

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

ANÁLISE METABOLÔMICA E SUA ASSOCIAÇÃO COM A CARGA EXTERNA
EM JOGADORES PROFISSIONAIS DE FUTEBOL

SUEWELLYN NUNES DOS SANTOS

MACEIÓ
2025

SUEWELLYN NUNES DOS SANTOS

**ANÁLISE METABOLÔMICA E SUA ASSOCIAÇÃO COM A CARGA EXTERNA
EM JOGADORES PROFISSIONAIS DE FUTEBOL**

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 à obtenção do título de Mestre em Ciências da Saúde.

Orientador(a): **Prof. Dr. Filipe Antonio de Barros Sousa**

Co-orientador: **Prof. Dr. Gustavo Gomes de Araújo**

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
Bibliotecária: Taciana Sousa dos Santos – CRB-4 – 2062

S237a Santos, Suevellyn Nunes dos.
Análise metabólica e sua associação com a carga externa em jogadores profissionais de futebol / Suevellyn Nunes dos Santos. – 2025. 72 f. : il. color.

Orientador: Filipe Antonio de Barros Sousa.
Coorientador: Gustavo Gomes de Araújo.
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. 62-67.
Apêndice: f. 69-72.

1. Metabólica. 2. Jogadores de futebol – Controle de carga. 3. Jogadores de futebol – Treinamento. I. Título.

CDU: 577.121 : 796.332

FOLHA DE APROVAÇÃO

SUEWELLYN NUNES DOS SANTOS

ANÁLISE METABOLÔMICA E SUA ASSOCIAÇÃO COM A CARGA EXTERNA EM JOGADORES PROFISSIONAIS DE FUTEBOL

Dissertação de mestrado submetida ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde do Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde da Universidade Federal de Alagoas e aprovada em 09 de maio de 2025.



Documento assinado digitalmente
FILIPPE ANTONIO DE BARROS SOUSA
Data: 13/05/2025 16:23:24-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

(Orientador: Dr. Filipe Antônio de Barros Sousa, Universidade Federal de Alagoas)



Documento assinado digitalmente
GUSTAVO GOMES DE ARAUJO
Data: 19/05/2025 17:59:43-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

(Co-orientador: Dr. Gustavo Gomes de Araújo, Universidade Federal de Alagoas)

Banca examinadora:



Documento assinado digitalmente
LUIZ RODRIGO AUGUSTEMAK DE LIMA
Data: 14/05/2025 09:42:09-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

(Examinador interno: Dr. Luiz Rodrigo Augustemak de Lima, Universidade Federal de Alagoas)



Documento assinado digitalmente
RONALDO VAGNER THOMATIELI DOS SANTOS
Data: 13/05/2025 19:32:42-0300
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

(Examinador externo: Ronaldo Vagner Thomatieli dos Santos, Universidade Federal de São Paulo)

AGRADECIMENTOS

Início agradecendo a Deus, por esta e todas as oportunidades em minha vida, e por me dar força de vontade e coragem para enfrentar os desafios dessa caminhada, foram dois anos intensos e de muito aprendizado.

A minha família, meu muito obrigado! Sem vocês eu não teria chegado até aqui. Especialmente a minha mãe, minhas irmãs, meu pai que sempre estiveram presentes, me ouviram e foram meu alicerce. A minha avó Irene, que sempre torceu e vibrou por cada conquista, e que sempre se fez presente ao meu lado. Ao meu namorado, por me apoiar, e por ser ouvinte dos ensaios de apresentações. E a todos os amigos que contribuíram e me incentivaram para a realização deste trabalho.

Gostaria de agradecer aos meus professores, em especial, ao meu orientador Filipe Sousa por ter aceitado me orientar nessa jornada, e desempenhar este papel com dedicação, tornando este processo menos íngreme, pela compreensão, paciência, esclarecendo minhas dúvidas e por ser sempre disposto a ajudar quando precisei. E, também ao meu co-orientador Gustavo Gomes, pelo auxílio nas correções e pelo incentivo quando o mestrado ainda era um sonho.

Ao Edmilson e Alexandre expresso minha gratidão, por toda a colaboração, por ouvir e esclarecer minhas dúvidas acerca da metabolômica, pela disponibilidade de tempo, pelas reuniões, e por toda ajuda com a análise dos dados. E, por fim, agradeço também o Glydison Egberto, pela disponibilidade em nos ajudar e esclarecer informações cruciais do nosso estudo.

À todos, muito obrigada! Vocês foram essenciais.

RESUMO

SANTOS, S.N. **Análise metabolômica e sua associação com a carga externa em jogadores profissionais de futebol. 72 f.** Dissertação de Mestrado (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.

O futebol é um esporte que requer esforços intermitentes de alta intensidade intercalados com períodos mais longos de atividade de baixa intensidade durante as partidas. As exigências físicas da modalidade diferem entre a posição específica do jogador diante das demandas específicas técnica e táticas, bem como do seu papel desempenhado na dinâmica do jogo. Deste modo, o gerenciamento da carga externa e interna é essencial para otimizar processos de treinamento e recuperação de forma individualizada respeitando as exigências de cada função na partida. O presente estudo tem como objetivo verificar a capacidade da metabolômica em identificar diferenças entre as posições dos jogadores profissionais de futebol associado aos efeitos das diferentes cargas externas após as partidas de jogo. Este é um estudo descritivo, observacional e longitudinal, que incluiu 12 jogadores de futebol profissional, com uma amostra de 49 observações individuais obtidas a partir de seis jogos da temporada. As posições estudadas foram definidas como: zagueiros centrais (ZC), laterais (LA), meio-campistas central (MC), meio-campistas aberto ou lateral, (MA) e atacante (AT). Os dados de carga de treinamento foram divididos por posição de jogo (ZC= 9; LA=9; MC=14; MA=12; AT=5). As cargas externas foram determinadas por meio de um aparelho *ground positional system* (GPS), enquanto a metabolômica por RMN na urina realizada através da coleta de urina dos jogadores 24 horas após as seis partidas de futebol foi usada como potencial métrica de carga interna. A abordagem metabolômica foi não direcionada/ global, realizada por RMN. Foram realizadas análises multivariadas, que geraram gráficos de *scores* e *loading* da análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA). As métricas de carga externa treinamento eram diferentes em relação a posição de jogo, os MC apresentavam maiores valores de distância total, distância relativa, *player load* e distância abaixo de 20 km/h; ZC de velocidade máxima; e LA de distância de *sprints*. Nas 24 horas após os jogos, os metabólitos com maior VIP-scores eram:

metilguanidina, trimetilamina, 4-hidroxifenilacetico, piruvato, glicose, formato, glicina, dimetilglicina, tirosina e uracil que apontaram alterações no metabolismo dos carboidratos e ciclo de TCA, aminoácidos e peptídeos, piridiminas, nas vias de corpos cetônicos, discriminando um perfil metabólico de recuperação após jogo dependente da posição do jogador. Desse modo, os perfis metabólicos de MC estavam mais relacionados ao dano muscular, marcadores inflamatórios, e de LA e ZC com o metabolismo energético e estresse oxidativo. O estudo ressalta a importância de uma abordagem personalizada no monitoramento de carga e recuperação, considerando as exigências particulares de cada posição de jogo.

Palavras-chave: Metabolômica; futebol; treinamento.

ABSTRACT

SANTOS, S.N. **Metabolomic analysis and its association with external load in professional soccer players. 72 p.** Master's Dissertation (Master in Health Sciences) – Postgraduate Program in Health Sciences, Institute of Biological and Health Sciences, Federal University of Alagoas, Maceió, 2025.

Football is a sport that requires intermittent efforts of high intensity with longer periods of low-intensity activity during matches. The physical demands of the sport vary depending on the player's specific position and their role on the field. Therefore, managing external and internal load is essential to optimize training and recovery processes in an individualized manner, respecting the demands of each role during the match. The present study aims to assess the capability of metabolomics to identify differences between the positions of professional football players, associated with the effects of different external loads following match play. This is a descriptive observational longitudinal study that included 12 professional football players, with a sample of 49 individual observations obtained from six matches in the season. The studied positions were defined as: central defenders (CD), wing backs (WB), central midfielders (CM), wide or lateral midfielders (WM), and strikers (ST). Training load data (external and internal) were divided by playing position (CD=9; WB=9; CM=14; WM=12; ST=5). External loads were determined using a ground positional system (GPS) device, while metabolomics by NMR in urine was conducted through the collection of urine samples from players 24 hours after the six football matches, used as a potential internal load metric. The metabolomic approach was non-targeted/global, performed by NMR. Multivariate analyses were conducted, generating score and loading plots from partial least squares discriminant analysis (PLS-DA). The external training load metrics differed by playing position, with CM players showing higher values of total distance, relative distance, player load, and distance under 20 km/h; CD players having the highest maximum speed; and WB players exhibiting greater sprint distance. 24 hours after the matches, the metabolites with the highest VIP-scores were: methylguanidine, trimethylamine, 4-hydroxyphenylacetic acid, pyruvate, glucose, formate, glycine, dimethylglycine, tyrosine, and uracil. The findings

indicated alterations in carbohydrate metabolism and the TCA cycle, amino acids and peptides, pyrimidines, and ketone body pathways, discriminating a recovery metabolic profile after the match depending on the player's position. Thus, CM metabolic profiles were more related to muscle damage, inflammatory markers, while WB and CD were associated with energy metabolism and oxidative stress. The study highlights the importance of a personalized approach in monitoring load and recovery, considering the specific demands of each playing position.

Keywords: Metabolomics; football; training.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Representação do desenho experimental do estudo.....	33
Figura 2 – Gráfico de variáveis de carga externa por posição de jogo.....	40
Figura 3 – Gráfico de comparação das variáveis de carga externa nos seis jogos do campeonato.....	42
Figura 4 – Gráfico de scores e loadings da análise PLS-DA mostrando as principais características que discriminam a posição de jogo e os dados de carga externa (GPS).....	44
Figura 5 – Gráfico de scores e loadings da análise PLS-DA mostrando as principais características que discriminam as posições MC, ZC, LA e os dados de carga externa (GPS).....	45
Figura 6 – Gráfico de scores e loadings da análise PLS-DA mostrando as principais características que discriminam as posições de jogo, dados de carga externa (GPS) e metabolômica urinária.....	48
Figura 7 – Gráfico de scores da análise de Block PLS-DA, mostrando a comparação entre as variáveis de carga externa (GPS) (painel A) e metabolômica urinária (painel B)	50
Figura 8 – Gráfico de correlação de Pearson entre os 38 metabólitos urinários e as variáveis de carga externa após os jogos do campeonato.....	51
Figura 9 – Gráfico Circus Plot correlacionando as variáveis de carga externa (GPS) e metabolômica urinária.....	52

LISTA DE TABELAS

Tabela 1	- Dados da Carga de Treinamento Externo por posição de jogo durante as seis partidas do campeonato.....	41
Tabela 2	- Tabela das pontuações da VIP dos metabólitos urinários com suas respectivas pontuações.....	46

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

GPS	Sistemas de Posicionamento Global
pH	Potencial Hidrogeniônico
MS	Espectrometria de Massa
CE-MS	Eletroforese capilar- espectrometria de Massa
LC-MS	Cromatografia Líquida-espectrometria de Massa
GC-MS	Cromatografia gasosa-espectrometria de Massa
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
PCA	Análise de Componentes Principais
PLS-DA	Análise Discriminantes por Mínimos Quadrados Parciais
OPLS-DA	Projeções Ortogonais para Estruturas Latentes
ETPS	Sistemas Eletrônicos de Rastreamento de Desempenho
TRIMP	Impulso de Treinamento
PSE	Percepção Subjetiva de Esforço
CBF	Confederação Brasileira de Futebol
ZC	Zagueiro Central
LA	Lateral
MC	Meio-campista Central
MA	Meio-campista Aberto ou Lateral
AT	Atacante
G1	Grupo Principal de Treinamento
VIP	Variável de Importância na Projeção
TCA	Ciclo de Ácido Tricarboxílico

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1. Problematização.....	13
1.2. Problema.....	16
1.3. Hipótese	16
1.4. Justificativa	16
1.5. Objetivos.....	17
1.5.1. Objetivo Geral	17
1.5.2. Objetivos Específicos.....	17
2. REVISÃO DA LITERATURA	19
2.1 Metabolômica.....	19
2.2 Monitoramento de carga externa e interna no futebol	21
2.3 Efeito das posições dos jogadores de futebol sobre a carga de treinamento/jogo	24
2.4 Respostas metabólicas provocadas pela carga externa do futebol	26
3. MATERIAL E MÉTODOS	30
3.1 Tipo de Estudo	30
3.2 Participantes	30
3.3 Desenho do estudo.....	30
3.4 Determinação da carga externa de treinamento das partidas	32
3.5 Determinação da carga interna de treinamento das partidas	33
3.5.1 Coletas de urina	33
3.5.2. Preparação da amostra e análise metabolômica	34
3.6 Análise estatística	34
4. RESULTADOS	37
4.1. Descrição da carga externa de treinamento nas posições de jogo.....	37
4.2. Descrição metabolômica urinária e sua associação com a carga externa nas posições de jogo.....	44
4.3. Análise integrativa das variáveis de carga interna e externa	47
5. Discussão.....	51
6. CONCLUSÃO	59
REFERÊNCIAS.....	61
APÊNDICE A – TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO (TCLE) PARA RESPONSÁVEIS PARA DADOS RETROSPECTIVOS.	68

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1. Problematização

O futebol é um esporte que requer esforços intermitentes de alta intensidade com períodos mais longos de atividade de baixa intensidade durante as partidas (Silva JR. 2022). Os jogadores realizam diversas atividades de desempenho, como corridas, sprints, aceleração, desaceleração, entre outros; seja durante os treinos ou nas partidas (Gravina et al., 2011). E, na categoria profissional, atletas de alto rendimento realizam treinamentos intensos com o objetivo de obter o melhor desempenho. Consequentemente, nas demandas competitivas são impostas tensões sobre vários sistemas fisiológicos, tais como o sistema musculoesquelético e metabólico (Ascensão et al., 2008).

Desse modo, as exigências físicas sobre os jogadores diferem entre a posição específica do jogador e seu papel desempenhado no campo, formação do jogo, local da partida (jogar em casa ou fora), categoria do jogador, dinâmica de placar, estilo de jogo, momento da partida (Oliveira et al., 2019; Palucci et al., 2019). E, consequentemente, as estratégias técnicas e táticas do jogo evoluem ao longo do tempo resultando em características físicas multifatoriais para os jogadores (Modric, T.; Versic, S.; Sekilic, D., 2020).

Na partida de futebol, a atividade de jogo depende da posição do jogador, os meio-campistas realizam mais trabalho de alta intensidade e distância total do que os defensores e atacantes (Ju et al., 2023). No entanto, poucas definições e classificações da posição são encontradas na literatura. Sabe-se que, a posição de zagueiro central, lateral e goleiro atuam no setor de defesa; meio-campo central, meio-campo lateral, e volante compõem o setor de armação; e, o atacante atua no setor de ataque ou ofensivo (Guimarães et al., 2015). Portanto, a posição de jogo também pode influenciar nos danos musculares e nas respostas metabólicas pós- partida de futebol (Souglis et al., 2018).

Os jogadores de futebol profissional percorrem durante o jogo de 9 a 14 km, com corridas de alta intensidade representando 5–15% dessa distância (Bradley et al., 2010). Especificamente, em relação a posição do jogo, Oliveira et al. (2019), identificou que defensores e meio-campistas laterais tinham maior intensidade de treinamento, no que se refere à corrida em alta velocidade e número de sprints quando

comparado com as demais posições, e os meio-campistas centrais e laterais apresentavam maior intensidade de treinamento do que zagueiros centrais em relação à distância total e corrida em alta velocidade ($> 19 \text{ km} \cdot \text{h}^{-1}$). Morgans et al. (2022), apresentaram também, em um estudo que avaliaram o desempenho físico do jogo entre jogadores de futebol seniores e jovens de um clube de elite, que os defensores centrais têm menores demandas de corrida, meio-campistas (centrais e laterais) são as posições que cobrem a maior distância total, enquanto os meio-campistas e laterais cobrem maiores distâncias em velocidades mais altas.

Essas demandas competitivas no esporte envolvem exigências fisiológicas intensas e diferenciadas entre os jogadores, podendo afetar a homeostase corporal. Desencadeando alterações no potencial hidrogeniônico, na temperatura corporal e na produção de energia, impactando diretamente a capacidade de desempenho e a adaptação física do atleta (Rhea et al., 2009). No futebol profissional, essas variáveis mudam de acordo com a posição de jogo, uma vez que jogadores que atuam em funções mais intensas, como os atacantes ou laterais, geralmente experimentam um aumento maior no consumo de oxigênio e no limiar anaeróbio. Eleva a demanda por oxigênio e energia, como resposta ao estresse metabólico, que impacta a recuperação pós-jogo, um fator crucial para a manutenção do alto desempenho durante a temporada (Cao et al., 2020).

Por sua vez, no contexto da análise de desempenho físico, as variáveis são coletadas através de Sistemas de Posicionamento Global (GPS) ou por outros equipamentos que possuem tecnologia de monitoramento ou rastreamento das atividades produzidas pelo jogador, permitindo a coleta de dados da carga externa de treino. Refere-se a carga externa de treino, as demandas físicas e mecânicas impostas durante as sessões de treinamento e/ou jogo (atividades globais dos jogadores, prescrita por treinadores, são exemplos: volume de treino, tempo, distância percorrida, velocidade, aceleração, desaceleração) (Bourdon et al., 2017). Por outro lado, as cargas internas de treinamento estão relacionadas as respostas fisiológicas, como a produção de força muscular, recuperação da frequência cardíaca, concentração de lactato no sangue, produção de metabólitos, consumo de oxigênio (Passfield et al., 2022).

