profundas que possam vir a aparecer entre os grupos feminino e masculino são menos dependentes da variabilidade entre os jogos e mais influenciadas pelas características específicas de cada grupo. Essas diferenças podem ser atribuídas não apenas ao sexo biológico, mas também a uma série de fatores externos, como o processo de treinamento, as condições alimentares, e os fatores sociais que impactam o investimento nas diferentes modalidades esportivas. Tais fatores sociais podem incluir o acesso a recursos, a priorização de determinadas categorias esportivas e as oportunidades de desenvolvimento

oferecidas a cada grupo, contribuindo assim para a heterogeneidade observada entre os sexos, além das características biológicas.

Assim como no momento baseline, o OPLS-DA comparando os grupos feminino e masculino com todos os momentos da temporada apresentou uma clara diferença entre os grupos. Em nosso estudo, os metabólitos que possuíram o VIP mais elevado no grupo masculino contribuindo na separação deste do grupo feminino estando presente nos resultados tanto na análise da linha de base quando na análise de todos os pré-jogos foram dimetilamina, TMAO, ureia, taurina e isobutirato.

Dimetilamina (DMA) é uma amina orgânica secundária, está abundantemente presente na urina humana. Aumentos estatisticamente significativos no DMA urinário foram encontrados em indivíduos após o consumo de peixes e frutos do mar (MITCHELL; ZHANG; SMITH, 2008). Em um estudo onde compara os metabólitos na urina de jogadores de polo aquático antes e após a competição através da metabolômica baseada em RMN-H, os resultados mostraram que os metabólitos dimetilamina e colina, diminuíram imediatamente de forma extremamente significativa após a competição em relação à uma semana antes da competição (WANG; ABDELLA KEMAL, 2021). Em um estudo realizado por Pintus e colaboradores (2020) com jogadores de futebol profissionais, observou-se que o perfil urinário alterou-se durante o período observacional, variações significativas observadas incluíram os metabólitos N-óxido de trimetilamina (TMAO), dimetilamina e ácido hipúrico, sugerindo que estas modificações podem estar relacionadas à dieta, ao treinamento e à microbiota. TMAO (trimetilamina N-óxido) é um produto da oxidação da trimetilamina e é um metabólito comum em animais e humanos. É um osmolito que o corpo usará para neutralizar os efeitos do aumento das concentrações de ureia e altos níveis podem ser usados como um biomarcador para problemas renais, é um metabólito associado a diversos processos fisiológicos.

A ureia, composto orgânico altamente solúvel formado no fígado, principal produto final do catabolismo proteico, constitui cerca de metade dos sólidos urinários totais. Em um estudo investigador das funções renais, onde sangue e urina de jogadores de futebol foram coletados na pré-temporada e no final da temporada de jogos, mostrou que a excreção urinária de ureia foi reduzida na pré-temporada, já no período pós-temporada a ureia plasmática foi maior (PERES et al., 2022). Um outro estudo com jogadores de futebol na Coreia a ureia se mostrou aumentada um dia

após a temporada de treinamento de inverno e houve redução após se passarem 10 dias de recuperação (KIM et al., 2022).

A taurina é um aminoácido de enxofre como metionina, cistina, cisteína e homocisteína. É um aminoácido menos conhecido porque não é incorporado nos blocos de construção estruturais da proteína, sendo abundante no cérebro, coração, mama, vesícula biliar e rins e possui papéis importantes na saúde e na doença nesses órgãos. Dentre as diversas funções biológicas da taurina inclui-se a de facilitar o transporte de íons como sódio, potássio, cálcio e magnésio. Em um estudo que objetivou comparar perfis metabólicos e padrões de movimento entre diferentes posições de jogadores durante jogos de basquetebol masculino de elite, indicadores específicos do metabolismo aeróbio incluindo a taurina e ácido succínico foram maiores em jogadores de quadra de defesa, enquanto indicadores de metabolismo anaeróbio como o ácido láctico foram maiores em jogadores de quadra (KHORAMIPOUR et al., 2021).

O ácido isobutírico (isobutirato) é um ácido graxo carboxílico ou de cadeia curta. Pequena quantidade de isobutirato é gerada através do metabolismo microbiano (intestino) e também podem ser encontradas em certos alimentos ou bebidas fermentadas, podendo ser excretado através das fezes e urina. Em um estudo realizado OLIVEIRA (2023) foi concluído que o ácido isobutírico foi um dos metabólitos associados com baixa massa muscular esquelética, sugerindo que este pode ser testado como biomarcadores para identificação de perda de massa muscular esquelética.

No boxplot juntamente ao teste de Wilcoxon na Figura 7, onde explana o momento dos 5 pré-jogos do grupo feminino e masculino, também houve comportamentos diferentes de um mesmo metabólito durante as partidas. Esse comportamento não está resumindo apenas ao comparativo relacionando mulheres e homens, envolve também cada grupo de atletas quando os analisamos separadamente no decorrer dos 5 pré-jogos. Os metabólitos isobutirato, lactato, TMAO, trimetilamina e ureia demonstraram significância estatística em 2 dos 5 pré-jogos analisados. A taurina apresentou significância estatística em 3 pré-jogos, enquanto o 4-hidroxifenilacético foi o único metabólito a apresentar significância estatística em todos os pré-jogos estudados.

