



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea



EFEECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON B-HIDROXI B-METILBUTIRATO (HMB) Y/O CREATINA EN EL RENDIMIENTO DEL REMO TRADICIONAL DE TRAINERA

Tesis doctoral

UPV/EHU



Julen Fernández de Landa Aguirre

Directores:

Dr. Juan Mielgo Ayuso

Dr. Julio Calleja González

Vitoria, 2021



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea



EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON B-HIDROXI B-METILBUTIRATO (HMB) Y/O CREATINA EN EL RENDIMIENTO DEL REMO TRADICIONAL DE TRAINERA

Tesis doctoral

Julen Fernández de Landa Aguirre

Directores:

Dr. Juan Mielgo Ayuso

Dr. Julio Calleja González

Vitoria, 2021

TESI ZUZENDARIAREN BAIMENA TESI AURKEZTEKO

**AUTORIZACIÓN DEL/LA DIRECTORA/A DE
TESIS PARA SU PRESENTACIÓN**

Zuzendariaren izen-abizenak /Nombre y apellidos del/la director/a: Juan Mielgo Ayuso

IFZ /NIF: 44134162-Z

Tesiaren izenburua / Título de la tesis: EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON B-HIDROXI B-METILBUTIRATO (HMB) Y/O CREATINA EN EL RENDIMIENTO DEL REMO TRADICIONAL DE TRAINERA

Doktorego programa / Programa de doctorado: Actividad Física y Deporte

Doktoregaiaren izen-abizenak / Nombre y apellidos del/la doctorando/a: Julen Fernández de Landa Aguirre

Unibertsitateak horretarako jartzen duen tresnak emandako ANTZEKOTASUN TXOSTENA ikusita, baimena ematen dut goian aipatzen den tesia aurkez dadin, horretarako baldintza guztiak betetzen baititu.

Visto el INFORME DE SIMILITUD obtenido de la herramienta que a tal efecto pone a disposición la universidad, autorizo la presentación de la tesis doctoral arriba indicada, dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

Tokia eta data / Lugar y fecha: Vitoria, 3 de abril de 2021

Sin. / Fdo.: Tesiaren zuzendaria / El/La director/a de la tesis

ÍNDICE

PORTADA	1
CONFLICTOS DE INTERÉS	18
AGRADECIMIENTOS	19
PUBLICACIONES	20
ABREVIACIONES	21
TABLAS	23
FIGURAS	24
ABSTRACT	25
RESUMEN	26
ARTÍCULO 1.....	27
ARTÍCULO 2.....	28
ARTÍCULO 3.....	29
1. INTRODUCCIÓN	31
1.1. REMO	33
1.2. REMO TRADICIONAL	35
1.3. PLANIFICACIÓN DEL ENTRENAMIENTO	37
1.3.1. Periodo preparatorio	37
1.3.2. Periodo competitivo	38
1.3.3. Periodo de recuperación	38
1.4. CONTROL DEL ENTRENAMIENTO	38
1.4.1. Umbral anaeróbico individual (UAI)	39
1.4.2. Umbral de 4 mmol/L de lactato.....	39
1.4.3. Potencia aeróbica máxima (PAM)	40
1.5. FATIGA	40
1.6. RECUPERACIÓN	43
1.7. AYUDAS ERGOGENICAS	44
1.7.1 Monohidrato de creatina (CrM)	44
1.7.2 β -hidroxi β -metilbutirato (HMB).....	48
1.8. COMBINACIÓN DE CrM Y HMB	52
2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS	53
2.1. HIPÓTESIS	55
2.2. OBJETIVOS	56
3. MÉTODOS	57
3.1. ESTUDIO 1	59