Além disso, sabe-se que todas as atividades físicas desempenhadas pelo organismo, tem o potencial de induzir mudanças fisiológicas no corpo em uma rede de sinalização influenciada pela atividade metabólica dos músculos esqueléticos em

contração (Bongiovanni et al., 2022). No entanto, para que essas alterações fisiológicas sejam significativas e resultem em adaptações duradouras, é necessário que a atividade atinja um nível mínimo de intensidade, duração e frequência. No atleta, essas respostas levam a mudanças sistêmicas, e atualmente o efeito das cargas impostas de treinamentos/ jogos vêm sendo estudado a partir do seu impacto na condição de desempenho e saúde dos jogadores por meio da metabolômica (Heaney et al., 2019).

A metabolômica vem sendo cada vez mais utilizada para como uma ferramenta que possibilita caracterizar as diferenças metabólicas no corpo frente a um estímulo fisiológico ou fisiopatológicas, além de rastrear diferentes biomarcadores e seus mecanismos/vias metabólicas (Kelly, RS.; KELLY, MP.; KELLY, P. 2020). Tem o potencial de ser utilizado como um marcador de carga interna, e corresponde a uma ciência ômica que aborda os sistemas biológicos, estudam os metabólitos que são produzidos e liberados pelo corpo a nível sistêmico e celular, presentes em fluidos biológicos, como sangue, saliva ou urina (Quintas et al., 2020). Atualmente sua aplicabilidade no esporte vem sendo explorada associada ao papel de possibilitar a identificação das alterações metabólicas no organismo do atleta provocada pela intensidade do treino (Cao et al., 2020).

As alterações metabólicas nos jogadores de futebol podem ser explicadas pelas exigências aeróbias durante o jogo e demandas anaeróbias durante períodos da partida, contribuindo com a fadiga ocorrida no decorrer do jogo. Do ponto de vista de demanda fisiológica, esses esforços anaeróbios são caracterizados pela frequente utilização das taxas de creatina-fosfato e glicólise durante um jogo, que resulta na redução dos níveis creatina-fosfato muscular e pelo aumento nas concentrações de lactato sanguíneo e muscular. Assim, como, ocorre a redução do potencial hidrogeniônico (pH) muscular e a elevação do monofosfato de inosina muscular durante um jogo de futebol. A glicose, as catecolaminas e os níveis de ácidos graxos livres aumentam progressivamente no sangue durante o jogo, provavelmente refletindo um aumento na oxidação de gordura, compensando a redução do glicogênio muscular (Bangsbo, J.; Iaia, FM.; Krstrup, P. 2007).

Portanto, a análise metabolômica associada a carga externa de treino dos jogadores pode nos permitir melhorar os programas de treinamento para alcançar as adaptações fisiológicas desejadas nas demandas competitivas de forma individualizada, respeitando inclusive a posição de cada jogador e sua função no jogo,

nos mostrando as implicações sobre o desempenho e a saúde através de biomarcadores (dano muscular induzido por exercício; de inflamação; da resposta imune; da resposta endócrina; e, do estado oxidativo (Pérez-Castillo et al., 2023).

1.2. Problema

Como a posição do jogador de futebol profissional irá influenciar nas suas adaptações fisiológicas pós-jogo, controladas pelo perfil metabolômico urinário e associadas às cargas externas de jogo?

1.3. Hipótese

Considerando as diferentes cargas externas a que os jogadores profissionais de futebol estão expostos, dependendo da posição que ocupam em campo, as respostas metabolômicas desses atletas devem variar. Espera-se que as posições que exigem maior demanda física, como o meio-campo central (MC), apresentem perfis metabolômicos distintos, com a presença de marcadores relacionados à lesão muscular e à inflamação, em comparação com posições que exigem menor deslocamento contínuo, como os laterais (LA) e os zagueiros centrais (ZC).

1.4. Justificativa

As demandas físicas dos jogadores profissionais variam de acordo com a posição em que atuam, sendo influenciadas pelos papéis técnicos e táticos no jogo. Isso gera diferenças nas cargas externas, que se manifestam de forma distinta conforme o comportamento coletivo da equipe. Portanto, compreender até quanto a análise metabolômica associada a carga externa de treino dos jogadores é capaz de diferenciar as demandas de jogo por posição no futebol pode reforçar sua utilidade como ferramenta para melhorar programas de treinamento, visando alcançar as adaptações fisiológicas desejadas nas demandas competitivas. Dessa forma, é possível potencializar o desempenho e a recuperação adequada às demandas do futebol, reduzindo seus impactos inclusive sobre a saúde dos jogadores (Asian Clemente et al., 2019; Pérez-Castillo et al., 2023).

1.5. Objetivos

1.5.1. Objetivo Geral

Verificar a capacidade da metabolômica em identificar diferenças entre as posições dos jogadores profissionais de futebol associado aos efeitos das diferentes cargas externas após as partidas de jogo.

1.5.2. Objetivos Específicos

- 1) Conhecer as diferentes cargas externas de acordo com a posição dos jogadores e dos jogos durante as partidas de futebol dos jogadores titulares do sub-20;
- 2) Comparar as análises metabólicas pós jogo entre a posição dos jogadores nas diferentes partidas do campeonato de futebol;
- 3) Identificar às respostas metabólicas apresentadas na análise dos metabólitos urinários a partir das ações de jogo caracterizados pela carga externa dos jogadores.

REVISÃO DA LITERATURA

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Metabolômica

A metabolômica é uma área de conhecimento relacionada às ciências ômicas, bastante relevante na comunidade científica, que busca compreender o funcionamento celular e suas respectivas alterações biológicas (Fraga-Corral et al., 2022). Corresponde ao estudo dos metabólitos, nos produtos do metabolismo, caracterizando e quantificando seus mecanismos e vias de ação presentes no organismo, célula ou tecido (Kelly, RS.; Kelly, MP.; Kelly, P. 2020). E, difere-se da genômica (alteração dos genes, DNA), transcriptômica (alterações de transcrições, mRNA) e da proteômica (alteração das proteínas) por representar impressão fenotípica de um organismo em qualquer ponto do tempo, bem como suas interações com o ambiente (Aderemi et al., 2021).

Os metabólitos são moléculas pequenas que englobam carboidratos, aminoácidos, ácidos orgânicos, nucleotídeos e lipídios, produtos residuais do processo celular metabólico no organismo (Sakaguchi et al., 2019). Dito isto, através da análise dos aspectos metabolômicos de amostras biológicas de biofluidos (sangue, saliva, urina, suor) várias hipóteses podem ser elucidadas sobre a respostas do corpo frente a exposição/ perturbação, como doença, medicamento, dieta ou atividade física, nas vias metabólicas (Heaney et al., 2019).

O sangue, a urina e a saliva são amostras biológicas de fluidos corporais com diferentes aspectos para análise metabolômica. O sangue oferece uma visão abrangente do metabolismo sistêmico, com menor variabilidade entre indivíduos, sendo amplamente usado em diagnósticos, embora sua coleta seja invasiva e a análise dificultada pela complexidade da composição. A urina, apresenta como vantagem a coleta simples e rica em metabólitos hidrossolúveis, útil para detectar alterações metabólicas, tem menor interferência proteica, mas sofre com alta variabilidade e não reflete diretamente o estado metabólico do sangue. Já a saliva é fácil de coletar, especialmente útil em populações vulneráveis, e contém marcadores importantes, mas apresenta baixa concentração de metabólitos e alta suscetibilidade à contaminação e variações (Canuto et al., 2018; Kelly, RS.; Kelly, MP.; Kelly, P. 2020).

Algumas técnicas analíticas vêm sendo utilizadas para estudar os aspectos metabolômicos, principalmente espectrometria de massa (MS), como eletroforese capilar-espectrometria de massa (CE-MS), cromatografia líquida-espectrometria de massa (LC-MS), cromatografia gasosa-espectrometria de massa (GC-MS) ou espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN) (Bongiovanni et al., 2019).

A espectrometria de massa mede as massas de moléculas e seus fragmentos para definir sua identidade, através da relação massa-carga (m/z) dos íons que são formados, possui uma alta sensibilidade e reprodutibilidade, no entanto demanda um tempo prolongado para o preparo da amostra (Johnson, CH.; Ivanisevic, J.; Siuzdak, G. 2016).

GC-MS é uma das análises mais empregadas na metabolômica, possui reprodutibilidade, boa resolução e detecção, proporciona a análise de compostos voláteis. No entanto, grande parte dos metabólitos precisam de derivatização, que acaba limitando o número de amostras. Já o LC-MS é uma técnica analítica com alta resolução, sensibilidade e reprodutibilidade, possui grande variedade de fases estacionárias disponíveis, além dos diferentes modos de separação, como a eluição em fase reversa (fundamentalmente partição), com ou sem pareamento iônico, interação hidrofílica, e troca iônica. Enquanto, o CE-MS possui boa resolução, é rápida, baixo volume de amostra e vem sendo usada como técnica complementar a LC-MS e GC-MS, porque promove a separação de compostos iônicos polares. Possui alta resolução e curtos tempos de análise. Mas, apresenta limitações de repetibilidade e sensibilidade, devido à diluição das amostras pelo uso de líquido auxiliar no acoplamento com MS (Canuto et al., 2018).

Por outro lado, a RMN é uma técnica simples e abrangente que utiliza um campo eletromagnético gerado pelo aparelho e radiofrequência em pulso para facilitar a separação e a identificação dos metabólitos de uma amostra, possui a vantagem de precisar de pouca quantidade de amostra, tem alta reprodutibilidade, permite que o avaliador visualize a amostra coletada mais de uma vez, pois não destrói a amostra após a análise, apesar de precisar usar solvente deuterado. Embora possua sensibilidade mais baixa e apresenta regiões espectrais com sobreposição de sinais, é uma técnica que permite identificação de muitos metabólitos dependendo do espectro da amostra e de forma simples (Li et al., 2017; Kim et al., 2022). Portanto, a escolha da técnica adequada para determinada pesquisa vai depender da

metodologia empregada e das condições estruturais, tendo em vista que ambas possuem vantagens e desvantagens entre si (Emwas, AM. 2015).

Além disso, as principais abordagens metodológicas de identificar os metabólicos se diferenciam em dois tipos: metabolômica não direcionada ou global (*untargeted/metabolic fingerprinting*) e metabolômica direcionada (*targeted/metabolic profiling*) (Zhang et al., 2011). A metabolômica não direcionada ou global é fundamentada como uma análise qualitativa, que se propõe medir de uma amostra o perfil metabólico total dos metabólitos, como uma “impressão digital”. Já, a análise metabolômica direcionada é definida como uma análise quantitativa, identifica metabólitos pré-determinados, os metabólitos normalmente já são conhecidos, envolvidos em possíveis respostas, e em determinada via metabólica (Johnson, CH.; Ivanisevic, J.; Siuzdak, G. 2016).

Portanto, os dados gerados através das análises metabolômicas são numerosas e complexas, sendo necessário extrair à informação relevante através da análise estatística, de forma multivariada e univariada (Canuto et al., 2018). Para isso, análise multivariada, pode ser realizada por métodos não- supervisionados e supervisionados, ambas são empregadas para classificar e discriminar os metabólitos das amostras. De forma não-supervisionada, não discrimina qual amostra é teste ou controle, tem o método de análise de componentes principais (PCA). E, de forma supervisionada, ocorre a discriminação dos grupos, podemos citar a análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA), e projeções ortogonais para estruturas latentes (OPLS-DA). São realizados também de forma frequente, testes de normalização, teste t-student, Mann-Whitney U, entre outros, podendo ser aplicados para análises univariadas (Kusonmano, A.; Vongsangnak, W.; Chumnanpuen, P. 2016).

Diante disso, a metabolômica fornece informações preciosas sobre o impacto de uma determinada exposição do organismo e vem sendo utilizada em diversas áreas de pesquisa. E, uma ferramenta promissora para estudar a fisiologia do exercício e o seu metabolismo associado (Sakaguichi et al., 2019).

2.2 Monitoramento de carga externa e interna no futebol

O monitoramento da intensidade do treinamento e dos jogos é uma prática diária no contexto do futebol profissional, em que o objetivo é gerar adaptações

fisiológicas e melhorar o desempenho esportivo (Roschel, H.; Tricoli, V.; Ugrinowitsch, C. 2011). Desse modo, gerenciar o volume e a intensidade do treinamento que o atleta é submetido, o controle da carga de treino, compreende um norteador importante da prescrição, o monitoramento e ajuste adequado indispensável para o planejamento de melhoria no desempenho e redução no risco de lesões do atleta (Jaspers et al., 2017).

Dessa maneira, o controle da carga de treinamento foi desenvolvido para estimar e quantificar o quanto as cargas das atividades impostas durante o treino/ jogo irão refletir sobre as adaptações ao organismo. Estas cargas de treino podem ser classificadas em carga externa e carga interna. A carga externa refere-se as demandas físicas impostas durante as sessões de treinamento e/ou jogo (atividades globais dos jogadores, prescrita por treinadores, são exemplos: tempo, distância percorrida, aceleração). Enquanto a carga interna é caracterizada pelas respostas individuais e biológicas do corpo frente ao estresse imposto pela carga externa, são fatores intrínsecos (variáveis como frequência cardíaca, consumo de oxigênio, percepção subjetiva de esforço, entre outros) (Impellizzeri et al., 2019).

No futebol profissional, a carga de treino externa é monitorada por sistemas eletrônicos de rastreamento de desempenho (ETPS), como os dispositivos de rastreamento de posicionamento global (GPS), sistemas microeletromecânicos, medição de posição local e sistemas de vídeo computadorizados. Eles mensuram medidas de carga externa, como análise de tempo-movimento, potência de saída, distância percorrida, distância percorrida em alta velocidade, player load (combinação das acelerações produzidas nos três principais planos anatômicos, levando à estimativa da carga total), além das acelerações e desacelerações desenvolvidas pelo atleta (Halsen, SL. 2014; Teixeira et al., 2021).

De acordo com Bradley et al. (2009), em um estudo com jogadores da Premier League inglesa observou-se que a distância média percorrida durante uma partida de 90 minutos foi de 10.714m, destes 936m eram corridas de alta intensidade (entre 19,8 e 25,1 km·h⁻¹) e 251m eram sprint (>25,1 km·h⁻¹). A demanda física no futebol abrange predominantemente períodos com atividades de corrida de baixa intensidade, no entanto combinação de ações de aceleração e desaceleração demandam mais gasto energético e são atividades de maior intensidade.

No futebol profissional, o controle da carga externa dos jogadores com as altas exigências do treinamento podem gerar respostas positivas ao desempenho do atleta,

assim como podem levar a prejuízos desportistas levando a queda de rendimento, como ocorre no *overtraining* (Matos et al., 2014). O *overtraining* pode ser entendido como um desequilíbrio entre as cargas de treinamento, geralmente ocasionada sobrecarga (estresse) por altas cargas externas de treinamento que o jogador foi submetido, sem o devido tempo de recuperação para o organismo.

Deste modo, compreender como o estresse fisiológico e psicológico imposto ao jogador de futebol com a intensidade do treino irá impactar no seu corpo através da carga interna é um marcador essencial que define as adaptações induzidas pelo treinamento. Sabendo que, essas respostas diferem de forma individual e coletiva, várias maneiras são utilizadas para monitorar essa carga interna. Dentre as opções de mensuração da carga interna, as medidas objetivas comumente usadas são as medidas de frequência cardíaca, lactato ou consumo de oxigênio, impulso de treinamento (TRIMP), classificações de esforço percebido (PSE), questionários de bem-estar e inventários psicológicos (Teixeira et al., 2021). Além disso, a metabolômica vem se mostrando como uma forte candidata a ferramenta eficaz para estudar a fisiologia do exercício e seu metabolismo associado (Bongiovanni et al., 2022).

Portanto, as cargas de treino externa e interna se relacionam entre si, uma vez que a carga interna resulta em uma consequência do resultado da carga externa de treinamento e as capacidades físicas do atleta em resistir e se recuperar ao estresse imposto no treinamento (Coutts, AJ.; Crowcroft, S.; Kempton, T. 2021). Portanto sabe-se que a carga interna é dependente não somente da carga externa submetida, bem como da alimentação, do estado psicológico, da saúde, do estado de treinamento e da genética, que são fatores individuais que podem ser modificáveis ou não (Scott et al., 2016).

Contudo, é importante haver um equilíbrio entre cargas de treinamento imposta ao jogador e seu período de recuperação, para que ocorra uma melhor resposta adaptativa, prevenção de lesões e melhor aproveitamento do atleta (Bourdon et al., 2017). Justificando assim a necessidade de uma abordagem integrada, carga externa e interna, e o seu emprego associado para fornecer maior percepção do estresse do treinamento, rastreamento e melhor controle das cargas impostas (Impellizzeri et al., 2004).

Além disso, a quantificação das medidas de carga de treinamento sofre influência de uma variedade de fatores, como a localização da partida, a posição do

jogador, as condições climáticas, o tipo de temporada (Asian Clemente et al., 2019). E, compreender como esses fatores irão interferir de maneira positivo ou negativa na carga de treino externo/ interno é essencial para os profissionais envolvidos, tornando-se uma ferramenta indispensável (Curtis et al., 2020).

2.3 Efeito das posições dos jogadores de futebol sobre a carga de treinamento/jogo

As demandas físicas submetidas aos jogadores de futebol diferem entre as partidas, além das diferentes funções táticas e técnicas do jogo, as posições de jogo estabelecem exigências físicas específicas associadas (Di Salvo et al., 2006). A quantificação da carga de treinamento, sejam elas cargas internas e externas, auxiliam na compreensão do desempenho sob os impactos fisiológicos da demanda esportiva, o perfil do jogo, distâncias percorridas, intensidade, sistemas de energia envolvidos, de acordo com a posição do jogador em partidas de futebol profissional (Nobari et al., 2022).