O isobutirato tem sido estudado em contextos como o metabolismo energético e a recuperação muscular, especialmente em atletas, ele pode ser

modulado por dietas e influenciar a recuperação muscular e o metabolismo energético (FERNANDEZ-SANJURJO, 2024).

No estudo de Affonso (2017) investigou os biomarcadores convencionais e não convencionais em medalhistas olímpicos de vôlei de praia durante as temporadas pré-olímpica e olímpica. O estudo analisou como diferentes biomarcadores, como ureia e lactato, variavam ao longo do treinamento e das competições, com o objetivo de entender melhor o impacto físico e emocional nas performances dos atletas. A pesquisa buscou otimizar estratégias de treinamento e recuperação, fornecendo *insights* sobre a fisiologia e recuperação dos atletas de elite. Indicou que o acompanhamento desses biomarcadores pode ajudar a ajustar estratégias de treinamento, evitar sobrecarga física, e melhorar os processos de recuperação, contribuindo para o desempenho atlético ideal em competições de alto nível.

Um estudo analisou 17 pesquisas com 26.167 pessoas e encontrou que níveis elevados de TMAO (trimetilamina N-óxido) estavam associados a um aumento no risco de mortalidade por todas as causas e eventos cardiovasculares adversos maiores. A cada aumento de 10 $\mu\text{mol/L}$ de TMAO, o risco de mortalidade aumentava 7,6%. Esses resultados se mantiveram consistentes em diferentes subgrupos e populações (SCHIATTARELLA et al., 2017). Em outro estudo, realizados com camundongos, onde investiga o papel do TMAO na melhoria do desempenho do exercício e elucida os mecanismos moleculares subjacentes, os resultados indicaram que o TMAO pode neutralizar o estresse oxidativo induzido pelo exercício, sugerindo seu potencial como suplemento nutricional para atletas (ZOU et al., 2024). A taurina tem propriedades antioxidantes, ajudando a neutralizar os radicais livres gerados durante o exercício intenso. Isso pode ajudar a reduzir o estresse oxidativo no corpo, prevenindo danos celulares e promovendo a recuperação muscular após treinos extenuantes. Ela ajuda a regular o equilíbrio de cálcio nas células musculares, o que pode resultar em uma maior capacidade de contração muscular e resistência.

Segundo o European Uremic Toxin Working Group, o 4-hidroxifenilacético é classificado como uma toxina urêmica. Ele é um metabólito produzido pela microbiota intestinal a partir de aminoácidos aromáticos e tem sido associado a efeitos prejudiciais em pacientes com insuficiência renal crônica (IRC). É um metabólito derivado da degradação de compostos como a quercetina, um flavonoide presente em diversos alimentos sendo conhecida por suas propriedades

antioxidantes e anti-inflamatórias, que podem influenciar o desempenho atlético e a recuperação muscular (GONÇALVES, 2014).

Considerando as flutuações hormonais naturais do ciclo menstrual, as variações metabólicas observadas nos perfis das jogadoras femininas durante os pré-jogos podem refletir não apenas as demandas específicas do exercício, mas também as influências hormonais cíclicas que modulam o metabolismo. Mudanças cíclicas nos níveis de estrogênio e progesterona ao longo do ciclo menstrual estão associadas com flutuações de outros hormônios e seus efeitos fisiológicos. Essas últimas incluem flutuações das catecolaminas, hormônio adrenocorticotrófico, cortisol, hormônio do crescimento, hormônios tireoidianos e opioides endógenos (FERIN, 1984; WARDLAW et al., 1982). A maioria desses hormônios tem seu pico na fase lútea e sua concentração diminui na fase folicular. Todos esses participam na regulação metabólica, no uso de substratos energéticos e na ingestão alimentar, e podem ser considerados parcial ou indiretamente responsáveis pelas diferenças ocorridas nessas variáveis (ABRAHAM, 1983; BANCROFT et al., 1985). Assim, essas flutuações hormonais podem ajudar a explicar a maior heterogeneidade observada no grupo feminino ao longo da temporada, como evidenciado na análise OPLS-DA, onde a dispersão das jogadoras foi mais pronunciada. A metabolômica oferece uma medida quantitativa dos perfis metabólicos associados ao exercício em atletas profissionais, com o objetivo de identificar biomarcadores relacionados ao desempenho, resposta à fadiga e potenciais distúrbios associados ao esporte (YAN et al., 2009). Além disso, permite a detecção de alterações em resposta a diferentes estados fisiológicos, como os momentos pré e pós-exercício, e proporciona a identificação de assinaturas metabólicas com impacto translacional tanto para atletas quanto para o público em geral (HEANEY; DEIGHTON, 2019). No nosso estudo, os grupos já estavam bem caracterizados desde a linha de base, com destaque para uma maior dispersão no grupo feminino. A análise metabólica demonstrou sensibilidade em diferenciar os perfis metabólicos a partir do sexo biológico dos atletas, já nesse momento inicial.