3.1.1. Estrategias de búsqueda de literatura.....	59
3.1.2. Criterios de inclusión y exclusión.....	59
3.1.3. Mediciones de los resultados	60
3.1.4. Evaluación de la calidad de los experimentos	60
3.2. ESTUDIO 2	62
3.2.1. Participantes.....	62
3.2.2. Protocolo experimental y plan de evaluación	63
3.2.3. Prueba de esfuerzo incremental.....	64
3.2.4. Concentración de lactato en sangre	64
3.2.5. Determinación de los umbrales.....	65
3.2.6. Antropometría	65
3.2.7. Evaluación de la dieta	65
3.2.8. Análisis estadístico.....	66
3.3. ESTUDIO 3	68
3.3.1. Participantes.....	68
3.3.2. Protocolo experimental y plan de evaluación	68
3.3.3. Análisis de sangre	70
3.3.4. Antropometría y composición corporal.....	70
3.3.5. Evaluación de la dieta	71
3.3.6. Análisis estadístico.....	72
4. RESULTADOS.....	73
4.1. ESTUDIO 1	75
4.1.1. Búsqueda principal	75
4.1.2. Suplementación de CrM y HMB.....	76
4.1.3. Resultados en el rendimiento deportivo	77
4.1.4. Resultados en la composición corporal	80
4.1.5. Resultados de daño muscular y estado hormonal.....	80
4.2. ESTUDIO 2	85
4.3. ESTUDIO 3	89
5. DISCUSIÓN	95
5.1. ESTUDIO 1	97
5.1.1. Impacto en el rendimiento deportivo	97
5.1.2. Impacto en la composición corporal	100
5.1.3. Impacto en los marcadores de daño muscular y estado hormonal.....	101
5.1.2. Fortalezas, limitaciones y futura investigación.....	101
5.2. ESTUDIO 2	102
5.2.1 Limitaciones, fortalezas y futura investigación.....	105
5.2.2. Aplicaciones prácticas.....	105
5.3. ESTUDIO 3	106
5.3.1. Limitaciones, fortalezas y futura investigación.....	109
5.3.2. Aplicaciones prácticas.....	109
6. CONCLUSIONES	111
7. REFERENCIAS	115
8. APÉNDICES.....	133
APÉNDICE 1. CUESTIONARIOS.....	135

APÉNDICE 2. INFORME FAVORABLE DEL COMITÉ DE ÉTICA	143
APÉNDICE 3. CONSENTIMIENTO INFORMADO	145
APÉNDICE 4. ARTÍCULO 1.....	150
APÉNDICE 5. ARTÍCULO 2.....	167
APÉNDICE 6. ARTÍCULO 3.....	182
APÉNDICE 7. COMUNICACIONES CIENTÍFICAS PRESENTADAS DURANTE EL PROCESO DE TESIS	198
APÉNDICE 8. PREMIOS RECIBIDOS DURANTE EL PROCESO DE TESIS	201
APÉNDICE 9. PONENCIAS INVITADAS DURANTE EL PROCESO DE TESIS.....	203
APÉNDICE 10. OTRAS PUBLICACIONES DURANTE EL PROCESO DE TESIS	206
APÉNDICE 11. ACERCA DEL AUTOR	208

CONFLICTOS DE INTERÉS

El autor declara que no tiene ningún conflicto de interés. No se ha recibido ningún tipo de pago y tampoco está directa o indirectamente relacionada con la suplementación utilizada durante la realización de la tesis.

El autor declara que la presente Tesis Doctoral es un trabajo original.

Esta tesis Doctoral siguió los procedimientos establecidos en la Declaración de Helsinki y fue aprobada por el Comité de Ética de la Universidad del País Vasco, España (Ver apéndice 2)

AGRADECIMIENTOS

Al acabar la tesis doctoral, te das cuenta de cuánto tienes que agradecer a tanta gente. Intentaré resumir en unas líneas el agradecimiento a todas esas personas que han puesto su granito de arena para que haya podido cumplir este objetivo.

A mis directores de tesis Juan Mielgo y Julio Calleja, que han sido las personas que más me han ayudado para poder finalizar esta etapa. Hacer especial hincapié en la cercanía de ambos, ayudándome a sacar adelante tanto el proyecto de investigación, así como las comunicaciones y publicaciones científicas.

A los co-autores de los artículos publicados durante el proceso de tesis: Diego Fernández-Lázaro, Alberto Caballero-García, Alfredo Córdoba y Patxi León-Guereñu, por la ayuda prestada colaborando en las publicaciones, para que los artículos se hayan podido llevar a cabo de la mejor forma posible.

Agradecer al Club Kaiarriba Donostiarra toda la colaboración prestada durante el estudio. Tanto al staff como a cada remero, por poner todo lo que estaba en su mano para así cumplir todas las instrucciones dadas que han hecho posible la realización de este proyecto.

A mi familia por su apoyo continuo y por haber confiado en mi capacidad para superar los obstáculos que se me han presentado durante esta difícil etapa.

A mis amigos y compañeros durante el Grado en Ciencias de la Actividad Física y del Deporte: Asier Santibañez, Ekaitz Dudagoitia y Javier Sánchez que siempre han estado presentes en los momentos más complicados durante este proceso.