Em relação as diferenças posicionais e o seu desempenho sobre a carga de treinamento, de acordo com o estudo de Morgans et al. (2022), os resultados das equipes estudadas (jogadores profissionais de futebol de campo sênior e sub-18 de um clube do SP) mostraram que os zagueiros centrais tinham uma tendência de manter valores menores para distância total, distância de sprint e número de desacelerações; o meio campista-lateral apresentavam maiores valores na distância total, distância de alta intensidade e distância de sprint; e, o lateral tendia a manter valores mais elevados em acelerações e desacelerações. Essas diferenças entre as cargas submetidas aos jogadores podem se justificar pela natureza e o papel da posição dentro da equipe, assim como pelas estratégias de jogo do treinador.

E, de acordo com Pettersen, AS.; Brenn, T. (2019), os meio-campistas percorreram a maior parte da distância de corrida de alta intensidade (1044,2 m), a maior distância de corrida (224,4 m) e o maior número de acelerações (185,2); zagueiros apresentaram os menores valores para essas atividades (508,3m, 85,1m e 119,0, respectivamente). Os meio-campistas laterais tiveram a maior velocidade máxima ($30,3 \text{ km} \cdot \text{h}^{-1}$) e os zagueiros centrais tiveram a menor velocidade máxima ($28,6 \text{ km} \cdot \text{h}^{-1}$).

Já Palucci et al. (2019), em uma revisão sistemática mostrou que os estudos concordam que medidas de desempenho como distância total percorrida, velocidade máxima de jogo, frequência de sprints, entre outros, dependiam da posição do jogador. Os zagueiros apresentavam menores valores de distância total percorrida e atividades de alta intensidade; meio-campistas e segundos atacantes percorreriam a maior distância total; meio-campistas e atacantes demonstraram velocidades de jogo de pico mais altas e frequência de atividades de alta intensidade. E a associação dos fatores físicos com os fisiológicos demonstraram que o desempenho da corrida foi moderado a fortemente correlacionado com marcadores fisiológicos pós-jogo creatina quinase, lactato desidrogenase, cortisol, interleucina-6.

O desempenho de corrida, assim como as demais métricas de carga externa dos jogadores de futebol é influenciado pela posição de jogo, são medidas importantes para auxiliar no sucesso de programas de treinamento físico específicos de posição, assim como minimizar as demandas fisiológicas impostas sob o corpo, e pensar nas soluções para preservação da saúde do atleta. Devido a variabilidade individual e entre o grupo, ocorrem diferentes respostas fisiológicas sob cargas de treinamento semelhantes (Varley et al., 2017).

A associação da carga externa com metabólitos urinários de jogadores de futebol - entendida aqui como variável de carga interna (adaptação metabólica) – identificou relevância dos metabólitos de hormônios esteróides, metabólitos de hipoxantina, aminoácidos acetilados, intermediários no metabolismo da fenilalanina, tirosina, metabólitos de triptofano e riboflavina. Sendo possível reconhecer vias enriquecidas de biossíntese de hormônios esteróides e o metabolismo da tirosina e do triptofano decorrentes da carga externa imposta pelo treinamento de futebol (Quintas et al., 2020).

Além disso, o limitante do desempenho esportivo durante o jogo é a fadiga, que exige do treinador adequado controle de carga de treinamento durante o treinamento/jogo, e que pode ser observada a partir da redução significativa na capacidade anaeróbica. Após a fadiga decorrente do jogo, os metabólitos sarcosina, L-alotreonina, creatina, serina, ácido succínico, ácido cítrico, ácido 4-hidroxifenilacético, hidroxilamina e etanolamina produzem alterações significativas no corpo e podem ser usados como indicadores para avaliação da fadiga (Guo et al., 2020).

No entanto, o desempenho das posições dos jogadores de futebol sobre a carga de treino interna não é bem elucidado na literatura. Sabe-se que, do ponto de

vista do metabolismo energético, no futebol há uma combinação de exercício aeróbico e anaeróbico e que com o esgotamento energético, ocorre acúmulo de metabólitos, principalmente de vias do metabolismo da glicina-serina-treonina, ciclo do citrato, metabolismo da tirosina, metabolismo do nitrogênio e metabolismo do glicerofosfolípídeo (Cao et al., 2020). Considerando que as cargas externas são diferentes entre jogadores com diferentes funções táticas na equipe, é possível que as respostas obtidas após um jogo em metabólitos relevantes para a fadiga e controle de carga interna também se diferenciem entre as posições de jogo.

2.4 Respostas metabólicas provocadas pela carga externa do futebol

Jogadores de futebol são submetidos a uma variação na intensidade das atividades desempenhadas durante os treinos ou partidas de futebol, combinando metabolismo energético de exercícios aeróbicos e anaeróbicos para a fornecer ATP para contração muscular, e resultando em diferentes vias metabólicas para produção de energia (Alzharani et al., 2020). Portanto, essas respostas metabólicas são afetadas de acordo com a intensidade do jogo, gerando metabólitos específicos (Heaney, LM.; Deighton, K.; Suzuko, T. 2019).

A metabolômica ou, “esportômica” como vem sendo discriminada ao falar das diferentes ciências “ômicas” aplicadas ao esporte, representa um mecanismo inovador para explicar a fisiologia e o metabolismo associado ao exercício e relevantes para a saúde (Johnson, CH.; Ivanisevic, J.; Siuzdak, G. 2016). Sendo assim, a metabolômica tem potencial para monitorar as respostas fisiológicas impostas aos jogadores (carga interna), de acordo com as exigências físicas do jogo (carga externa), que variam com as particularidades individuais (Pérez-Castillo et al., 2023).

Diante disso, a carga de treinamento (interna e externa) pode ser influenciada por várias situações, assim como pelas variáveis contextuais do jogo, como o local do jogo, status da partida e função do jogador que modificam a carga externa do jogador. Estas variáveis situacionais exercem impacto sobre o desempenho do atleta (Reche-Soto et al., 2019).

De acordo com Enea et al. (2010), os efeitos do exercício agudo a curto (teste anaeróbico de exercício intensivo de curta duração) e a longo prazo (75% de seu consumo máximo de oxigênio até a exaustão), em mulheres, através da análise metabolômica urinária por RMN permitiu identificar alterações metabólicas

relacionadas a bioenergética muscular. Estas alterações foram atribuídas aos sistemas glicolíticos e ATP-CP após exercício intenso e de curta duração, podendo sugerir a ativação do catabolismo de purinas e produção de ácido láctico. Além disso, N-óxido de trimetilamina (TMAO) foi detectado na urina em um nível muito baixo tanto em repouso quanto após o exercício, representando um biomarcador de lesão renal medular isquêmica, indicando que nossos indivíduos não tiveram modificações em sua função renal.

A análise dos perfis metabólicos da urina e dos dados EPTS de 80 jogadores profissionais de futebol masculinos, em um estudo longitudinal observacional, identificou entre as variáveis mais relevantes associadas à carga externa os metabólitos urinários de hormônios esteroides, metabólitos de hipoxantina, aminoácidos acetilados, intermediários no metabolismo da fenilalanina, tirosina, metabólitos de triptofano e riboflavina. Esses achados revelam uma associação entre carga externa e perfil metabólico urinário com alteração de vias bioquímicas associadas à adaptação ao treinamento em longo prazo (Quintas et al., 2020).

Um estudo analisou o mecanismo metabólico em jogadores de futebol adolescentes durante a fadiga induzida pelo exercício, e identificou que jogadores de futebol adolescentes apresentam uma diminuição significativa na capacidade anaeróbica após a fadiga (Cao et al., 2020). Demonstrando ainda, que existem alterações em cinco vias metabólicas em jogadores de futebol adolescentes após o exercício: metabolismo da glicina-serina-treonina, metabolismo do ácido tricarboxílico, metabolismo da tirosina, metabolismo do nitrogênio e metabolismo do glicerol fosfolipídico. Dessa maneira, os impactos do jogo de futebol em jogadores adolescentes podem ser resumidos como três tipos de metabolismo: metabolismo proteico, metabolismo do ciclo do ácido tricarboxílico e metabolismo lipídico (Cao et al., 2020).

Já Alzharani et al. (2020) mostrou que muitos metabólitos foram afetados em resposta ao treinamento de curto prazo em jovens jogadores profissionais de futebol. As alterações apontadas por esse estudo ocorreram a partir de aumento nas acilcarnitinas - que estão envolvidas na oxidação de ácidos graxos - após o treino em dois dias, sugerindo que indivíduos altamente treinados queimam gordura em vez de glicose em uma mesma intensidade absoluta. E, além disso, os metabólitos das purinas e carnitina aumentaram ligeiramente. A carnitina no plasma pós-exercício podem fornecer um importante indicador de aptidão física, e a redução da atividade

de transporte da carnitina, recentemente tem sido associada ao aumento da fragilidade na velhice (ALZHARANI, et al. 2020).

Outro estudo avaliou as alterações metabólicas urinárias em atletas de elite de uma equipe brasileira sub- 20 em amostras coletadas logo após e 20 horas após duas partidas de futebol (Marinho et al., 2022). Os resultados obtidos mostraram que atletas com classificações de esforço percebido de esforço (PSE) mais altas têm mais variações metabólicas relacionadas ao dano muscular e ao metabolismo energético em comparação com atletas com uma PSE mais baixa. Os jogadores com maior PSE apresentaram alto perfil de metabólitos relacionados ao dano muscular, a creatina, creatinina e glicina; e a creatina, formato, piruvato, 1,3 diidroxiacetona, que estão relacionados a produção de energia (Marinho et al., 2022).

Diante do exposto, é possível inferir que a metabolômica pode identificar alterações fisiológicas decorrentes da carga externa, monitorar a adaptação ao exercício, fornecendo informações importante sobre a saúde do atleta, fadiga, e desempenho físico. Dados, importantes e úteis para jogadores de futebol profissional, assim como para outros esportes competitivos (Rodas et al., 2022).

MATERIAL E MÉTODOS

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Tipo de Estudo

Trata-se de um estudo descritivo observacional longitudinal.

3.2 Participantes

Participaram deste estudo, doze jogadores de futebol profissional, que tinham contrato profissional registrado na confederação brasileira de futebol (CBF) e que jogavam o campeonato paulista sub-20 de clubes, com média $\pm$ DP de idade, altura e massa de $18,91 \pm 0,82$ anos; $179,89 \pm 7,40$ cm; $71,92 \pm 7,06$ kg, respectivamente. Os jogadores incluídos atenderam os seguintes critérios básicos: serem do sexo masculino, com idade entre 18 e 20 anos, contrato de atleta profissional de futebol, sem lesão ou tratamento fisioterapêutico. Os jogadores foram distribuídos nas seguintes posições de jogo: dois zagueiros central (ZC), dois laterais (LA), três meio-campistas central (MC), dois meio-campistas aberto ou lateral, (MA) e um atacante (AT). Os goleiros não foram incluídos neste estudo devido a carga de treinamento e suas características físicas específicas de jogo serem diferentes dos jogadores de campo. Todos os jogadores incluídos nessa análise eram titulares ou reservas com entrada frequente e tempo de jogo significativo (≥ 45 minutos por partida), considerados pela comissão técnica como o grupo principal de treinamento (G1). Foram excluídos da análise os jogadores reservas que não apresentaram tempo de jogo significativo por comporem um outro grupo de treinamento, cuja rotina de treino era diferente do G1.

A todos os jogadores foi apresentado o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) para assinatura e consentimento para o desenvolvimento da pesquisa (Apêndice A). O estudo foi realizado de acordo com os requisitos da Declaração de Helsinque, faz parte de um projeto universal e foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal de Alagoas (UFAL) sob o número de CAAE 55909822.5.0000.501.

3.3 Desenho do estudo

O estudo foi conduzido de forma observacional, sem intervenção, durante sete semanas (setembro 2022 a outubro 2022) nas quais os jogadores foram submetidos a sessões de treinamentos e as sete partidas durante a 3^a. e 4^a. Fase classificatória e Fase Semifinal do Campeonato Paulista de Futebol categoria sub-20 da temporada de 2022. A programação entre a sessões de treinamento e jogos foi planejada e aplicada pela comissão técnica do clube seguindo calendário de jogos elaborado pela Federação Paulista de Futebol. Durante as sessões diárias de treinamentos e durante as partidas foram obtidos dados como: tempo de treinamento (em min), tipo de treinamento (físico, técnico ou tático), intensidade de carga de treinamento de cada atleta (carga externa).

Na primeira visita foi apresentado aos jogadores a finalidade e o protocolo de aplicação da pesquisa, a leitura do TCLE, e os jogadores que aceitaram participar do estudo realizaram a assinatura do TCLE. Durante o período de sete semanas, que foram constituídas com 1 partida por semana, foram realizadas coletas de 25 ml de urina 24 horas após a partida, ou seja, antes da primeira sessão de treinamento que sucedeu a última partida (MD +1), para análise do impacto metabólico e das respostas metabólicas dos jogadores as partidas. A Figura 1 descreve este desenho de estudo.

Para fins do presente estudo, foram consideradas todos os dados de pós partidas de jogos realizados com os jogadores titulares, que iniciaram a partida (Grupo 1). Os jogadores eram caracterizados em três diferentes grupos (G1, G2 e G3), de acordo com a convocação e participação (minutos jogados) nas partidas. A média de tempo total das partidas foi de $97,12 \pm 2,53$ min. Além disso, todos os jogadores tiveram quatro folgas durante a temporada, e foram submetidas as mesmas sessões de treinamento até o dia que antecede a partida (MD -1). No dia posterior a partida (MD +1), os jogadores do grupo 1, ou que participaram de pelo menos 45 minutos na partida, foram submetidos a um treinamento recuperativo na sala de musculação. A análise usou todos os jogadores, e foi aprofundada excluindo os dados referentes as posições de jogo MA e AT, quando aplicamos a análise multivariada supervisionada do PLS-DA para discriminar a posição de jogo dos jogadores de futebol em relação as variáveis de carga externa, devido à disposição e a homogeneidade dos dados, continuamos as análises apenas com os outros 3 grupos; além disso foram excluídos dados referentes ao jogo 3, pelo fato da coleta de urina, para análise metabolômica, ter sido realizado somente 48h após a partida, questões de logística (a folga dos jogadores aconteceu no dia seguinte ao jogo, e não houve disponibilidade para coleta

de urina). A amostra total correspondeu a 49 observações individuais de dados de carga treinamento (externa e interna) por posição de jogo (ZC= 9; LA=9; MC=14; MA=12; AT=5) resultantes da análise dos pós jogo das seis partidas da temporada.

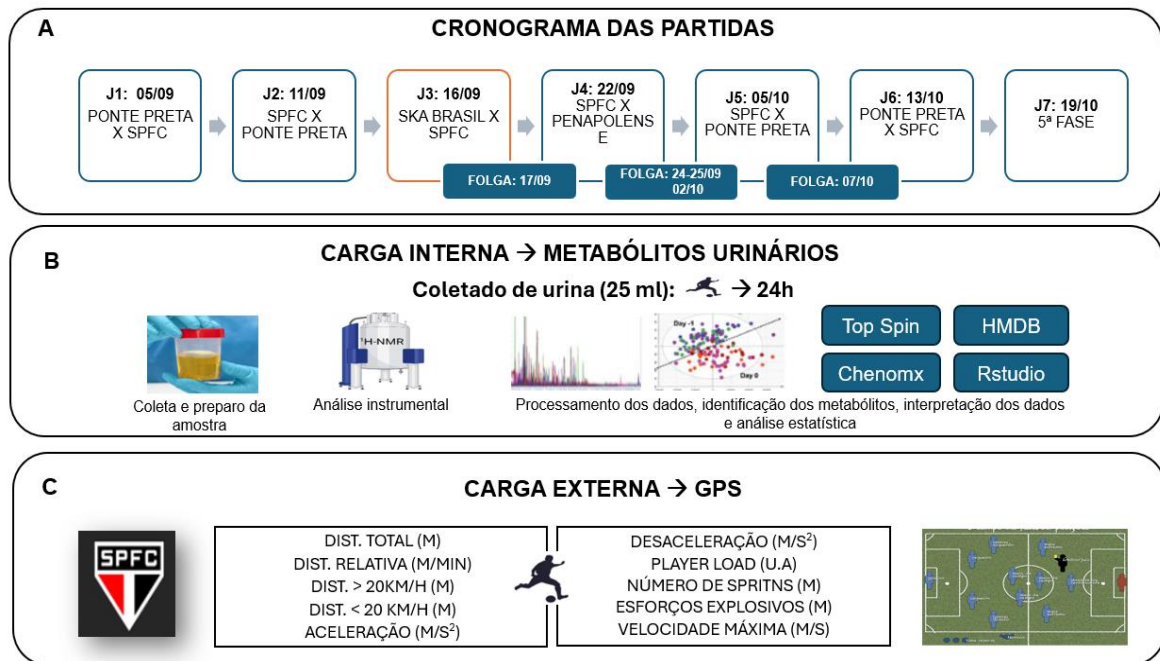


Figura 1. Representação do desenho experimental do estudo. (A) Cronograma das partidas do Fases classificatória e Fase Semifinal do Campeonato Paulista de Futebol categoria sub-20 (setembro a outubro 2022), entre as partidas ocorriam treino diariamente e períodos de folga. O J3, encontra-se em vermelho por ter sido excluído da amostra. (B) Processamento da amostra de urina, coletado 24 horas após o jogo para a análise dos metabólitos urinários, realizada através de RMN para posterior processamento, análise, identificação dos metabólitos e interpretação dos dados. (C) Carga externa coletada através dos sistemas de GPS por posição de jogo durante a temporada. J1: jogo 1; J2: Jogo 2; J3: jogo 3; J4: jogo 4; J5: jogo 5; J6: jogo 6; J7: jogo 7.