Vale ressaltar que o presente estudo apresenta algumas limitações. Primeiramente, a análise foi realizada sem considerar dados de desempenho dos atletas, o que poderia oferecer uma compreensão mais profunda sobre a relação entre os perfis metabólicos e a performance esportiva. Além disso, a metabolômica aplicada ao futebol feminino ainda é uma área limitada, com poucos estudos investigando especificamente o perfil metabólico das atletas. Para estudos futuros, a

inclusão de dados de desempenho, o uso de outras técnicas analíticas (como espectrometria de massas de alta resolução) e a análise de diferentes biofluidos poderão possibilitar novas descobertas e correlações mais robustas. Em relação à análise comparativa dos grupos masculino e feminino ao longo da temporada, o modelo OPLS-DA apresentou uma clara diferenciação entre eles. No nosso estudo, os metabólitos com maior importância na separação entre os grupos foram dimetilamina, TMAO, ureia, taurina e isobutirato no grupo masculino. Já no grupo feminino, destacaram-se metilguanidina, lactato e hipurato.

6. CONCLUSÃO

A análise de dados metabólicos mostrou diferenças significativas durante a temporada de campeonato sobre os perfis metabólicos nas equipes analisadas. Nossos resultados demonstram que o desenvolvimento de modelos metabólicos de adaptação em jogadores profissionais de futebol pode se beneficiar da análise separada de equipes femininas e masculinas. Tanto antes da temporada (baseline) como ao longo da temporada, o perfil metabólico de atletas do sexo biológico feminino e masculino se mostrou muito diferente. Essas diferenças podem ter origens multifatoriais, como a fisiologia relacionada ao sexo biológico, mas também os investimentos em treinamento, tamanho da população de atletas praticantes da modalidade em cada grupo. Contudo, fica claro que os processos de treinamento para o sexo feminino não podem se resumir a uma réplica daqueles praticados para o sexo masculino, considerando essas diferenças no fenótipo metabólico ao longo de uma temporada. Compostos biológicos no nível de metabólito são de interesse primordial nas ciências do esporte e do exercício. Os resultados suportam o uso da metabolômica para compreender as mudanças em vias metabólicas específicas provocadas pelo processo de treinamento.

Nosso estudo mostrou diferenças significativas nas alterações observadas nas equipes masculina e feminina, que o exercício regular fomenta mudanças de forma global em todo corpo confirmando que as diferenças entre sexos biológicos influenciam as adaptações fisiológicas em atletas profissionais de futebol e que o fator sexo deve sempre ser considerado ao invés de negligenciado.

REFERÊNCIAS

7. REFERÊNCIAS

- ABRAHAM, Guy E. Nutritional factors in the etiology of the premenstrual tension syndromes. **The Journal of reproductive medicine**, v. 28, n. 7, p. 446-464, 1983.
- 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.
- ANDERSSON, Helena Å. et al. Elite female soccer players perform more high-intensity running when playing in international games compared with domestic league games. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 24, n. 4, p. 912-919, 2010.
- 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.
- AU, April et al. Estrogens, inflammation and cognition. **Frontiers in neuroendocrinology**, v. 40, p. 87-100, 2016.
- AUDANO, Matteo et al. Gender-related metabolomics and lipidomics: From experimental animal models to clinical evidence. **Journal of proteomics**, v. 178, p. 82-91, 2018.
- BANCROFT, J.; BÄCKSTRÖM, T. Premenstrual syndrome. **Clinical Endocrinology**, v. 22, n. 3, p. 313-336, 1985.
- BANGSBO, Jens. The physiology of soccer--with special reference to intense intermittent exercise. **Acta physiologica scandinavica. Supplementum**, v. 619, p. 1-155, 1994.
- BANGSBO, Jens; MOHR, Magni; KRUSTRUP, Peter. Physical and metabolic demands of training and match-play in the elite football player. **Journal of sports sciences**, v. 24, n. 07, p. 665-674, 2006.
- BARTOLOMEI, Sandro et al. A comparison between male and female athletes in relative strength and power performances. **Journal of functional morphology and kinesiology**, v. 6, n. 1, p. 17, 2021.
- BISHOP, Phillip; CURETON, Kirk; COLLINS, Mitchell. Sex difference in muscular strength in equally-trained men and women. **Ergonomics**, v. 30, n. 4, p. 675-687, 1987.
- BLAIR, Steven N. et al. Physical fitness and all-cause mortality: a prospective study of healthy men and women. **Jama**, v. 262, n. 17, p. 2395-2401, 1989.
- BOCCARD, Julien; RUTLEDGE, Douglas N. A consensus orthogonal partial least squares discriminant analysis (OPLS-DA) strategy for multiblock Omics data fusion. **Analytica chimica acta**, v. 769, p. 30-39, 2013.