A las personas que, aunque no aparecen aquí con nombres y apellidos, han estado presentes de alguna forma en el recorrido durante el desarrollo de esta tesis doctoral.

PUBLICACIONES

Artículo 1:

Fernández-Landa J, Calleja-González J, León-Guereño P, Caballero-García A, Córdova A, Mielgo-Ayuso J.

Effect of the Combination of Creatine Monohydrate Plus HMB Supplementation on Sports Performance, Body Composition, Markers of Muscle Damage and Hormone Status: A Systematic Review. *Nutrients*. 2019 oct 20;11(10). pii: E2528. doi: 10.3390/nu11102528. [1]
(Ver apéndice 4)

Factor de impacto: 4,546

Posición área de nutrición y dietética: 17/86

Artículo 2:

Fernández-Landa J, Fernández-Lázaro D, Calleja-González J, Caballero-García A, Córdova Martínez A, León- Guereño P, Mielgo-Ayuso J.

Effect of Ten Weeks of Creatine Monohydrate Plus HMB Supplementation on Athletic Performance Tests in Elite Male Endurance Athletes. *Nutrients*. 2020 Jan 10;12(1). pii: E193. doi:10.3390/nu12010193 [2] (Ver apéndice 5)

Factor de impacto: 4,546

Posición área de nutrición y dietética: 17/86

Artículo 3:

Fernández-Landa J, Fernández-Lázaro D, Calleja-González J, Caballero-García A, Córdova A, León-Guereño P, Mielgo-Ayuso J.

Long-term effect of combination of creatine monohydrate plus β -hydroxy β -methylbutyrate (HMB) on exercise-induced muscle damage and anabolic/catabolic hormones in elite male endurance athletes. *Biomolecules*. 2020 Jan 15;10(1). pii: E140. doi: 10.3390/biom10010140. [3] (Ver apéndice 6)

Factor de impacto: 4,082

Posición área de bioquímica: 98/297

ABREVIACIONES

1RM_{PB}: repetición máxima en press de banca

1RM: repetición máxima

3RM: 3 repeticiones máximas

4E-BP1: traducción eucariótica factor de iniciación 4E-proteína de unión 1

ACT: Asociación de Clubes de Traineras

ADP: adenosín difosfato

ADP/ATP: ratio de adenosín difosfato/adenosín trifosfato

AGAT: enzima arginina:glicina aminotransferasa

AL: ácido láctico

ANT: translocasa de nucleótidos de adenina

ARN_m: ácido ribonucleico mensajero

AST: aspartato aminotransferasa

ATP: adenosín trifosfato

BM: masa corporal

C: cortisol

Ca²⁺: ion de calcio

CHO: carbohidratos

CK: creatina quinasa

Cr: creatina

CrM: monohidrato de creatina

CRTR: transportador de creatina

EIMD: daño muscular inducido por el ejercicio

FDA: Agencia de Medicamentos y Alimentación

FFM: masa libre de grasa

FFQ: cuestionario de frecuencia alimentaria

FISA: Federación Internacional de Remo

FM: masa grasa

GAA: guanidinoacetato

GAMT: enzima guanidinoacetato N-metiltransferasa

GH: hormona del crecimiento

HMB: β -hidroxi β -metilbutirato

IGF-1: factor de crecimiento insulínico tipo

IMC: índice de masa corporal

ISAK: The International Society for the Advancement of Kinanthropometry

LA: concentración de lactato en sangre venosa periférica

LBM: masa corporal magra

LDH: lactato deshidrogenasa

MAPK/ERK: proteína quinasa activada por mitógeno/proteína quinasa regulada por señal extracelular

MM: masa muscular

MRF-4: factor de regulación miogénica 4

mTOR: diana de rapamicina en células de mamífero

NF- κ B: factor nuclear kappa B

p70S6k: proteína ribosómica S6 quinasa

PAM: potencia aeróbica máxima

PGC-1 α : receptor activado por proliferador de peroxisoma

PI3K/Akt: vía fosfatidilinositol 3 quinasa

PKC: proteína quinasa C

PRISMA: Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses

Rep75sumTB: suma de producción de potencia de las repeticiones realizadas al 75% del 1 RM durante el tirón en banco