3.4 Determinação da carga externa de treinamento das partidas

Para determinação das cargas externa das atividades, todos os jogadores utilizaram durante todas as sessões de treinamento e as partidas da temporada um aparelho *ground positional system* (GPS) da marca CATAPULT modelo OPTIMEYE S7 (Catapult, OPTIMEYE S7, Melbourne, Austrália), que forneceu informações de cargas externas como a distância total percorrida (m), distância relativa (m/min), *player load* (intensidade de carga de treinamento individual do jogador, expressa em u.a.), distância total percorrida em alta intensidade (m; distância total percorrida acima de 20 km/h), distância de sprints (m; > 25,0 km/h), velocidade máxima (m/s), esforços explosivos (m; distância percorrida com aceleração superior a 1,12 m/s²),

acelerações (m/s^2 ; $> 2,0 \text{ m/s}^2$), desacelerações (m/s^2 ; $< -2,0 \text{ m/s}^2$) e distância total percorrida abaixo de 20 km/h (m).

Este procedimento e a utilização do aparelho GPS fazem parte da rotina diária de monitoramento do treinamento das categorias de base e equipe profissional do mesmo clube. Ao término de cada sessão de treinamento e das partidas os dados coletados pelo aparelho são transferidos para um software desenvolvido pelo fabricante do equipamento (Open Field Console), fornecendo as métricas individuais de deslocamento desenvolvidas pelos jogadores em uma planilha, assim como, os valores das médias do grupo para cada métrica analisada.

3.5 Determinação da carga interna de treinamento das partidas

3.5.1 Coletas de urina

Para determinar a carga interna de treinamento eram realizadas coletas de urina com a finalidade de realizar as análises metabólicas urinárias dos jogadores. Elas foram realizadas a partir da Terceira Fase Classificatória do Campeonato Paulista sub-20 de Futebol 2022. Foram coletados 25 ml da primeira urina 24 horas após cada partida durante 7 semanas, ou seja, antes da primeira sessão de treinamento após a partida (MD +1) realizada ao fim de um microciclo de treinamento para posterior análise e verificação da presença de metabólitos. As amostras foram coletadas nos momentos pós partidas, e eram imediatamente congeladas a temperatura entre -20°C e -80°C em compartimento térmico preparado e enviadas por via aérea ao Departamento de Química da Universidade Federal de Alagoas para análise.

Os jogadores receberam orientação para evitar a ingestão de qualquer tipo de bebida alcoólica ou realizar qualquer tipo de atividade física durante este período de pelo menos 24 horas antes da coleta desta amostra. Para coleta das amostras de urina foi distribuído para cada jogador do elenco um coletor universal Needs, que recebiam a orientação sobre a liberdade de interromper a coleta caso não se sentissem confortáveis, não sentissem o desejo de urinar ou não conseguissem urinar a quantidade suficiente para análise (25ml).

3.5.2. Preparação da amostra e análise metabolômica

As amostras de urina foram levadas ao Núcleo de Análise e Pesquisa em Ressonância Nuclear Magnética do Instituto de Química e Biotecnologia da Universidade Federal de Alagoas para análise, cuja técnica utilizada foi a abordagem metabolômica não direcionada/ global. A análise foi realizada através de um equipamento de ressonância nuclear magnética (RMN) comandado por um espectômetro BRUKER 600 MHz (AVANCE III), que possui uma sonda de 5 mm a 300 K (PABBO) com a sequência de pulso: noesygppr1d. Dos 25 ml coletados após a partida, alíquotas de 1,5 ml foram retiradas e transferidas, individualmente, para tubos Eppendorf para serem centrifugadas a 14.000 rpm (Hettich Zentrifugen, ROTANTA 460R) por 15 minutos e o sobrenadante foi transferido e armazenado em um freezer, a temperatura -80°C, para posterior análise. Em seguida, para o processo de análise, a centrifugação de 500 µL do sobrenadante de cada amostra foi transferido para um tubo de RMN de 5mm, e a cada amostra foram adicionados 200 µl de uma solução tampão (fosfato de sódio, pH = 7,4) com 100% de D₂O e 1 mM de TSP (padrão de deslocamento) durante 20 minutos no espectrômetro BRUKER AVANCER, dotado de magneto supercondutor, operando a 600MHz para análise de hidrogênio, com sonda de banda-larga de 5mm PABBO a 300K. Quanto à supressão do sinal da água, foi feita pré-saturação seguindo os seguintes parâmetros: NS: 128 (número de scans); D1: 4,00 s (tempo entre os scans); TD: 64K (número de pontos do espectro); SW: 20 ppm (largura da janela); O1P: 4,69 ppm (posição onde aparece o sinal referente a água e, portanto, é irradiada); AQ: 5,11 s (tempo de aquisição).

Além disso, os espectros foram obtidos pelo software específico TopSpin® 3.6.5, a identificação dos picos dos metabólitos ocorreu através do Chenomx®, e a confirmação ocorreu com base na Human Metabolome Database (HMDB) (www.hmdb.ca). O pré-processamento se deu através do Software R (versão 4.2.2) (utilizando o pacote PepsNMR versão 3.17), e envolveu os processos de sobreposição, alinhamento e quantificação dos espectros. Após isto, os dados obtidos foram transferidos para o Excel®, formando uma tabela onde as amostras estavam identificadas em linhas e os 38 metabólitos encontrados, em colunas.

3.6 Análise estatística

Os dados foram apresentados como mediana e média $\pm$ desvio padrão. A análise foi realizada no software RStudio, versão 13. Foi realizado ANOVA como teste de hipótese para avaliar os efeitos da posição dos jogadores do sub-20 e sua interação nos dados de carga externa de treinamento e efeitos sobre o perfil metabólico. Quando houve efeito significativo da posição de jogo, foram realizadas comparações post-hoc de Tukey para verificar quais posições eram diferentes. A significância estatística foi fixada em $p < 0,05$.

Em relação à análise metabolômica, foram utilizadas funções estatísticas multivariadas, que geraram gráficos de scores e loading da análise discriminante por mínimos quadrados parciais (PLS-DA) para classificar e discriminar a posição de jogo com variáveis de carga externa (GPS) e interna (metabólitos urinários) após os jogos seis jogos do campeonato. Além disso, estes gráficos geram um escore que destaca a importância da variável da projeção (VIP-score). Assumimos como valores relevantes as variáveis de GPS que tinham $VIP > 0,8$; enquanto para os metabólitos urinários, por conta do número de variáveis, $VIP > 1,0$.

Foram gerados também, análises integrativas com gráfico de scores da análise de Block PLS-DA, mostrando a comparação entre as variáveis de carga externa (GPS) e carga interna (metabolômica urinária), no software RStudio. Ainda, foi gerado gráfico de correlação de Pearson, que relacionaram os 38 metabólitos com as variáveis de carga externa (GPS) encontrados nas amostras dos atletas após os seis jogos do campeonato. Nesse último, as escalas de cores representam as correlações positivas (vermelho) e negativas (azuis), e as significâncias são representadas pelos asteriscos: $*p < 0,05$, $**p < 0,01$, $***p < 0,001$.

Por fim, para comparar as variáveis de carga externa com os metabólitos pertencentes às amostras dos seis jogos e de acordo com a posição dos jogadores, foi gerado um gráfico chamado Circus Plot, de análise PLS-DA, utilizando-se um ponto de corte de 50% para as correlações ($r=0,5$), no qual é possível verificar correlações positivas (linhas vermelhas) e negativas (linhas azuis) e a intensidade das correlações através da espessura de tais linhas.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

4. Resultados

4.1. Descrição da carga externa de treinamento nas posições de jogo

Na Figura 2, podemos observar valores descritivos de intervalos interquartis das variáveis de carga externa em jogadores de futebol profissional do sub-20 por posição de jogo.

Quando comparamos os dados de carga externa obtidos através do GPS com a posição de jogo, as métricas de carga externa de treino foram diferentes em relação a posição de jogo, de modo que, o grupo MC apresentou os maiores valores de: distância total, apresentando diferença significativa para o grupo MA ($9.193,21 \pm 1.261,35$ m vs. $6777,92 \pm 1506,15$ m; $p=0,001$); distância relativa para os grupos MA, LA e ZC ($114,29 \pm 7,67$ m/min vs. $111,08 \pm 6,86$ m/min vs. $107,44 \pm 7,92$ m/min vs. $96 \pm 8,31$ m/min, respectivamente; $p= 0,000$); player load para ZC e MA ($945,71 \pm 135,82$ u.a. vs. $749,78 \pm 131,27$ u.a. vs. $670,67 \pm 157,07$ u.a., respectivamente; $p= 0,001$); e ainda de distância abaixo de 20 km/h para MA ($8702,93 \pm 1271,89$ m vs. $6306,58 \pm 1404,94$ m; $p= 0,001$). Enquanto, o grupo ZC apresentou maiores valores de velocidade máxima, com diferença significativa para o grupo de MC ($31,78 \pm 1,20$ m/s vs. $29,07 \pm 1,94$ m/s; $p= 0,035$). LA apresentou maiores valores de distância de sprints se comparado ao MC ($168,11 \pm 91,69$ m vs. $86,86 \pm 55,99$ m; $p= 0,065$), embora não tenha sido encontrado diferença significativa. Dados apresentados em média $\pm$ desvio padrão, estando expressos na Tabela 1.

Por sua vez, quando comparamos a amostra inteira ao longo de seis jogos do campeonato com as variáveis de carga externa (Figura 3), encontramos diferença estatisticamente significativa apenas para a variável de esforços explosivos ($p=0,033$) entre o jogo 2 com os jogos 4, 6 e 7, sem diferenças para as demais variáveis do GPS. Tais resultados podem ser justificados pela natureza do jogo e ressalta a importância do papel da posição dentro da equipe, apesar de serem jogos diferentes o desempenho do time entre os jogos não diferiu.

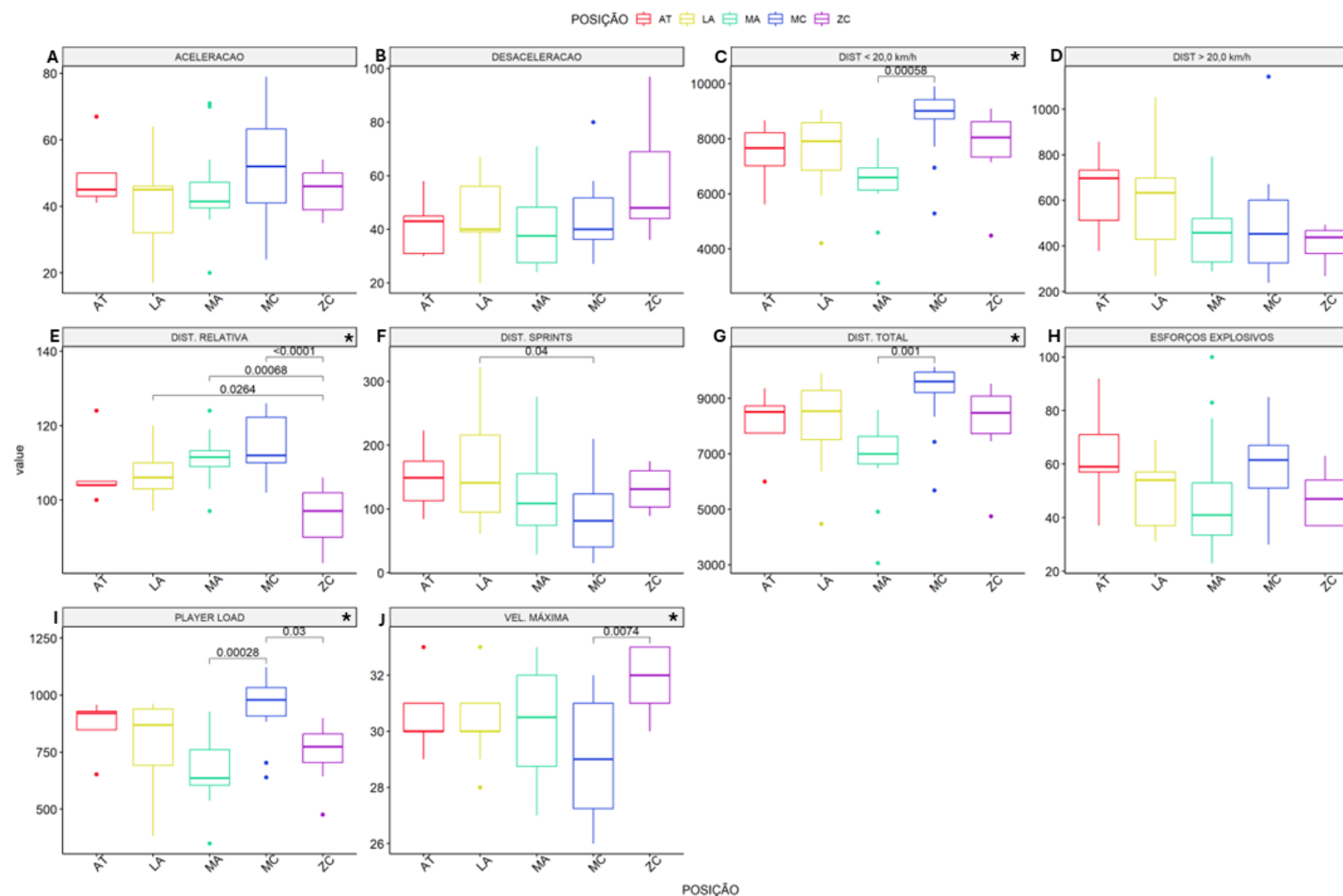


Figura 2. Gráfico de variáveis de carga externa por posição de jogo. (A) aceleração, (B) desaceleração, (C) distância em alta intensidade, (D) distância abaixo de 20 km/h, (E) distância relativa, (F) distância sprints, (G) distância total, (H) esforços explosivos, (I) player load, (J) velocidade máxima. LA: Lateral; MC: Meio-campo central; MA: Meio-campo aberto; ZC: zagueiros centrais; AT: Atacante. *Indica uma diferença significativa entre as posições ($p < 0,05$), os colchetes representam as comparações pareadas no post-hoc.

Carga externa (GPS)	Posição de jogo					
	AT (N=5)	LA (N=9)	MA (N=12)	MC (N=14)	ZC (N=9)	p
Dist. total (m)	8070±1294.67	8016.67±1719.3	6777.92±1506.15 ^a	9193.21±1261.35 ^a	8106.89±1431.50	0,001
Dist. relativa (m/min)	107.40±9.48	107.44±7.92 ^a	111.08±6.86 ^a	114.29±7.67 ^a	96±8.31 ^a	0,000
Player load (u.a.)	861.60±123.98	801.78±188.21	670.67±157.07 ^a	945.71±135.82 ^a	749.78±131.27 ^a	0,001
Dist. alta int > 20 km/h (m)	635.20±189.55	591.67±255.73	471.33±167.69	490.29±239.62	405.78±78.06	0,220
Dist. Sprints (m)	148.80±54.02	168.11±91.69 ^b	123.92±72.19	86.86±55.99 ^b	129.56±30.40	0,065
Velocidade máx. (m/s)	30.60±1.52	30.33±1.41	30.33±2.19	29.07±1.94 ^c	31.78±1.20 ^c	0,035
Esforços Explosivos (m)	63.20±20.20	49.56±13.78	49.08±24.07	59.57±14.77	46.67±9.15	0,110
Aceleração (m/s ²)	49.20±10.50	41.11±15.68	45.17±14.15	51.36±15.44	45.11±6.55	0,580
Desaceleração (m/s ²)	41.40±11.50	46.33±14.98	39.92±13.99	44.71±13.53	56.22±19.82	0,230
Dist. abaixo de 20 km/h (m)	7434.80±1188.19	7425±1591.40	6306.58±1404.94 ^a	8702.93±1271.89 ^a	7701.11±1363.95	0,001

Tabela 1. Dados da Carga de Treinamento Externo por posição de jogo durante as seis partidas do campeonato. AT: atacante; LA: lateral; MA: meio de campo aberto; MC: meio de campo central; ZC: zagueiro central. Valores expressos em média ± desvio padrão. p = p valor (p<0,05). ^a diferença para o grupo MC; ^b diferença para o grupo LA; ^c diferença para o grupo ZC; comparação post-hoc de Tukey.