BORGES, Carlos Nazareno Ferreira et al. Resiliência: uma possibilidade de adesão e permanência na prática do futebol feminino. **Movimento**, v. 12, n. 1, p. 105-131, 2006.

BONFIM, Aira Fernandes. Futebol Feminino no Brasil: entre festas, circos e subúrbios, uma história social (1915-1941). São Paulo: Aira Bonfim, 2023)

BOURDIEU, Pierre. Sobre a televisão. **Rio de Janeiro: Jorge Zahar**; 1997.

BRADLEY, Paul S. et al. High-intensity running in English FA Premier League soccer matches. **Journal of sports sciences**, v. 27, n. 2, p. 159-168, 2009.

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.

BROWN, Wendy J. et al. Leisure time physical activity in Australian women: relationship with well being and symptoms. **Research quarterly for exercise and sport**, v. 71, n. 3, p. 206-216, 2000.

BULLOCK, Garrett S. et al. Black box prediction methods in sports medicine deserve a red card for reckless practice: a change of tactics is needed to advance athlete care. **Sports Medicine**, v. 52, n. 8, p. 1729-1735, 2022.

BURKE, Peter. Patriot Games: Women's Football during the First World War in Australia. **Football Studies**, v. 8, n. 2, p. 5-19, 2005.

CALVERT, Thomas W. et al. A systems model of the effects of training on physical performance. **IEEE Transactions on systems, man, and cybernetics**, n. 2, p. 94-102, 1976.

CASAMICHANA, David et al. Relationship between indicators of training load in soccer players. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 27, n. 2, p. 369-374, 2013.

CHARKOUDIAN, Nisha; STACHENFELD, Nina S. Reproductive hormone influences on thermoregulation in women. **Compr Physiol**, v. 4, n. 2, p. 793-804, 2014.

CONN, Vicki S. Anxiety outcomes after physical activity interventions: meta-analysis findings. **Nursing research**, v. 59, n. 3, p. 224, 2010.

COSTELLO, Joseph T.; BIEUZEN, Francois; BLEAKLEY, Chris M. Where are all the female participants in sports and exercise medicine research?. **European journal of sport science**, v. 14, n. 8, p. 847-851, 2014.

DADGOSTAR, Haleh et al. The relation between athletic sports and prevalence of amenorrhea and oligomenorrhea in Iranian female athletes. **BMC Sports Science, Medicine and Rehabilitation**, v. 1, p. 1-7, 2009.

DARIDO SC. Futebol feminino no Brasil: do seu inicio à prática pedagógica. Motriz, 2002.

DASKALAKI, Evangelia et al. A study of the effects of exercise on the urinary metabolome using normalisation to individual metabolic output. **Metabolites**, v. 5, n. 1, p. 119-139, 2015.

DATSON, Naomi et al. Repeated high-speed running in elite female soccer players during international competition. **Science and Medicine in Football**, v. 3, n. 2, p. 150-156, 2019.

DE MOOR, Marleen HM et al. Regular exercise, anxiety, depression and personality: a population-based study. **Preventive medicine**, v. 42, n. 4, p. 273-279, 2006.

DEMPSEY, F. C.; BUTLER, F. L.; WILLIAMS, F. A. No need for a pregnant pause: physical activity may reduce the occurrence of gestational diabetes mellitus and preeclampsia. **Exercise and sport sciences reviews**, v. 33, n. 3, p. 141-149, 2005.

DETTMER, K.; ARONOV, P. A.; HAMMOCK, B. D. Mass Spectrometry-based metabolomics. p. 51–78, 2007.

DJAOUI, Léo et al. Monitoring training load and fatigue in soccer players with physiological markers. **Physiology & behavior**, v. 181, p. 86-94, 2017.

DONNELLY, Joseph E. et al. Appropriate physical activity intervention strategies for weight loss and prevention of weight regain for adults. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 41, n. 2, p. 459-471, 2009.

DUFT, Renata Garbellini et al. Metabolomics and Exercise: possibilities and perspectives. **Motriz: Revista de Educação Física**, v. 23, 2017.

DURANTON, Flore et al. Normal and pathologic concentrations of uremic toxins. **Journal of the American Society of Nephrology**, v. 23, n. 7, p. 1258-1270, 2012.

DYKSTRA, Mark A. et al. Urine metabolomics as a predictor of patient tolerance and response to adjuvant chemotherapy in colorectal cancer. **Molecular and clinical oncology**, v. 7, n. 5, p. 767-770, 2017.

EKBLOM, Björn. Applied physiology of soccer. **Sports medicine**, v. 3, p. 50-60, 1986.

EMMONDS, Stacey; HEYWARD, Omar; JONES, Ben. The challenge of applying and undertaking research in female sport. **Sports medicine-open**, v. 5, p. 1-4, 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.