SD: desviación estándar

T: testosterona

T/C: ratio testosterona cortisol

VO_{2max}: consumo máximo de oxígeno

W20 min: test máximo de 20 minutos

W10 paladas: producción de potencia en 10 paladas máximas

W4: umbral de 4 mmol/L de lactato

W8: umbral de 8 mmol/L de lactato

TABLAS

Tabla 1. Características de las embarcaciones y tripulación de las diferentes modalidades del remo (modificado de González-Aramendi, 2014) [5].	34
Tabla 2. Calendario ACT de la temporada 2019 [7].	36
Tabla 3. Resumen de los estudios incluidos en la revisión sistemática que investigó el efecto de CrM más HMB en las habilidades de rendimiento deportivo.	78
Tabla 4. Resumen de los estudios incluidos en la revisión sistemática que investigó el efecto de CrM más HMB en la composición corporal	81
Tabla 5. Resumen de los estudios incluidos en la revisión sistemática que investigó el efecto de CrM más HMB sobre el daño muscular y el estado hormonal.	83
Tabla 6. Datos de antropometría y composición corporal en los cuatro grupos de estudio al inicio del estudio (T1) y después de 10 semanas (T2).	85
Tabla 7. Datos de antropometría y composición corporal en los cuatro grupos de estudio al inicio del estudio (T1) y después de 10 semanas (T2).	86
Tabla 8. Producción de potencia en el umbral anaeróbico (WAT), 4 (W4) y 8 mmol (W8) en los cuatro grupos de estudio al inicio del estudio (T1) y después de 10 semanas (T2).	87
Tabla 9. Determinación del efecto de la combinación de suplementos.	89
Tabla 10. Antropometría y composición corporal de los participantes.	89
Tabla 11. Antropometría y composición corporal de los participantes	89
Tabla 12. Estado de las hormonas testosterona y cortisol en los participantes.	90
Tabla 13. Marcadores de daño muscular inducidos por el ejercicio en los cuatro grupos de estudio al inicio del estudio (T1) y después de 10 semanas (T2).	92
Tabla 14. Determinación del efecto de la combinación de suplementos.	93

FIGURAS

Figura 1. Expresión gráfica de la obtención del “D-max” [17]	39
Figura 2. Estructura química y vía bioquímica para la síntesis de Cr [62,66]	45
Figura 3. Explicación gráfica del sistema CK/PCr [95]	47
Figura 4. Metabolismo del HMB [104]	49
Figura 5. Resumen del riesgo de sesgo de cada artículo incluido	61
Figura 6. Gráfico de riesgo de sesgo presentado en porcentaje de los estudios incluidos...	61
Figura 7. Diagrama de flujo “Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses” (PRISMA).....	75
Figura 8. Porcentaje de cambios durante el estudio sobre la producción de potencia absoluta en el umbral anaeróbico (WAT), 4 mmol/L (W4) y 8 mmol/L (W8) en los 4 grupos de estudio	88
Figura 9. Porcentaje de cambios durante el estudio en el estado de la hormona cortisol, testosterona y la relación testosterona/cortisol en los cuatro grupos de estudio	91
Figura 10. Porcentaje de cambios en los marcadores daño muscular inducido por el ejercicio (EIMD).....	93

ABSTRACT

Creatine monohydrate (CrM) and β -hydroxy β -methylbutyrate (HMB) are widely studied sports supplements. However, it is not clear how they act when used together in sports. It should be added that the unknown is even greater when is predominantly aerobic sport such as rowing.

The objectives of this thesis have been: 1) to determine through a systematic review the efficacy of mixing CrM plus HMB compared to its isolated effects on sports performance, body composition, exercise-induced muscle damage markers (EIMD) and anabolic-catabolic hormones, 2) to determine the efficacy and the degree of potentiation of 10 weeks of supplementation with CrM plus HMB in athletic performance, which was measured by an incremental test to exhaustion in traditional elite male rowers, and 3) to determine the effect and the degree of potentiation of 10 weeks of supplementation with CrM plus HMB in the EIMD and anabolic-catabolic hormones.

Based on the aims set, the main results of the thesis indicate that: 1) the combination of CrM plus 3 g/day of HMB for 1–6 weeks could produce positive effects on sports performance (strength and anaerobic performance) and during 4 weeks in body composition (increase in fat free mass and decrease in fat mass), 2) intake of CrM plus HMB for 10 weeks showed a synergistic effect on aerobic power during an incremental test, and 3) the combination of CrM plus HMB had a synergistic effect on testosterone and the testosterone/cortisol ratio and an antagonistic effect on cortisol compared to the sum of individual or isolated supplementation.