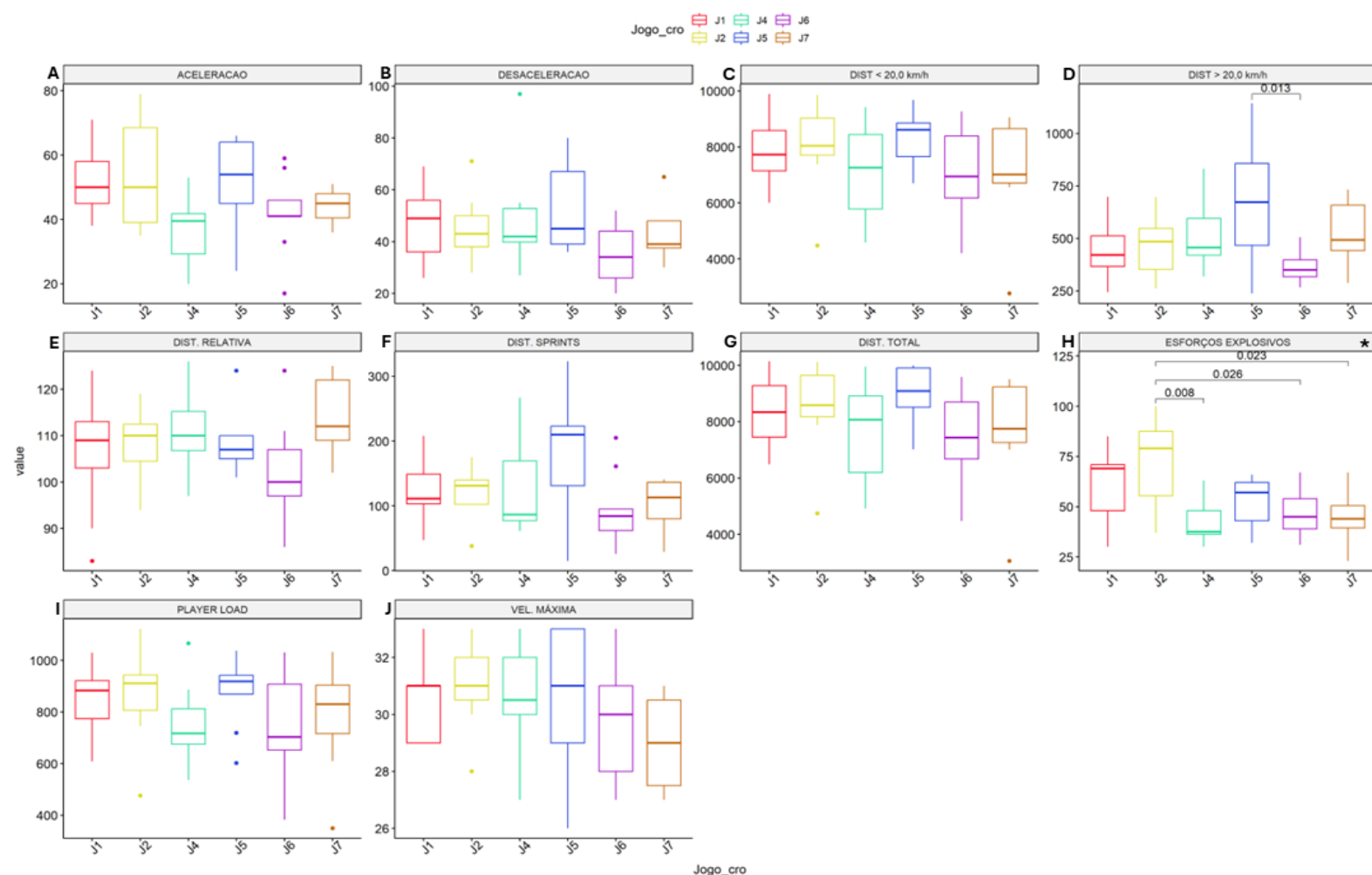


Figura 3. Gráfico de comparação das variáveis de carga externa nos seis jogos do campeonato. (A) aceleração; (B) desaceleração; (C) DIST < 20 km/h: distância em alta intensidade; (D) DIST > 20 km/h: distância acima de 20 km/h; (E) DIST. RELATIVA: distância relativa; (F) DIST. SPRINTS: distância sprints; (G) DIST. TOTAL: distância total; (H) esforços explosivos; (I) player load; (J) VEL. MÁXIMA: velocidade máxima. Em vermelho: jogo 1 (J1); amarelo: jogo 2 (J2); verde: jogo quatro (J4); azul: jogo cinco (J5); lilás: jogo seis (J6); ouro: jogo sete (J7). *Indica uma diferença significativa entre as posições ($p < 0,05$), os colchetes representam as comparações pareadas no post-hoc.

A análise multivariada supervisionada do PLS-DA foi aplicada para discriminar a posição de jogo dos jogadores de futebol em relação as variáveis de carga externa (GPS) após os seis jogos do campeonato, como observado na Figura 4. As posições de jogo de MA e AT apresentaram a maior variação entre os jogos, não conseguindo uma homogeneidade que caracterize esses grupos (Figura 4A). Foram encontradas diferenças entre as posições de MC com ZC e LA, e, baseado nos valores de VIP-scores, os parâmetros de carga externa mais importantes na discriminância dos grupos são a velocidade máxima, distância de sprints, distância relativa, distância total, distância abaixo de 20 km/h e player load. Por outro lado, a variável de distância em alta intensidade, aceleração, esforços explosivos e desaceleração apresentaram menores valores de VIP-scores, sendo menos capazes de discriminar os grupos, de acordo com as semelhanças da posição de jogo e as variáveis de carga externa observados nos loading-plot e na pontuação de VIP (Figura 4B). Sendo assim, optamos por aprofundar a análise e refazer os PLS-DA sem os dois grupos mais heterogêneos de posição de jogo, MA e AT, considerando que as amostras desses dois grupos sobrepõem às demais posições. A análise sem estes grupos pode tentar explicar melhor os achados de carga externa de acordo com a posição de jogo e sua associação com a metabolômica urinária.

Conforme a análise realizada utilizando PLS-DA, incluindo apenas MC, LA e ZC, e as variáveis de carga externa (GPS) após os seis jogos do campeonato, como descrito na Figura 5, nota-se que, os MC se diferenciam dos ZC, e os LA se diferenciam do MC e dos ZC, mas ainda se tangenciam (Figura 5A). Podemos ainda ver a relevância das variáveis de carga externa após os jogos de acordo com a posição no gráfico de loading e os valores de importância da variável estimados pelo VIP-score, que mostram associação mais intensa entre os jogadores de MC com a variável de distância relativa, esforços explosivos, player load, distância total e distância abaixo de 20 km/h; os ZC com a velocidade máxima, distância de sprints e desaceleração; enquanto, o LA não está bem caracterizado, apresenta um perfil intermediário entre os dois grupos, não há uma variável de peso importante que discrimina este grupo (Figura 5B).

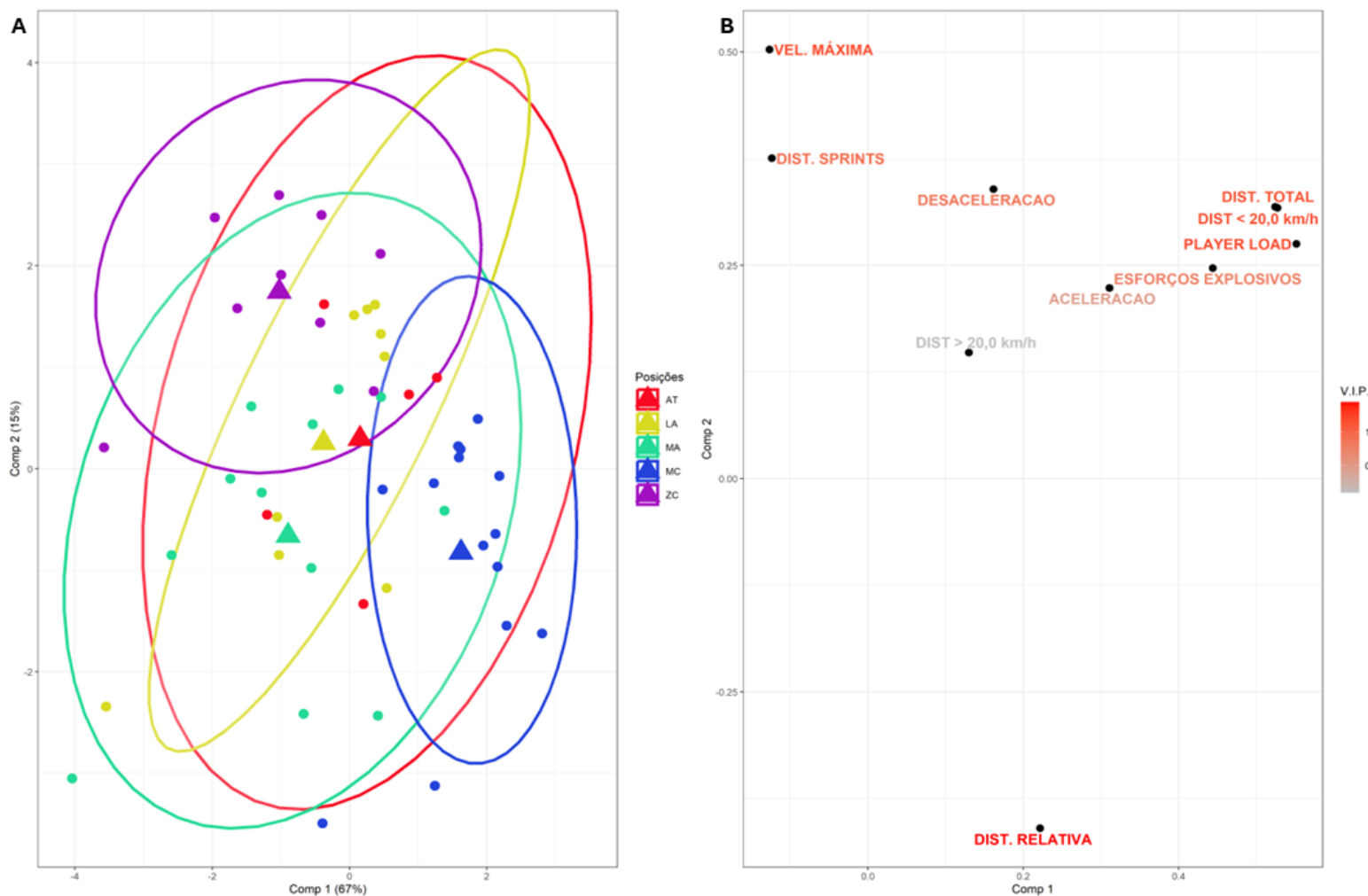


Figura 4. Gráficos de scores e loadings da análise PLS-DA mostrando as principais características que discriminam a posição de jogo e os dados de carga externa (GPS). As cores representam as diferentes posições de jogo no time de futebol (vermelho: AT; amarelo: LA; verde: MA; azul: MC; lilás: ZC), cada ponto representa um jogador e os triângulos a média de cada grupo, respectivamente (painel A). Ao lado, no gráfico de loading estão as variáveis de carga externa e suas representatividades em cada posição de jogo, além de um gradiente de cores destacando a importância de cada variável para a projeção de acordo com o VIP-score (painel B).

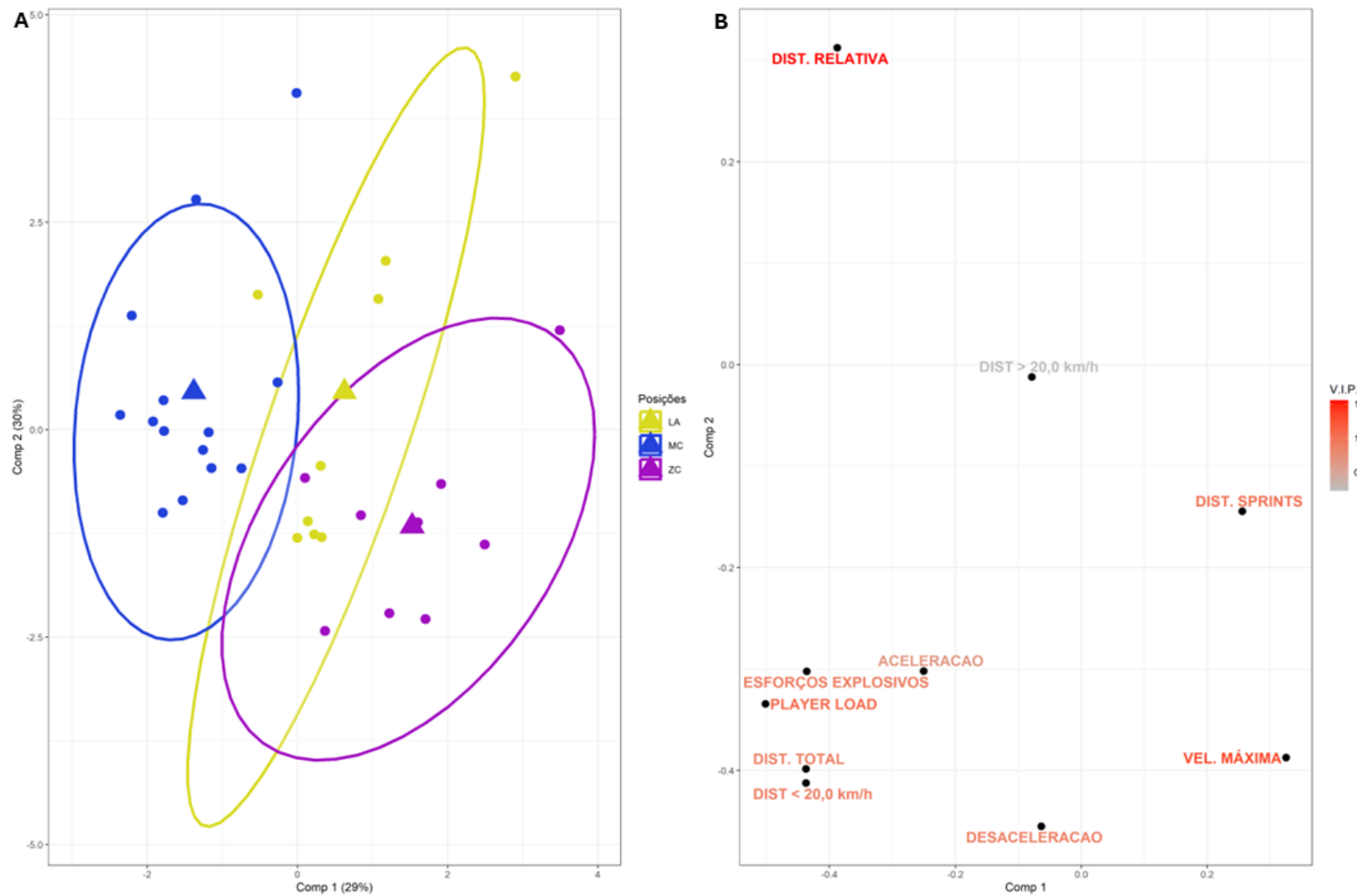


Figura 5. Gráficos de scores e loadings da análise PLS-DA mostrando as principais características que discriminam as posições MC, ZC, LA e os dados de carga externa (GPS). As cores representam as diferentes posições de jogo no time de futebol (azul: MC; amarelo: LA; lilás: ZC), cada ponto representa um jogador e os triângulos a média de cada grupo respectivamente (painel A). Ao lado no gráfico de loading estão as variáveis de carga externa e suas representatividades em cada posição de jogo, além de um gradiente de cores destacando a importância de cada variável para a projeção de acordo com o VIP-score (painel B).

4.2. Descrição metabolômica urinária e sua associação com a carga externa nas posições de jogo

Foram identificados 38 metabólitos após as análises metabolômicas, através das análises de urina por RMN 24 horas após os jogos, listados na Tabela 2 com suas respectivas pontuações na escala VIP. Dentre eles, com base na separação entre os grupos no gráfico de loading (Figura 6), 10 metabólitos ($VIP > 1,0$) mostraram-se mais relevantes para as variáveis estudadas: metilguanidina, trimetilamina, 4-hidroxifenilacetico, piruvato, glicose, formato, glicina, dimetilglicina, tirosina e uracil.

Metabólitos	VIP	Metabólitos	VIP
Uracil	1.75	Succinato	0.79
Tirosina	1.72	Citrato	0.78
Dimetilglicina	1.58	3-Metilhistidina	0.77
Glicina	1.58	trans-Aconitato	0.73
Formato	1.57	Ácido Malônico	0.73
Glicose	1.55	3-Aminoisobutirato	0.69
Piruvato	1.54	Creatinina	0.69
4-Hidroxifenilacetico	1.46	Creatina-Creatinina	0.68
Trimetilamina	1.44	Dimetilamina	0.65
Metilguanidina	1.24	Ureia	0.61
Histidina	0.99	Isobutirato	0.61
Tartrato	0.98	Taurina	0.59
pi-Metilhistidina	0.96	Hipurato	0.53
Dimetilsufone	0.94	3-Hidroxivalerato	0.48
Guanidinoacetato	0.93	Ácido Metilurico	0.36
2-Hidroxiisobutirato	0.83	TMAO	0.34
Lactato	0.81	Anserina	0.28
Alanina	0.81	Trigonelina	0.27
Metilamina	0.8	Leucina	0.12

Tabela 2. Tabela das pontuações da VIP dos metabólitos urinários com suas respectivas pontuações.

A partir disso, foi realizada a análise utilizando PLS-DA para a separação das posições de jogo relacionadas a carga interna, representada pelos metabólitos observados na urina após os seis jogos do campeonato, conforme apresentado na Figura 6. Podemos observar no painel de loadings (Figura 6, painel B) uma associação entre MC com os metabólitos uracil, 4-hidroxifenilacetico, metilguanidina, trimetilamina, dimetilglicina e glicose; LA com glicose, tirosina e formato; e, o ZC com tirosina, formato, piruvato e glicina. Indicando mudanças no perfil metabolômico urinário do metabolismo dos carboidratos e ciclo de TCA, aminoácidos e peptídeos, piridiminas, nas vias de corpos cetônicos, discriminando os perfis metabólicos de

recuperação após jogo. De modo que, os perfis metabólicos de MC estão mais relacionados ao dano muscular, marcadores inflamatórios, e de LA e ZC com o metabolismo energético e estresse oxidativo.