Fédération Internationale de Football Association (2007) Grande Contagem FIFA

2006. Disponível online:
https://www.fifa.com/mm/document/fifafacts/bcoffsurv/bigcount.statspackage_7024.pdf
 Fédération Internationale de Football Association (2014) Pesquisa de Futebol Feminino. Disponível online:

http://www.fifa.com/mm/document/footballdevelopment/women/02/52/26/49/womens_footballsurvey2014_e_english.pdf

FERNANDEZ-SANJURJO, Manuel et al. Dynamics of gut microbiota and short-chain fatty acids during a cycling Grand Tour are related to exercise performance and modulated by dietary intake. **Nutrients**, v. 16, n. 5, p. 661, 2024.

FIEHN, Oliver. Combining genomics, metabolome analysis, and biochemical modelling to understand metabolic networks. **Comparative and functional genomics**, v. 2, n. 3, p. 155-168, 2001.

FIEHN, Oliver. Metabolomics—the link between genotypes and phenotypes. **Plant molecular biology**, v. 48, p. 155-171, 2002.

FINAUD, Julien; LAC, Gerard; FILAIRE, Edith. Oxidative stress: relationship with exercise and training. **Sports medicine**, v. 36, p. 327-358, 2006.

FRANZINI, Fábio. Futebol é "coisa para macho"?: Pequeno esboço para uma história das mulheres no país do futebol. **Revista brasileira de história**, v. 25, p. 315-328, 2005.

GOELLNER, Silvana Vilodre. Mulher e esporte no Brasil: entre incentivos e interdições elas fazem história. **Pensar a prática**, v. 8, n. 1, p. 85-100, 2005.

GOFFMAN, Erving. Estigma: notas sobre a manipulação da identidade. **Tradução: Mathias Lambert**, v. 4, 1988.

GOFFMAN, Erving. A representação do eu na vida cotidiana. In: **A representação do eu na vida cotidiana**. 2011. p. 231-231.)

GOROSTIAGA, Esteban M. et al. El Metabolismo Energético Durante Series Repetidas de Ejercicio del Press de Piernas Llevando Hasta el Fallo o no. **PubliCE Standard**, 2016.

GOUVEIA, Maria Mariana Sabino et al. O impacto do jogo de futebol sobre o perfil metabólico e suas interações com a ingestão de micronutrientes antioxidantes em atletas do sexo feminino. 2024.

GUO, Fei et al. Screening of different metabolites in teenage football players after exercise fatigue. **Zhongguo Ying Yong Sheng li xue za zhi= Zhongguo Yingyong Shenglixue Zazhi= Chinese Journal of Applied Physiology**, v. 36, n. 5, p. 465-470, 2020.

HACKNEY, Anthony C. Menstrual cycle hormonal changes and energy substrate metabolism in exercising women: a perspective. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 19, p. 10024, 2021.

HAWLEY, John A. et al. Integrative biology of exercise. **Cell**, v. 159, n. 4, p. 738-749, 2014.

HEALY, Marie-Louise et al. Endocrine profiles in 693 elite athletes in the postcompetition setting. **Clinical endocrinology**, v. 81, n. 2, p. 294-305, 2014.

HEANEY, Liam M.; DEIGHTON, Kevin; SUZUKI, Toru. Non-targeted metabolomics in sport and exercise science. **Journal of sports sciences**, v. 37, n. 9, p. 959-967, 2019.

HEATHER, Alison K. Transwoman elite athletes: their extra percentage relative to female physiology. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 19, n. 15, p. 9103, 2022.

HILL, James O. Understanding and addressing the epidemic of obesity: an energy balance perspective. **Endocrine reviews**, v. 27, n. 7, p. 750-761, 2006.

HUBAL, Monica J. et al. Variability in muscle size and strength gain after unilateral resistance training. **Medicine & science in sports & exercise**, v. 37, n. 6, p. 964-972, 2005.

HUNTER, Sandra K. et al. The biological basis of sex differences in athletic performance: consensus statement for the American college of sports medicine. **Translational Journal of the American College of Sports Medicine**, v. 8, n. 4, p. 1-33, 2023.

JANG, Hyun-Jun et al. Metabolic profiling of eccentric exercise-induced muscle damage in human urine. **Toxicological Research**, v. 34, p. 199-210, 2018.

KHORAMIPOUR, Kayvan et al. Using metabolomics to differentiate player positions in elite male basketball games: a pilot study. **Frontiers in Molecular Biosciences**, v. 8, p. 639786, 2021.

KIM, Jooyoung et al. Exercise-induced rhabdomyolysis mechanisms and prevention: A literature review. **Journal of sport and health science**, v. 5, n. 3, p. 324-333, 2016.

KNIJNIK, Jorge Dorfman. **Femininos e masculinos no futebol brasileiro**. 2006. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

KOCHHAR, Sunil et al. Probing gender-specific metabolism differences in humans by nuclear magnetic resonance-based metabonomics. **Analytical biochemistry**, v. 352, n. 2, p. 274-281, 2006.

KRUSTRUP, Peter; BANGSBO, Jens. Physiological demands of top-class soccer refereeing in relation to physical capacity: effect of intense intermittent exercise

training. **Journal of sports sciences**, v. 19, n. 11, p. 881-891, 2001.