The conclusions obtained in the present doctoral thesis indicate that the combination of these two supplements can be of great help for the professionals around the athlete to improve aerobic performance and recovery.

Keywords: recovery; exercise-induced muscle damage; anaerobic; aerobic; body composition; testosterone; cortisol; supplementation

RESUMEN

El monohidrato de creatina (CrM) y el β -hidroxi β -metilbutirato (HMB) son suplementos deportivos ampliamente estudiados. Sin embargo, no está claro cómo actúan cuando se utilizan conjuntamente en el ámbito deportivo. Hay que añadir que la incógnita es todavía mayor, cuando hablamos de un deporte de carácter predominantemente aeróbico como el remo.

Los objetivos de esta tesis han sido: 1) determinar mediante una revisión sistemática la eficacia de mezclar CrM más HMB en comparación con sus efectos aislados sobre el rendimiento deportivo, la composición corporal, los marcadores de daño muscular inducidos por el ejercicio (EIMD) y las hormonas anabólico-catabólicas. 2) determinar la eficacia y el grado de potenciación de 10 semanas de suplementación con CrM más HMB en el rendimiento deportivo, que se midió mediante una prueba incremental en remeros tradicionales de élite masculinos. 3) determinar el efecto y el grado de potenciación de 10 semanas de suplementación con CrM más HMB en los EIMD y hormonas anabólicas/catabólicas.

En base a los objetivos planteados, los principales resultados de la tesis indican que: 1) La combinación de CrM más 3 g/día de HMB durante 1–6 semanas podría producir efectos positivos en el rendimiento deportivo (fuerza y rendimiento anaeróbico) y durante 4 semanas en la composición corporal (aumento de grasa masa libre y disminución de la masa grasa). 2) La ingesta de CrM más HMB durante 10 semanas mostró un efecto sinérgico sobre la potencia aeróbica durante una prueba incremental. 3) La combinación de CrM más HMB presentó un efecto sinérgico sobre la testosterona y la ratio testosterona/cortisol y un efecto antagonista sobre el cortisol en comparación con la suma de la suplementación individual o aislada.

Las conclusiones obtenidas en la presente tesis doctoral indican que la combinación de estos dos suplementos puede ser de gran ayuda para los profesionales que rodean al deportista para mejorar el rendimiento aeróbico y la recuperación.

Palabras clave: recuperación; daño muscular inducido por el ejercicio; anaeróbico; aeróbico; composición corporal; testosterona; cortisol; suplementación

ARTÍCULO 1

Aunque hay muchos estudios que muestran el efecto aislado del monohidrato de creatina (CrM) y el β -hidroxi β -metilbutirato (HMB), no está claro qué efecto tienen cuando se combinan. El objetivo principal de esta revisión sistemática fue determinar la eficacia de mezclar CrM más HMB en comparación con sus efectos aislados sobre el rendimiento deportivo, la composición corporal, los marcadores de daño muscular inducidos por el ejercicio y las hormonas anabólico-catabólicas. Dicha revisión sistemática se realizó de acuerdo con las pautas de la declaración PRISMA y el modelo PICOS, para la definición de los criterios de inclusión. La búsqueda se llevó a cabo en las bases de datos electrónicas PubMed/MEDLINE, Web of Science (WOS) y Scopus desde el inicio hasta el 3 de julio de 2019. Además, se evaluaron la calidad metodológica y el riesgo de sesgo de los estudios incluidos de acuerdo con las pautas de colaboración Cochrane. Se revisó la literatura sobre los efectos de la combinación de CrM más HMB en el rendimiento deportivo utilizando varias variables de resultado (rendimiento atlético, composición corporal, marcadores de daño muscular y estado hormonal). Esta revisión sistemática incluyó 6 artículos que investigaron los efectos de CrM más HMB en el rendimiento deportivo (dos en el rendimiento de fuerza, mostrando mejoras en uno de ellos; tres en el rendimiento anaeróbico, presentando mejoras en dos de ellos; y uno en el rendimiento aeróbico, no presentando mejoras), la composición corporal (tres en la masa corporal, mostrando mejoras en uno de ellos; dos en la masa libre de grasa, presentando aumentos en uno de ellos; y dos en la masa grasa, mostrando disminuciones en uno de ellos) y los marcadores de daño muscular y estado hormonal (cuatro en marcadores de daño muscular y uno en hormonas anabólico-catabólicas, que no muestran beneficios en ninguno de ellos). En resumen, la combinación de 3–10 g/día de CrM más 3 g/día de HMB durante 1–6 semanas, podría producir efectos positivos en el rendimiento deportivo (fuerza y rendimiento anaeróbico) y durante 4 semanas en la composición corporal (aumento de masa libre de grasa y disminución de la masa grasa). Sin embargo, esta combinación parece no mostrar efectos positivos relacionados con los marcadores de daño muscular inducido por el ejercicio y las hormonas anabólico-catabólicas.