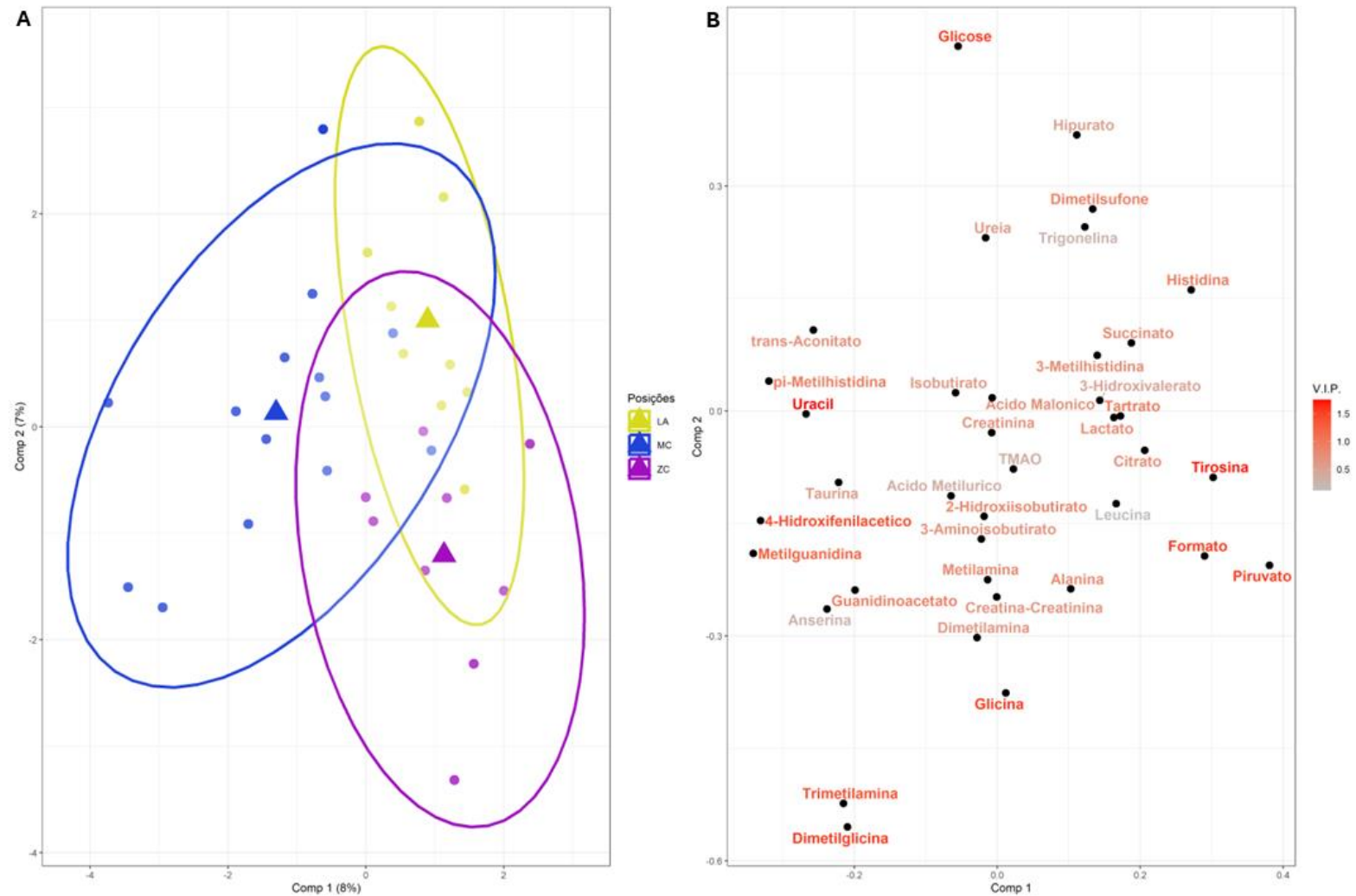


Figura 6. Gráficos de scores e loadings da análise PLS-DA mostrando as principais características que discriminam as posições de jogo, dados de carga externa (GPS) e metabolômica urinária. As cores representam as diferentes posições de jogo no time de futebol (azul: MC; amarelo: LA; lilás: ZC), cada ponto representa um jogador e os triângulos a média de cada grupo respectivamente (painel A). Ao lado no gráfico de loading estão os metabólitos urinários e suas representatividades em cada posição de jogo, além de um gradiente de cores destacando a importância de cada variável para a projeção de acordo com o VIP-score (painel B).

4.3. Análise integrativa das variáveis de carga interna e externa

Quando comparamos as variáveis de carga externa, obtidas através do GPS, com a carga interna (metabólitos urinários) por posição de jogo após os jogos do campeonato (Figura 7), podemos identificar um comportamento semelhante entre as projeções das posições, exceto pela dispersão do MC. A similaridade observada entre as projeções das variáveis de carga externa e interna para a maioria das posições de jogo sugere que, os jogadores de diferentes posições, apresentam respostas metabólicas que correspondem bem à carga física que experimentam durante o jogo.

Enquanto, na figura 8, correlacionamos estas mesmas variáveis do estudo em um gráfico de correlação de Pearson, que mostra quais correlações foram significativas entre si. De modo que, entre os metabólitos mais relevantes para as variáveis do estudo, encontramos correlações positivas entre: glicose com distância relativa ($p < 0,01$); 4-hidroxifenilacetato com distância total, esforços explosivos, desaceleração e distância abaixo de 20 km/h, ambos com ($p < 0,05$); e uracil com distância relativa ($p < 0,05$). Enquanto as correlações negativas ocorreram entre trimetilamina e dimetilglicina com velocidade máxima ($p < 0,05$); e a glicose com aceleração ($p < 0,01$).

Além disso, foi gerado também uma análise de similaridade análoga ao coeficiente de correlação de Pearson por meio da integração dos dados pelo modelo Block PLS-DA, representado no gráfico de Circus Plot (Figura 9), utilizando-se um ponto de corte de 50% para as correlações ($r = 0,5$), capaz de mostrar a força de correlação entre as variáveis de carga externa (GPS) e interna (metabólitos) nas posições de jogo. A análise de Circus plot demonstrou conexões positivas entre dimetilglicina com player load; trimetilamina com distância total; metilguanidina com distância total, esforços explosivos, distância abaixo de 20km/h, aceleração e player load; e conexões negativas ocorrem somente entre a glicose com a desaceleração e velocidade máxima.

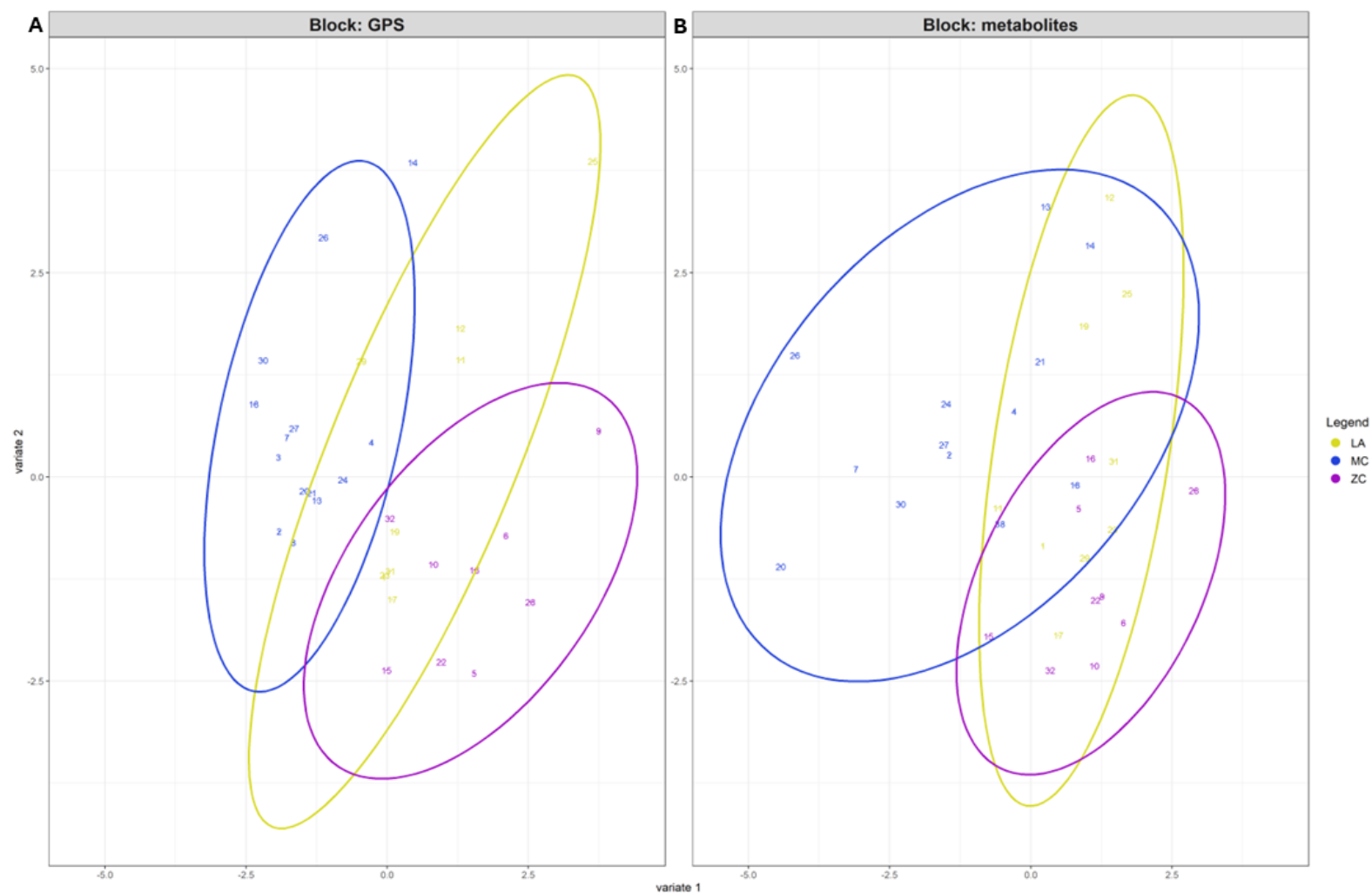


Figura 7. Gráfico de scores da análise de Block PLS-DA, mostrando a comparação entre as variáveis de carga externa (GPS) (painel A) e metabolômica urinária (painel B). As cores representam as diferentes posições de jogo no time de futebol (azul: MC; amarelo: LA; lilás: ZC), e os números na parte interna das circunferências representam os jogadores em suas respectivas posições.

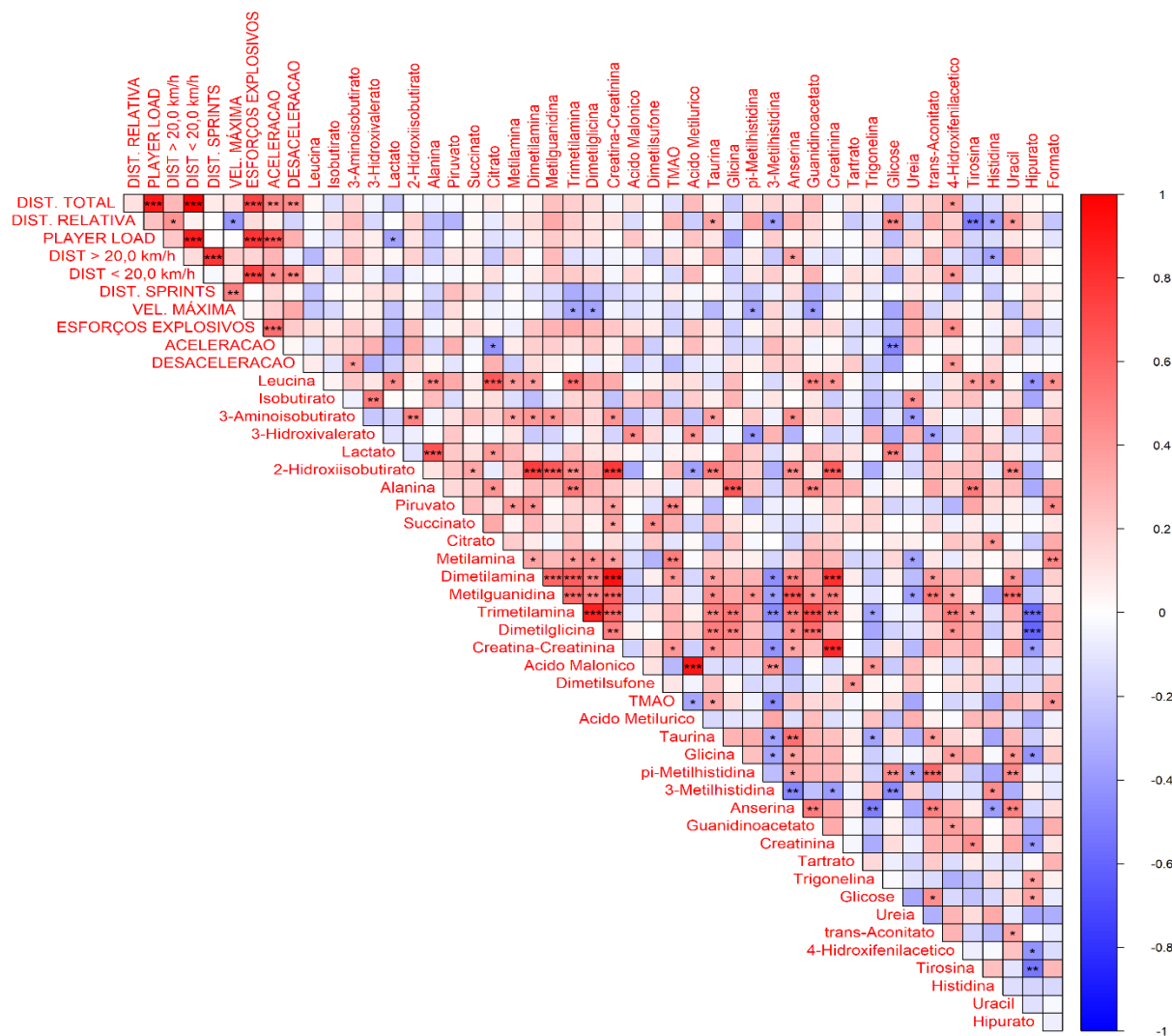


Figura 8. Gráfico de correlação de Pearson entre os 38 metabólitos urinários e as variáveis de carga externa após os jogos do campeonato. As escalas de cores representam as correlações positivas (vermelho) e negativas (azuis), e as significâncias são representadas pelos asteriscos: *p<0,05, **p<0,01, ***p<0,001.

mp 1-2

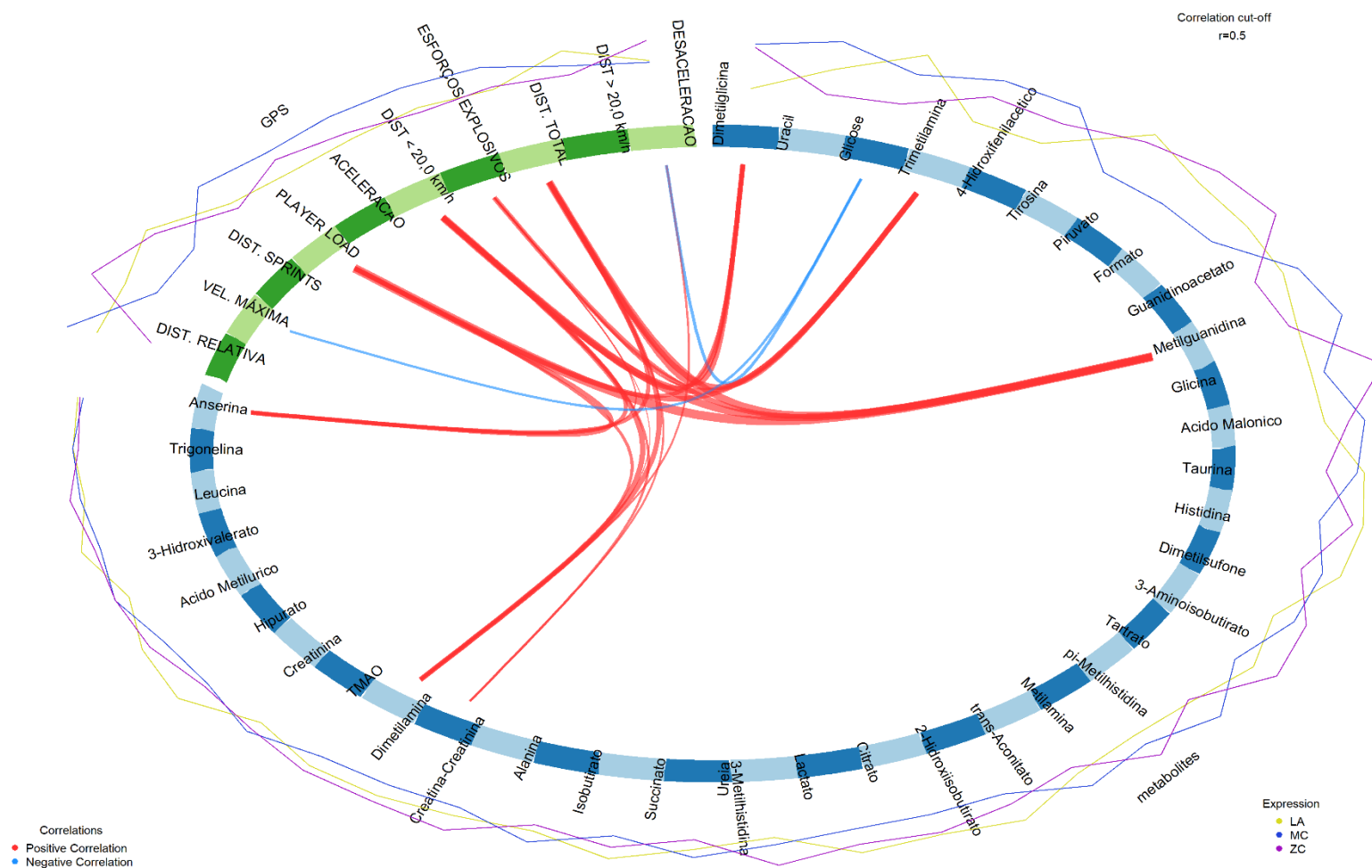


Figura 9. Gráfico Circus Plot correlacionando as variáveis de carga externa (GPS), na cor verde e metabólômica urinária, na cor azul. O ponto de corte das correlações foi de 0,5. As correlações positivas são representadas internamente pelas linhas vermelhas e as negativas por linhas azuis. As linhas coloridas na parte externa representam a expressão dos metabólitos por posição de jogo (MC, LA e ZC).