KRUSTRUP, Peter et al. Physical demands during an elite female soccer game: importance of training status. **Medicine & Science in Sports & Exercise**, v. 37, n. 7, p. 1242-1248, 2005.

KRUSTRUP, Peter et al. Game-induced fatigue patterns in elite female soccer. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 24, n. 2, p. 437-441, 2010.

KUMAR, Gunjan. Machine learning for soccer analytics. **University of Leuven**, 2013.

LARSEN, Brianna et al. Practice does not make perfect: A brief view of athletes' knowledge on the menstrual cycle and oral contraceptives. **Journal of Science and Medicine in Sport**, v. 23, n. 8, p. 690-694, 2020.

LEAGUE, Australian Football; MELBOURNE, Victoria. AFL annual report, 2017. 2018.

LEITÃO, Marcelo Bichels et al. Posicionamento oficial da Sociedade Brasileira de Medicina do Esporte: atividade física e saúde na mulher. **Revista brasileira de medicina do esporte**, v. 6, p. 215-220, 2000.

LINDON, John C. et al. Metabonomics technologies and their applications in physiological monitoring, drug safety assessment and disease diagnosis. **Biomarkers**, v. 9, n. 1, p. 1-31, 2004.

LINDON, J.; NICHOLSON, J.; HOLMES, E. The Handbook of Metabonomics and Metabolomics. p. 572, 2006.

MARA, Jocelyn K. et al. Quantifying the high-speed running and sprinting profiles of elite female soccer players during competitive matches using an optical player tracking system. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 31, n. 6, p. 1500-1508, 2017.

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.

MARTIN, Daniel et al. Period prevalence and perceived side effects of hormonal contraceptive use and the menstrual cycle in elite athletes. **International journal of sports physiology and performance**, v. 13, n. 7, p. 926-932, 2018.

MARTIN, Manon et al. PepsNMR for ¹H NMR metabolomic data pre-processing. **Analytica chimica acta**, v. 1019, p. 1-13, 2018.

MARTIN-LORENZO, Marta et al. Urine metabolomics insight into acute kidney injury point to oxidative stress disruptions in energy generation and H₂S availability. **Journal of Molecular Medicine**, v. 95, p. 1399-1409, 2017.

MARTÍNEZ-LAGUNAS, Vanessa; NIESSEN, Margot; HARTMANN, Ulrich. Women's football: Player characteristics and demands of the game. **Journal of Sport and Health Science**, v. 3, n. 4, p. 258-272, 2014.

MARTINS, Leonardo Tavares; MORAES, Laura. O futebol feminino e sua inserção na mídia: a diferença que faz uma medalha de prata. **Pensar a Prática**, v. 10, n. 1, p. 69-82, 2007.

MCCARTHY, Margaret M. Sex differences in the developing brain as a source of inherent risk. **Dialogues in clinical neuroscience**, v. 18, n. 4, p. 361-372, 2016.

MCKERCHER, Charlotte M. et al. Physical activity and depression in young adults. **American journal of preventive medicine**, v. 36, n. 2, p. 161-164, 2009.

MCMILLAN, K. et al. Lactate threshold responses to a season of professional British youth soccer. **British journal of sports medicine**, v. 39, n. 7, p. 432-436, 2005.

MCCLELLAND, Emily L.; WEYAND, Peter G. Sex differences in human running performance: smaller gaps at shorter distances?. **Journal of Applied Physiology**, v. 133, n. 4, p. 876-885, 2022.

MITCHELL, S. C.; ZHANG, A. Q.; SMITH, R. L. Dimethylamine and diet. **Food and chemical toxicology**, v. 46, n. 5, p. 1734-1738, 2008.

MIYASHITA, Mitsumasa; KANEHISA, Hiroaki. Dynamic peak torque related to age, sex, and performance. **Research Quarterly. American Alliance for Health, Physical Education, Recreation and Dance**, v. 50, n. 2, p. 249-255, 1979.

MOHR, Magni; KRUSTRUP, Peter; BANGSBO, Jens. Match performance of high-standard soccer players with special reference to development of fatigue. **Journal of sports sciences**, v. 21, n. 7, p. 519-528, 2003.

MOHR, Magni; KRUSTRUP, Peter; BANGSBO, Jens. Fatigue in soccer: a brief review. **Journal of sports sciences**, v. 23, n. 6, p. 593-599, 2005.

MOHR, Magni et al. Match activities of elite women soccer players at different performance levels. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 22, n. 2, p. 341-349, 2008.

MOURÃO, Ludmila; MOREL, Marcia. As narrativas sobre o futebol feminino o discurso da mídia impressa em campo. **Revista brasileira de ciências do esporte**, v. 26, n. 2, 2008.

MORAES, Cláudia; PEREIRA, Silva; ANTUNES, Alfredo Cesar. TRAJETÓRIA DO FUTSAL FEMININO NO BRASIL: UM CAMINHO REPLETO DE OBSTÁCULOS, 2017.