5. Discussão

O presente estudo empregou a abordagem metabolômica para identificar as alterações metabólicas urinárias nas posições dos jogadores titulares de futebol profissional após as partidas de seis jogos, buscando associação com os marcadores de carga externa obtidos em treino. A posição de jogo apresentou associações entre maiores métricas das variáveis de carga externa (GPS) e relação com o comportamento das variáveis de carga interna (metabolômica urinária), de modo que: o grupo MC apresentava maiores valores de distância percorrida abaixo de 20 km/h, distância relativa, distância total e player load, e tinham relação com os metabólitos uracil, 4-hidroxifenilacetico, metilguanidina, trimetilamina, dimetilglicina e glicose; o grupo LA apresentava maiores valores de distância de sprints, e estavam relacionados com glicose, tirosina e formato; e, o grupo ZC tinha maiores valor de velocidade máxima e associação com os metabólitos tirosina, formato, piruvato e glicina. As descobertas apontaram alterações no metabolismo dos carboidratos e ciclo do ácido tricarboxílico (TCA), aminoácidos e peptídeos, piridiminas, nas vias de corpos cetônicos, metabólitos relacionados aos antioxidantes e ao processo antiinflamatório discriminando os perfis metabólicos de recuperação após jogo.

A posição de jogo no futebol é um fator relevante na diferença das demandas físicas no jogo. Corroborando com nossos achados, o estudo de Curtis e colaboradores (2018) quantificou as demandas de jogo posicional do futebol masculino, mostrando que o grupo meio-campistas central cobriram substancialmente mais distância total ($9.941 \pm 2.140\text{m}$) do que os defensores ($ES = 0,45 \pm 0,41$). Os mesmos autores, referiram que, os meio-campistas central se envolvem em atividades de intensidade mais baixa a moderada, com mais frequência e por períodos mais longos do que outras posições, devido a característica da posição, fundamental nas ações ofensivas. Já, Teixeira et. al. (2021) analisaram o futebol juvenil, em três faixas etárias (sub-15, sub-17 e o sub-19), relatando que a maior distância total foi percorrida pelo meio-campista central ($5.456,9 \pm 1.565,9 \text{ m}$), e que ocorria diferenças significativas entre defesas centrais e avançados na corrida em alta velocidade e na distância de sprint.

Além disso, em nosso estudo o grupo MC apresentava maiores valores de player load em comparação com ZC e MA. Reche-Soto et al. (2019) descreveu player load e potência metabólica (produto da velocidade das atividades realizadas durante

um jogo e do custo energético) durante a competição de futebol, estes parâmetros foi usado junto a player load para quantificar cargas externas e como estimativa do gasto energético total. Demonstrando que os valores eram semelhantes em diferentes posições de jogo, com os meio-campistas tendendo a maiores valores (player load = $21,3 \pm 3,45$; potência metabólica = $6.682,95 \pm 786,23$), sendo o player load um importante marcador que mostra a combinação das acelerações produzidas nos três principais planos anatômicos, representativos da carga externa total sustentada durante o jogo e podendo ajudar a quantificar as tensões mecânicas dos jogadores.

Nossos dados apontam diferenças entre os grupos MC e ZC, com a variável de distância relativa, esforços explosivos, player load, distância total, distância abaixo de 20 km/h e, com velocidade máxima, distância de sprints, desaceleração, respectivamente; assim como, entre o grupo LA e os grupos MC e ZC (Figura 5A), avaliados em uma regressão realizada por um modelo multivariado em PLS-DA que associava a posição de jogo com carga externa após os seis jogos do campeonato. Evidências anteriores também apontam demandas menores para defesas centrais e maiores para os médios laterais na corrida total em alta intensidade e na distância total de sprints, diferença decorrentes da posição de ataque e função tática (Di Salvo et al. 2009), devido suas características específicas no jogo, tem maior intensidade de treinamento para corrida em alta velocidade e número de sprints quando comparada as demais posições (Clemente et al., 2020). E, Modric et al. (2020), mencionaram que meio-campistas realizavam mais acelerações e desacelerações.

A associação da análise metabolômica por RMN e as cargas externas, com as pontuações da variável de importância na projeção (VIP) foram usadas para calcular a medida cumulativa da influência de cada característica metabólica no modelo PLS-DA, mostraram diferentes perfis metabólicos presentes 24 horas nos pós-jogos do campeonato, caracterizado pelos metabólitos: metilguanidina, trimetilamina, 4-hidroxifenilacetico, piruvato, glicose, formato, glicina, dimetilglicina, tirosina e uracil. Marinho et al. (2022) identificou vários metabólitos após o jogo, dentre eles o formato, que justificou estar relacionado ao rendimento energético pelo metabolismo aeróbico, e sua presença imediatamente após a partida poderia ser explicada pela oxidação de ácidos graxos de cadeia ramificada. A metilguanidina e a dimetilglicina são metabólitos derivados do metabolismo de aminoácidos e de processos de metilação (Shranner et al., 2020). A metilguanidina tem sido associada ao estresse físico intenso e ao metabolismo da creatina, o que pode indicar um aumento na demanda

energética. Já, a dimetilglicina está relacionada ao metabolismo energético e ao controle da inflamação, o que pode refletir o esforço físico exigido durante as partidas (Cao et al., 2020; Pérez-Castillo et al., 2023).

As demandas do metabolismo energético em função da carga de treino no corpo ocorrem em resposta do aumento da atividade metabólica da contração do músculo esquelético, que utilizam metabólitos energéticos, como carboidratos e lipídeos para atender à demanda de ATP dos músculos (Impellizzeri et al., 2019). A glicose e os ácidos graxos são fontes de energia oxidados pelos músculos durante o exercício, influenciados pelo conteúdo de glicogênio muscular, a dieta, à intensidade do exercício e a duração. O piruvato, é um produto final da via da glicólise no ciclo do ácido tricarboxílico (TCA), e, ele, assim como lactato no sangue diminuem uma hora após o exercício, mas altas concentrações na urina também são medidas 24 horas após o exercício (Shranner et al., 2020). O exercício induz mudanças nas vias metabólicas de aminoácidos e metabolismo de ATP, glicólise, beta-oxidação de ácidos graxos livres e corpos cetônicos (Heaney et al., 2019), (Duft et al., 2017; Enea et al., 2010). Elucidando nossos resultados, estes estudos que utilizaram a metabolômica associada ao esporte, e mostraram ainda que os corpos cetônicos são gerados e os aminoácidos são convertidos em glicose quando os carboidratos são limitados.

Os aminoácidos identificados no metaboloma urinário podem ser justificados por sua contribuição para a fosforilação oxidativa, e serem usados como substratos para gliconeogênese, cetogênese, síntese de proteínas, especialmente após exercícios de resistência (Shranner et al., 2020). Já, os corpos cetônicos, são fontes alternativas de combustível para tecidos periféricos (incluindo cérebro, coração e músculos esqueléticos) oxidados durante o exercício, produzidos no fígado quando tem pouca disponibilidade de carboidratos. São acentuadamente elevados durante o período de recuperação pós-exercício, e suas ações metabólicas podem alterar a seleção de combustível através da redução da utilização de glicose e proteólise nos tecidos periféricos, dos efeitos anti-lipolíticos no tecido adiposo (Evans, M.; Cogan, KE.; Egan, B. 2017).

A metabolômica urinária associada a carga externa de jogadores de futebol desempenha o papel de um marcador de carga interna importante para discriminar os perfis metabólicos de recuperação após jogo. Desse modo, nossos resultados estão de acordo com investigações recentes. Pellegrino et al. (2022), mostrou que à

ativação das vias metabólicas aeróbicas e o aumento do ciclo do TCA, metabolismo da β -oxidação dos ácidos graxos e das vias do metabolismo dos aminoácidos, permitem a presença de níveis mais baixos de ácidos graxos, triglicerídeos e colesterol no organismo, acelerando a utilização de substâncias energéticas e redução do acúmulo de gordura. Corroborando com nossos achados, o metabolismo energético e a recuperação pós-jogo, podem ser vistos como um reflexo da ativação destas vias metabólicas, acelerando a utilização de substâncias energéticas após carga física intensa e ajudando na recuperação. E a relação entre as repercussões inflamatórias e o estresse oxidativo pode ser interpretado pela ativação das vias aeróbicas e o aumento do metabolismo energético, como destacado por Pellegrino et al. (2022), não só ajudam na utilização de energia, mas também podem gerar radicais livres, levando ao estresse oxidativo. Justificando assim a resposta inflamatória pós-jogo, como consequência da ativação das vias metabólicas e da produção de mediadores inflamatórios. O estudo de Kim et al. (2022) aborda um ponto negativo sobre o aumento da excreção de trimetilamina, relatando estas ocorrências em pacientes com doença renal, uma condição caracterizada pela diminuição da atividade da enzima monooxigenase contendo flavina. Embora não esteja diretamente relacionado ao futebol, oferece uma perspectiva sobre o impacto da atividade metabólica, pode servir como um ponto de reflexão sobre a relação entre o metabolismo e a função renal em atletas, especialmente aqueles sujeitos a intensas cargas físicas. A excreção de trimetilamina pode, teoricamente, ser um marcador da alteração no metabolismo de lipídios ou da resposta inflamatória, ambos potencialmente afetados pela carga de exercício físico.

A análise metabolômica após as partidas de futebol permitiu identificar que meio-campista centrais, tiveram perfis mais relacionados ao dano muscular e marcadores inflamatórios, possivelmente relacionado com a maior carga durante a partida, se comparado com os grupos LA e ZC. Estes, por sua vez, estavam relacionados ao metabolismo energético e estresse oxidativo. Níveis de danos musculares e respostas inflamatórias também já foram reportados em outros estudos após partida de futebol em homens (Ascensão et al., 2008; Souglis et al., 2018). E, de acordo, com Mohr et al. (2016) que observou o efeito significativo dos danos musculares e da inflamação no desempenho de jogadores de futebol competitivo, ocorria uma redução significativa no desempenho dos jogadores quando a recuperação era limitada a 3 dias, devido a sentimento de dor e rigidez muscular

acarretando a redução de desempenhos explosivos e anaeróbicos, durante um microciclo semanal intensificado de 3 jogos.

A comparação entre as variáveis de carga externa e interna, representada pelos metabólitos urinários, revelou um padrão geral de similaridade entre as projeções das diferentes posições de jogo, com exceção da posição de meio-campo central, que apresentou uma dispersão distinta em relação aos laterais e zagueiros centrais. Isso é consistente com estudos anteriores que indicam que as variáveis de carga externa e interna podem estar fortemente correlacionadas em muitos contextos esportivos, refletindo o equilíbrio entre as exigências físicas e a capacidade do corpo de lidar com essas demandas (Oliveira et al., 2019). Os jogadores de meio-campo central, por estarem envolvidos em atividades de alta intensidade intermitentes, com cobertura de grandes áreas do campo precisam ter resistência aeróbica e anaeróbica para cobrir o campo, podem ter um perfil metabólico distinto comparado a outras posições (Page et al., 2023). Isso pode resultar em uma resposta metabólica mais complexa e variável, explicando a dispersão observada.

As correlações observadas entre os parâmetros de carga externa do GPS e o perfil metabolômico ajudam a elucidar como o esforço físico afeta diferentes processos fisiológicos (Figura 8 e 9). As correlações positivas entre glicose e distância relativa ($p < 0,01$) sugerem uma maior utilização de energia durante esforços prolongados, refletindo um aumento no metabolismo energético. O 4-hidroxifenilacetato, que se correlacionou positivamente com distância total, esforços explosivos, desaceleração e distância abaixo de 20 km/h ($p < 0,05$), pode estar relacionado ao dano muscular e aos processos inflamatórios, visto que esse metabólito é um produto da degradação da tirosina, que pode ser alterado em resposta ao estresse físico intenso. A uracil, associada à distância relativa ($p < 0,05$), pode refletir um aumento no metabolismo energético e possíveis alterações nos processos de recuperação celular. Por outro lado, as correlações negativas entre trimetilamina e dimetilglicina com velocidade máxima ($p < 0,05$), e glicose com aceleração ($p < 0,01$), podem indicar um impacto no desempenho máximo devido a processos inflamatórios ou estresse oxidativo, uma vez que essas substâncias estão relacionadas a respostas metabólicas que podem interferir no desempenho de alta intensidade. Essas associações revelam como os perfis metabólicos são modulados pela carga externa, fornecendo compreensão sobre os mecanismos de adaptação e recuperação após o

esforço físico (Shranner et al., 2020; Mohr et al., 2016; Ascensão et al., 2008; Souglis et al., 2018).

A diferença entre as intensidades das métricas de carga externa tem efeitos diferentes no metabolismo, havendo combinação do metabolismo aeróbio e anaeróbio, de modo que as correlações positivas tinham maior predomínio aeróbio e as negativas anaeróbio (Figura 9). Em concordância com QI, Shuo et al. (2024), que encontrou dados que relacionavam o treinamento aeróbio de baixa intensidade com metabólitos de predominância das vias metabólicas do ciclo do TCA, metabolismo dos ácidos graxos e nas vias metabólicas dos aminoácidos, enquanto o treinamento de resistência de alta intensidade era dominado pelas vias anaeróbias com o aumento das vias da glicólise e do metabolismo das purinas.

As mudanças metabolômicas observadas no estudo de Vike et al. (2022) indicam que o efeito do exercício intenso e prolongado no metaboloma humano pode se concentrar por até 24 horas após o esforço, mostrando que lactato, piruvato, intermediários do ciclo do TCA, produtos de degradação de nucleotídeos, glicerol, ácidos graxos, acilcarnitinas e os corpos cetônicos aumentam após o exercício. Refletindo os processos de adaptação e recuperação metabólica, tendo em vista que, esses compostos estão diretamente relacionados a processos de regeneração energética, uso de reservas lipídicas e regulação do balanço energético. Enquanto os ácidos biliares diminuem e as concentrações de aminoácidos mudam em direções diferentes; provavelmente explicado por suas múltiplas funções e vias sintéticas, indicando a complexidade das respostas fisiológicas após o exercício. Contudo, a persistência dessas alterações 24 horas após o esforço físico refuta a importância desta medida, justificada pela necessidade contínua de reequilíbrio do sistema metabólico, recuperação muscular, e regulação das vias de síntese e degradação de macronutrientes, especialmente em exercícios que causam grandes demandas energéticas e induzem estresse celular. Essa referência respalda nossa análise com amostras de urina 24 horas após os jogos, como uma alternativa válida e justificável. Futuros estudos podem fazer no sangue, em menos tempo pós jogo, mas fizemos no dia seguinte e na urina por questões de logística com uma amostra de atletas profissionais, e pelo número alto de jogos envolvidos (o que dificulta fazer no sangue).

Algumas limitações do estudo devem ser abordadas. Não apresentamos uma linha de base imediatamente antes das partidas, os dados de pré-jogo foram coletados após o último treinamento do dia anterior ao jogo, o que pode ter dificultado

comparações pré e pós jogo. Contudo, estudos recentes já caracterizam o impacto do jogo sobre o perfil metabólico em uma avaliação pré e pós jogo. Ainda, o número amostral foi pequeno, embora tenha encontrado diferença entre os dados de distância total, assim como outras métricas do GPS que se correspondem. Contudo alguns grupos posicionais poderiam ter encontrado maior associação e separação metabólica com uma maior amostragem. O número de observações reduzido é uma constante em estudos com atletas de elevado rendimento, devido à dificuldade de acesso a dados dessa população sem atrapalhar as rotinas competitivas.

CONCLUSÃO

6. Conclusão

Os dados aqui apresentados demonstram a capacidade da análise metabolômica por RNM pós 24h ao longo de seis jogos realizada na urina de diferenciar as posições de jogo ZC, MC e LA, embora não tenha sido possível distinguir MA e AT. Os metabólitos de maior pontuação no VIP-scores estavam atribuídos as demandas físicas de cada posição, de modo que os perfis metabólicos do grupo MC estavam mais relacionados ao dano muscular, marcadores inflamatórios, enquanto o grupo LA e ZC apresentavam associação com o metabolismo energético e estresse oxidativo. A comparação entre as variáveis de carga externa e interna revelou um padrão geral de consistência nas respostas metabólicas das diferentes posições de jogo, com exceção do grupo MC.

Esses achados destacam o potencial da metabolômica como ferramenta complementar no monitoramento individualizado de atletas, como potencial marcador de carga interna, considerando as exigências particulares de cada posição de jogo. Na prática, os resultados podem subsidiar ajustes mais precisos em estratégias de recuperação, periodização de treinos e intervenções nutricionais, com foco na prevenção de lesões e na otimização da performance. O conhecimento dos perfis metabólicos específicos por posição permite intervenções mais eficazes, alinhadas às exigências bioenergéticas e musculoesqueléticas de cada função tática.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

- ADEREMI, Adewale Victor et al. Metabolomics: A scoping review of its role as a tool for disease biomarker discovery in selected non-communicable diseases. **Metabolites**, v. 11, n. 7, p. 418, 2021.
- 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.
- ASCENSÃO, Antonio et al. Biochemical impact of a soccer match—analysis of oxidative stress and muscle damage markers throughout recovery. **Clinical biochemistry**, v. 41, n. 10-11, p. 841-851, 2008.
- ASIAN CLEMENTE, Jose Antonio et al. Is physical performance a differentiating element between more or less successful football teams?. **Sports**, v. 7, n. 10, p. 216, 2019.
- BANGSBO, Jens; IAIA, Fedon Marcello; KRUSTRUP, Peter. Metabolic response and fatigue in soccer. **International journal of sports physiology and performance**, v. 2, n. 2, p. 111-127, 2007.
- BONGIOVANNI, Tindaro et al. Metabolomics in team-sport athletes: Current knowledge, challenges, and future perspectives. **Proteomes**, v. 10, n. 3, p. 27, 2022.
- BONGIOVANNI, T. et al. Sportomics: metabolomics applied to sports. The new revolution?. **European Review for Medical and Pharmacological Sciences**, v. 23, n. 24, p. 11011-11019, 2019.
- BOURDON, Pitre C. et al. Monitoring athlete training loads: consensus statement. **International journal of sports physiology and performance**, v. 12, n. S2, p. S2-161-S2-170, 2017.
- BRADLEY, Paul S. et al. High-intensity activity profiles of elite soccer players at different performance levels. **The journal of strength & conditioning research**, v. 24, n. 9, p. 2343-2351, 2010.
- 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.
- CANUTO, Gisele AB et al. Metabolômica: definições, estado-da-arte e aplicações representativas. **Química Nova**, v. 41, p. 75-91, 2018.
- CAO, Ben et al. Changes of differential urinary metabolites after high-intensive training in teenage football players. **BioMed Research International**, v. 2020, 2020.
- CLEMENTE, Filipe Manuel et al. Training/match external load ratios in professional soccer players: A full-season study. **International journal of environmental research and public health**, v. 16, n. 17, p. 3057, 2019.