MOREL, M.; SALLES, J. G. C. Futebol feminino. Atlas do esporte no Brasil. **CONFED: Atlas do esporte no Brasil. Rio de Janeiro: CONFED**, p. 8264-8265, 2006.

MUJICA, Iñigo et al. Fitness determinants of success in men's and women's football. **Journal of sports sciences**, v. 27, n. 2, p. 107-114, 2009.

MUKHERJEE, Kamalika et al. Whole blood transcriptomics and urinary metabolomics to define adaptive biochemical pathways of high-intensity exercise in 50-60 year old masters athletes. **PloS one**, v. 9, n. 3, p. e92031, 2014.

NG, Marie et al. Global, regional, and national prevalence of overweight and obesity in children and adults during 1980–2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. **The lancet**, v. 384, n. 9945, p. 766-781, 2014.

NICHOLSON, Jeremy K.; LINDON, John C.; HOLMES, Elaine. 'Metabonomics': understanding the metabolic responses of living systems to pathophysiological stimuli via multivariate statistical analysis of biological NMR spectroscopic data. **xenobiotica**, v. 29, n. 11, p. 1181-1189, 1999.

OKHOLM KRYGER, Katrine et al. Research on women's football: a scoping review. **Science and Medicine in Football**, v. 6, n. 5, p. 549-558, 2022.

OLIVER, Stephen G. et al. Systematic functional analysis of the yeast genome. **Trends in biotechnology**, v. 16, n. 9, p. 373-378, 1998.

OLIVEIRA, Marianne S. et al. Urinary metabolomic biomarker candidates for skeletal muscle wasting in patients with rheumatoid arthritis. **Journal of Cachexia, Sarcopenia and Muscle**, v. 14, n. 4, p. 1657-1669, 2023.

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. Monitoring the response of the human urinary metabolome to brief maximal exercise by a combination of RP-UPLC-MS and 1H NMR spectroscopy. **Journal of proteome research**, v. 14, n. 11, p. 4610-4622, 2015.

PERES, Rodrigo AS et al. Kidney functions adaptations of professional soccer players in response to an entire game season. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, v. 94, p. e20211536, 2022.

PINTUS, Roberta et al. Sportomics in professional soccer players: metabolomics results during preseason. **The Journal of Sports Medicine and Physical Fitness**, v. 61, n. 2, p. 324-330, 2020.

PRADO, Eduardo et al. Non-targeted sportomics analyses by mass spectrometry to understand exercise-induced metabolic stress in soccer players. **International Journal of Mass Spectrometry**, v. 418, p. 1-5, 2017.

OZIMEK, Mariusz et al. Acute effects of partial range of motion resistance training and increases in blood lactate impact accuracy of penalty kicks in soccer

players. **BioMed Research International**, v. 2022, n. 1, p. 4769560, 2022.

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

RAMPININI, Ermanno et al. Variation in top level soccer match performance. **International journal of sports medicine**, p. 1018-1024, 2007.

REED, Beverly G.; CARR, Bruce R. The normal menstrual cycle and the control of ovulation. 2015.

RHODES, E.; MOSHER, R. Aerobic and anaerobic characteristics of elite female university players. **Journal of Sports Sciences**, v. 10, p. 143-144, 1992.

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**, v. 13, p. 923608, 2022.

RW, REBER. The normal menstrual cycle and the control of ovulation. **Principle and Practice of Endocrinology and Metabolism**, p. 935-947, 2000.

SALE, D. G. et al. Neuromuscular function in weight-trainers. **Experimental Neurology**, v. 82, n. 3, p. 521-531, 1983.

SALVINI, Leila. Novo Mundo Futebol Clube e o “velho mundo” do futebol: considerações sociológicas sobre o habitus esportivo de jogadoras de futebol [dissertação]. Curitiba (PR): Universidade Federal do Paraná, Departamento de Educação Física; 2012.

SALVINI, Leila; SOUZA, Juliano de; MARCHI JÚNIOR, Wanderley. Between facades, backstage and stigmas: a sociological about female soccer from the theory of social action by Erving Goffman. **Revista Brasileira de Educação Física e Esporte**, v. 29, n. 4, p. 559-569, 2015.

SALVINI, Leila; MARCHI, Wanderley. “Guerreiras de chuteiras” na luta pelo reconhecimento: relatos acerca do preconceito no futebol feminino brasileiro. **Revista Brasileira de Educação Física e Esporte**, v. 30, n. 2, p. 303-311, 2016.

SCHIATTARELLA, Gabriele Giacomo et al. Gut microbe-generated metabolite trimethylamine-N-oxide as cardiovascular risk biomarker: a systematic review and dose-response meta-analysis. **European heart journal**, v. 38, n. 39, p. 2948-2956, 2017.

SENEFELD, Jonathon et al. Fatigue and recovery from dynamic contractions in men and women differ for arm and leg muscles. **Muscle & nerve**, v. 48, n. 3, p. 436-439, 2013.