CLEMENTE, Filipe Manuel et al. Weekly load variations of distance-based variables in professional soccer players: a full-season study. **International journal of environmental research and public health**, v. 17, n. 9, p. 3300, 2020.

COUTTS, Aaron J.; CROWCROFT, Stephen; KEMPTON, Tom. Developing athlete monitoring systems: theoretical basis and practical applications. In: **Recovery and Well-being in Sport and Exercise**. Routledge, 2021. p. 17-31.

CURTIS, Ryan M. et al. Contextual factors influencing external and internal training loads in collegiate men's soccer. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 34, n. 2, p. 374-381, 2020.

CURTIS, Ryan M. et al. Match demands of national collegiate athletic association division I men's soccer. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 32, n. 10, p. 2907-2917, 2018.

DI SALVO, Valter et al. Performance characteristics according to playing position in elite soccer. **International journal of sports medicine**, p. 222-227, 2006.

DUFT, Renata Garbellini et al. Metabolomics and Exercise: possibilities and perspectives. **Motriz: Revista de Educação Física**, v. 23, n. 02, p. e101634, 2017.

EMWAS, Abdul-Hamid M. The strengths and weaknesses of NMR spectroscopy and mass spectrometry with particular focus on metabolomics research. **Metabonomics: Methods and protocols**, p. 161-193, 2015.

ENEA, C. et al. ¹ H 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.

EVANS, Mark; COGAN, Karl E.; EGAN, Brendan. Metabolism of ketone bodies during exercise and training: physiological basis for exogenous supplementation. **The Journal of physiology**, v. 595, n. 9, p. 2857-2871, 2017.

FRAGA-CORRAL, M. et al. Analytical metabolomics and applications in health, environmental and food science. **Critical Reviews in Analytical Chemistry**, v. 52, n. 4, p. 712-734, 2022.

GRAVINA, Leyre et al. Metabolic impact of a soccer match on female players. **Journal of sports sciences**, v. 29, n. 12, p. 1345-1352, 2011.

GUIMARÃES, MB¹ et al. As posições no futebol e suas especificidades. **Revista Brasileira de Futebol (The Brazilian Journal of Soccer Science)**, v. 7, n. 2, p. 71-83, 2015.

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.

HALSON, Shona L. Monitoramento da carga de treinamento para entender a fadiga em atletas. **Medicina esportiva**, v. 44, n. Supl 2, p. 139-147, 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.

IMPELLIZZERI, Franco M. et al. Use of RPE-based training load in soccer. **Medicine & Science in sports & exercise**, v. 36, n. 6, p. 1042-1047, 2004.

IMPELLIZZERI, Franco M. et al. Internal and external training load: 15 years on. **Int J Sports Physiol Perform**, v. 14, n. 2, p. 270-273, 2019.

JASPERS, Arne et al. Relationships between training load indicators and training outcomes in professional soccer. **Sports medicine**, v. 47, p. 533-544, 2017.

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

JU, Wonwoo et al. Contextualised high-intensity running profiles of elite football players with reference to general and specialised tactical roles. **Biology of Sport**, v. 40, n. 1, p. 291-301, 2023.

KELLY, Rachel S.; KELLY, Michael P.; KELLY, Paul. Metabolomics, physical activity, exercise and health: A review of the current evidence. **Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease**, v. 1866, n. 12, p. 165936, 2020.

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

KUSONMANO, Adriana; VONGSANGNAK, Wanwipa; CHUMNANPUEN, Pramote. Informática para metabolômica. **Informática Biomédica Translacional: Uma Perspectiva da Medicina de Precisão**, p. 91-115, 2016.

LI, Bingbing et al. Novel applications of metabolomics in personalized medicine: a mini-review. **Molecules**, v. 22, n. 7, p. 1173, 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.

MATOS, Felipe de Oliveira et al. Cargas elevadas de treinamento alteram funções cognitivas em jogadores de futebol. **Revista brasileira de medicina do esporte**, v. 20, p. 388-392, 2014.

MODRIC, Toni; VERSIC, Sime; SEKULIC, Damir. Position specific running performances in professional football (soccer): influence of different tactical formations. **Sports**, v. 8, n. 12, p. 161, 2020.

MOHR, Magni et al. Muscle damage, inflammatory, immune and performance responses to three football games in 1 week in competitive male players. **European journal of applied physiology**, v. 116, p. 179-193, 2016.

MORGANS, Ryland et al. The physical demands of match-play in academy and senior soccer players from the scottish premiership. **Sports**, v. 10, n. 10, p. 150, 2022.

NOBARI, Hadi et al. Quantification of pre-season and in-season training intensity across an entire competitive season of professional soccer players. In: **Healthcare**. MDPI, 2022. p. 1367.

OLIVEIRA, Rafael et al. In-season internal and external training load quantification of an elite European soccer team. **PloS one**, v. 14, n. 4, p. e0209393, 2019.

PAGE, Richard Michael et al. The effects of fixture congestion on injury in professional male soccer: a systematic review. **Sports Medicine**, v. 53, n. 3, p. 667-685, 2023.

PALUCCI VIEIRA, Luiz Henrique et al. Match running performance in young soccer players: A systematic review. **Sports Medicine**, v. 49, p. 289-318, 2019.

PASSFIELD, Louis et al. Validity of the training-load concept. **International journal of sports physiology and performance**, v. 17, n. 4, p. 507-514, 2022.

PAUL, Darren J.; BRADLEY, Paul S.; NASSIS, George P. Factors affecting match running performance of elite soccer players: shedding some light on the complexity. **International journal of sports physiology and performance**, v. 10, n. 4, p. 516-519, 2015.

PELLEGRINO, Joseph K. et al. The exercise metabolome: acute aerobic and anaerobic signatures. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 19, n. 1, p. 603-622, 2022.

PÉREZ-CASTILLO, Íñigo M. et al. Biomarkers of post-match recovery in semi-professional and professional football (soccer). **Frontiers in Physiology**, v. 14, p. 592, 2023.

PETTERSEN, Svein Arne; BRENN, Tormod. Activity profiles by position in youth elite soccer players in official matches. **Sports medicine international open**, v. 3, n. 01, p. E19-E24, 2019.

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.

QI, Shuo et al. Research advances in the application of metabolomics in exercise science. **Frontiers in Physiology**, v. 14, p. 1332104, 2024.

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

RECHE-SOTO, Pedro et al. Player load and metabolic power dynamics as load quantifiers in soccer. **Journal of Human Kinetics**, v. 69, n. 1, p. 259-269, 2019.

RHEA, Matthew R. et al. Metabolic conditioning among soccer players. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 23, n. 3, p. 800-806, 2009.

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

ROSCHEL, Hamilton; TRICOLI, Valmor; UGRINOWITSCH, Carlos. Treinamento físico: considerações práticas e científicas. **Revista Brasileira de Educação Física e Esporte**, v. 25, p. 53-65, 2011.

SAKAGUCHI, Camila A. et al. Metabolomics-based studies assessing exercise-induced alterations of the human metabolome: A systematic review. **Metabolites**, v. 9, n. 8, p. 164, 2019.

SCHRANNER, Daniela et al. Metabolite concentration changes in humans after a bout of exercise: a systematic review of exercise metabolomics studies. **Sports medicine-open**, v. 6, p. 1-17, 2020.

SCOTT, Brendan R. et al. Training monitoring for resistance exercise: theory and applications. **Sports medicine**, v. 46, p. 687-698, 2016.

SILVA, Joao Renato. The soccer season: performance variations and evolutionary trends. **PeerJ**, v. 10, p. e14082, 2022.

SOUGLIS, Athanasios et al. Time course of oxidative stress, inflammation, and muscle damage markers for 5 days after a soccer match: effects of sex and playing position. **The Journal of Strength & Conditioning Research**, v. 32, n. 7, p. 2045-2054, 2018.

TEIXEIRA, José E. et al. Monitoring accumulated training and match load in football: A systematic review. **International Journal of Environmental Research and Public Health**, v. 18, n. 8, p. 3906, 2021.

VARLEY, Mateus C. et al. Desempenho físico e técnico de jovens jogadores de futebol de elite durante torneios internacionais: influência da posição de jogo e do sucesso da equipe e da qualidade do adversário. **Ciência e Medicina no Futebol**, v. 1, n. 1, p. 18-29, 2017.

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.

ZHANG, Guo-Fang et al. Metabolomics, pathway regulation, and pathway discovery. **Journal of biological chemistry**, v. 286, n. 27, p. 23631-23635, 2011.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) para responsáveis para dados retrospectivos.

Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE)

O senhor (sr.) está sendo convidado a participar do projeto de pesquisa **Relação entre carga de treinamento e ingestão de nutrientes no processo de recuperação fisiológica em atletas de futebol profissional: abordagem metabolômica**, dos pesquisadores Glydison Egberto de Oliveira Ananias e Prof. Dr. Filipe Antônio de Barros Sousa. A seguir, as informações do projeto de pesquisa com relação a sua participação neste projeto:

O estudo se destina a observar a influência das cargas de treinamento diárias e semanais, assim como os protocolos de recuperação através da ingestão de alimentos, vitaminas e suplementos alimentares no processo de recuperação de jogadores de futebol profissional, nos períodos pré e pós partida durante um período determinado entre pré temporada e campeonato regional (Campeonato Paulista sub 20 – 2022) / na temporada do ano de 2022.

A importância deste estudo é a de adequar as cargas aplicadas nas sessões de treinamentos diários e aperfeiçoar as técnicas de recuperação fisiológica após treinamentos e partidas de futebol, com o intuito de minimizar o risco de incidência de lesões e melhorar o desempenho dos jogadores. Além disso, o estudo pode auxiliar na elaboração de dietas e procedimentos alimentares que possam acelerar a velocidade de recuperação muscular e consequentemente aumentar a capacidade de desempenho dos jogadores em treinamentos e partidas de futebol.

Os resultados que se desejam alcançar são os seguintes: 1) com o acúmulo das sessões de treinamento e das partidas, as dietas adotadas para recuperação devem ser ajustadas; 2) jogadores com maior número de participações em partidas devem receber uma atenção individualizada com ajustes nas cargas de treinamento e na ingestão de nutrientes; 3) a presença de metabólitos específicos na urina pode ser indicativo de fadiga e consequentemente queda de rendimento durante as partidas (determinado pela análise das cargas externas) e aumento no risco de incidência de lesão.

A coleta de dados terá início no período competitivo em treinamentos e partidas do campeonato regional de futebol na temporada de 2022 e terá duração de 12 semanas/84 dias. Todas as amostras de urina serão coletadas no CFA Laudo Natel do São Paulo Futebol Clube, armazenadas e analisadas no Núcleo de Análises e Pesquisa em Ressonância Magnética Nuclear (NAPRMN) da Universidade ambos locados na Universidade Federal de Alagoas – UFAL.

O estudo será realizado da seguinte maneira: o sr. Será submetido às sessões de treinamentos conforme programação planejada e aplicada pela comissão técnica da própria equipe. Em todas as sessões de treinamento e partidas o sr. será monitorado por um aparelho GPS individualizado que fornecerá informações de cargas externas, isto é, distância total percorrida, distância total percorrida em alta intensidade, acelerações e desacelerações e cargas internas como frequência cardíaca máxima, tempo de trabalho em zonas de intensidades pré determinadas com base na frequência cardíaca máxima. As informações fornecidas pelo GPS serão

inseridas em uma planilha e posteriormente serão submetidas a cálculos matemáticos para determinação das cargas (razão entre carga aguda e crônica) de treinamentos e partidas. Com relação a dieta ingerida, o sr. será orientado pela (o) nutricionista da equipe que será responsável em prescrever as suplementações necessárias assim como elaborar os cardápios pré e pós partida conforme protocolo já estabelecido pelo clube. Uma vez encerrado o ciclo que corresponde a uma semana de treinamento será coletada amostra de urina 24 horas antes de cada partida e 24 horas após cada partida. Estas amostras serão submetidas ao processo de ressonância magnética nuclear (metabolômica) para análise de metabólitos que são produtos presentes na urina, como consequência do exercício físico. A presença de metabólitos específicos na urina pode ser um indicador de fadiga o que pode levar a queda no rendimento físico e aumentar o risco de incidência de lesão.

A sua participação será ativa em todas as etapas do processo de pesquisa através da participação em sessões de treinamentos, participação em partidas, na aplicação das dietas e na ingestão de suplementos indicados pelo (a) nutricionista da equipe, assim como na coleta de amostras de urina antes e após as partidas para análise da presença de metabólitos.

A qualquer momento, você poderá recusar a continuar participando do estudo e, também, poderá retirar seu consentimento, sem que isso lhe traga qualquer penalidade ou prejuízo.

Os incômodos e possíveis riscos à sua saúde física e/ou mental são: 1) O incômodo presente nesta pesquisa é que pela baixa ingestão de líquidos antes, durante e após treinamentos e partidas o sr. Não sinta o desejo de urinar dificultando assim, a coleta da amostra de urina o que pode demandar tempo de espera; 2) devido à falta de desejo de urinar haverá a necessidade da ingestão de grande quantidade de líquido em um período curto de tempo o que pode causar desconforto gástrico.

Quanto aos riscos: 1) pode haver a perda de amostras caso os participantes da pesquisa não sigam as orientações fornecidas pelos pesquisadores. Para minimizar este risco, as amostras serão coletadas pelos próprios jogadores que serão orientados a mantê-las em posse até repassa-las diretamente aos pesquisadores que possuem experiência na técnica de coleta e catalogação de amostras; 2) a presença de metabólitos específicos na amostra de urina pode evidenciar a utilização de substâncias proibidas porém estes dados não serão utilizados para este fim pois este não é o objetivo do estudo e serão mantidos em sigilo sendo apresentados apenas aos jogadores. Para apresentação dos dados os nomes dos jogadores serão trocados por códigos de identificação para se manter o sigilo.

Os benefícios esperados com a sua participação no projeto de pesquisa, mesmo que não diretamente são: 1) adequação das cargas de treinamento ao qual o sr. está sendo submetido; 2) elaboração de uma dieta específica e individualizada para melhorar o seu processo de recuperação fisiológica, melhorar seu desempenho em treinamentos e partidas; 3) minimizar o risco de incidência de lesões durante a temporada de treinamento e partidas; e 4) os resultados obtidos nesta pesquisa poderão auxiliar os profissionais da área do futebol de alto rendimento a aprimorar seus métodos de treinamento, elaborar melhores protocolos de recuperação e aplicar dietas individualizadas de acordo com as respostas metabólicas de cada atleta.

O sr. Poderá contar com a seguinte assistência: prescrição de cargas e dieta individualizadas, sendo responsável(is) por elas os membros da comissão técnica e

nutricionista da equipe; durante a coleta de urina, caso tenha a necessidade de ingerir líquidos devido à falta em desejo de urinar, estes serão fornecidos pela equipe de pesquisa; caso este processo apresente uma demanda alta de tempo as refeições serão fornecidas pela equipe da pesquisa.

O sr. será informado(a) do resultado final do projeto e sempre que desejar, serão fornecidos esclarecimentos sobre cada uma das etapas do estudo.

As informações obtidas através da sua participação não permitirão a identificação da sua pessoa, exceto para a equipe de pesquisa, e que a divulgação das mencionadas informações só será feita entre os profissionais estudiosos do assunto após a sua autorização.

O estudo não acarretará nenhuma despesa para o sr.

O sr. será indenizado por qualquer dano que venha a sofrer com a sua participação na pesquisa.

Via do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

O sr. receberá uma via (não cópia) do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido assinado por todos.

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

Endereço da equipe da pesquisa:

Instituição: Faculdade Nutrição da Universidade Federal de Alagoas - UFAL Endereço:
Endereço: Av. Lourival Melo Mota, s/n, Tabuleiro do Martins Complemento: Cidade/CEP:
Maceió – AL CEP:57072-900 Telefone: (82) 3214-1160 Ponto de referência: Na AL-101 rumo
ao litoral norte do estado

Endereço e contato dos pesquisadores responsáveis pela pesquisa:

Sr(a). Glydiston Egberto de Oliveira Ananias

Endereço: Av. Dr. Odair Pacheco Pedroso, 1700

Complemento:

Cidade/CEP:Cotia /06717-200

Telefone: (48) 999171425

Ponto de referência: Centro de Formação de Atletas São Paulo Futebol Clube

Sr.(a) Filipe Antônio de Barros Sousa

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

Complemento:

Cidade/CEP: Maceió – AL

CEP: 57072-900

Telefone: (82) 3214-1160

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

Maceió, de de 2022.