SOUZA, Juliana Sturmer Soares; KNIJNIK, Jorge Dorfman. A mulher invisível: gênero e esporte em um dos maiores jornais diários do Brasil. **Revista Brasileira de Educação Física e Esporte**, v. 21, n. 1, p. 35-48, 2007.

STOLEN, Tomas et al. Physiology of soccer: an update. **Sports medicine**, v. 35, p. 501-536, 2005.

STRÖHLE, Andreas. Physical activity, exercise, depression and anxiety disorders. **Journal of neural transmission**, v. 116, p. 777-784, 2009.

TAMASHIRO, Lucas Isamu; GALATTI, Larissa Rafaela. Preconceito no futsal e futebol feminino nas revistas brasileiras: uma revisão bibliográfica. **RBFF-Revista Brasileira de Futsal e Futebol**, v. 10, n. 41, p. 795-799, 2018.

TAMER, KEMAL et al. Physiological characteristics of Turkish female soccer players. In: **Science and football III**. Routledge, 2014. p. 37-39.

TEIXEIRA, Fábio Luís Santos; DE OLIVEIRA CAMINHA, Iraquitã. Preconceito no futebol feminino brasileiro: uma revisão sistemática. **Movimento**, v. 19, n. 1, p. 265-287, 2013.

TEIXEIRA-LEMO, Edite et al. Regular physical exercise training assists in preventing type 2 diabetes development: focus on its antioxidant and anti-inflammatory properties. **Cardiovascular diabetology**, v. 10, p. 1-15, 2011.

THOMAS, Frédéric et al. International variability of ages at menarche and menopause: patterns and main determinants. **Human biology**, p. 271-290, 2001.

THOMAS, Jerry R.; NELSON, Jack K.; SILVERMAN, Stephen J. Introdução à pesquisa em atividade física. **THOMAS, JR; NELSON, JK; SILVERMAN, SJ Métodos de Pesquisa em Atividade Física**, v. 6, p. 23-44, 2012.

TORRES-LEAL, Francisco Leonardo; CAPITANI, Mariana Dutilh de; TIRAPEGUI, Julio. The effect of physical exercise and caloric restriction on the components of metabolic syndrome. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 45, p. 379-399, 2009.

TRETTET, Laszlo; PATOCS, Attila; CHINOPOULOS, Christos. Succinate, an intermediate in metabolism, signal transduction, ROS, hypoxia, and tumorigenesis. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics**, v. 1857, n. 8, p. 1086-1101, 2016.

VAN WINGEN, Guido A. et al. Gonadal hormone regulation of the emotion circuitry in humans. **Neuroscience**, v. 191, p. 38-45, 2011.

VEENSTRA, T. D. Metabolomics : the final frontier ? **Genome Medicine**, p. 2010–2012, 2012.

VERRILLI, L. et al. Prevalence and predictors of oligomenorrhea and amenorrhea in division 1 female athletes. **Fertility and Sterility**, v. 110, n. 4, p. e245, 2018.

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, Jingjing; ABDELLA KEMAL, Mohammed. [Retracted] Comparison of the

Metabolites of Water Polo Players before and after Competition by the Metabolomic Approach. **Journal of Healthcare Engineering**, v. 2021, n. 1, p. 7600835, 2021.

VOTRE, Sebastião; MOURÃO, Ludmila. Women's football in Brazil: Progress and problems. **Soccer & society**, v. 4, n. 2-3, p. 254-267, 2003.

WARD, Patrick et al. Putting the “I” back in team. **International journal of sports physiology and performance**, v. 13, n. 8, p. 1107-1111, 2018.

WESTERBLAD, Håkan; BRUTON, Joseph D.; KATZ, Abram. Skeletal muscle: energy metabolism, fiber types, fatigue and adaptability. **Experimental cell research**, v. 316, n. 18, p. 3093-3099, 2010.

WORLEY, Bradley; POWERS, Robert. Multivariate analysis in metabolomics. **Current metabolomics**, v. 1, n. 1, p. 92-107, 2013.

YAN, Bei et al. Metabolomic investigation into variation of endogenous metabolites in professional athletes subject to strength-endurance training. **Journal of Applied Physiology**, v. 106, n. 2, p. 531-538, 2009.

ZHANG, Tao et al. Discrimination between malignant and benign ovarian tumors by plasma metabolomic profiling using ultra performance liquid chromatography/mass spectrometry. **Clinica Chimica Acta**, v. 413, n. 9-10, p. 861-868, 2012.

ZHOU, Jinglin et al. ¹H NMR-based metabonomic and pattern recognition analysis for detection of oral squamous cell carcinoma. **Clinica chimica acta**, v. 401, n. 1-2, p. 8-13, 2009.

ZOU, Hong et al. O N-óxido de trimetilamina melhora o desempenho do exercício, reduzindo o estresse oxidativo por meio da ativação da via de sinalização Nrf2. **Moléculas**, v. 29, n. 4, p. 759, 2024.