Palabras clave: nutrición deportiva; anaeróbico; aeróbico; composición corporal; recuperación muscular

ARTÍCULO 2

El monohidrato de creatina (CrM) y el β -hidroxi β -metilbutirato (HMB) son ayudas ergogénicas comunes en el ámbito del deporte y se usan con frecuencia de forma aislada. Sin embargo, hay algunos estudios que han investigado el efecto de la combinación de ambos suplementos en diferentes variables relacionadas con el rendimiento, con resultados controvertidos. Por lo tanto, el objetivo principal de este estudio fue determinar la eficacia y el grado de potenciación de 10 semanas de suplementación con CrM más HMB en el rendimiento deportivo, que se midió mediante una prueba de esfuerzo incremental en remeros tradicionales de élite masculinos. En este estudio doble ciego controlado con grupo placebo y duración de 10 semanas, los participantes (n=28), fueron asignados al azar a un grupo placebo (PLG; n=7), grupo CrM (0,04 g/kg/día de CrM; n=7), grupo HMB (3 g/día de HMB; n=7) y grupo CrM-HMB (0,04 g/kg/día de CrM más 3 g/día de HMB; n=7). Antes y después de las 10 semanas de intervención, se realizó una prueba incremental en un remoergómetro para calcular la potencia que cada remero obtuvo en el umbral anaeróbico (WAT), a 4 mmol/L (W4) y 8 mmol/L (W8) de concentración de lactato en sangre venosa periférica. No hubo diferencias significativas entre grupos en WAT, W4, ni en la composición corporal. Sin embargo, se observó que la potencia aeróbica alcanzada en W8 fue significativamente mayor en el grupo CrM-HMB que en los grupos PLG, CrM y HMB ($p < 0,001$; $\eta^2 p = 0,766$). Asimismo, se encontró un efecto sinérgico de la suplementación combinada en comparación con la suma de los dos suplementos por separado en WAT (CrM-HMBG=403,19% vs. CrMG + HMBG=337,52%), W4 (CrM-HMBG=2736,17% vs. CrMG + HMBG=1705,32%) y W8 (CrM-HMBG=1293,4% vs. CrMG + HMBG=877,56%). En resumen, la suplementación con CrM más HMB durante 10 semanas mostró un efecto sinérgico sobre la potencia aeróbica (medida como WAT, W4 y W8) durante una prueba incremental, pero no influyó en la masa muscular.

Palabras clave: recuperación muscular; umbral de lactato; masa muscular; composición corporal; potencia aeróbica; nutrición deportiva; suplementación

ARTÍCULO 3

El monohidrato de creatina (CrM) y el β -hidroxi β -metilbutirato (HMB) son ayudas ergogénicas ampliamente estudiadas. Sin embargo, ambos suplementos generalmente se estudian de manera aislada. Los pocos estudios que han investigado el efecto de combinar ambos suplementos sobre el daño muscular inducido por el ejercicio (EIMD) y el estado hormonal han reportado resultados controvertidos. Por lo tanto, el objetivo principal de este estudio fue determinar el efecto y el grado de potenciación de 10 semanas de suplementación con CrM más HMB en EIMD y hormonas anabólicas/catabólicas. Este estudio fue un estudio realizado con doble ciego y controlado con grupo placebo en el que los participantes ($n=28$) fueron asignados al azar a cuatro grupos diferentes: grupo placebo (PLG; $n=7$), grupo CrM (CrMG; 0,04 g/kg/día de CrM; $n=7$), grupo HMB (HMBG; 3 g/día de HMB; $n=7$) y grupo CrM-HMB (CrM-HMBG; 0,04 g/kg/día de CrM más 3 g/día de HMB; $n=7$). Antes (punto de partida, T1) y después de 10 semanas de suplementación (T2), se recogieron muestras de sangre de todos los remeros. No hubo diferencias significativas en los marcadores EIMD (aspartato aminotransferasa, lactato deshidrogenasa y creatina quinasa) entre los grupos. Sin embargo, se observaron diferencias significativas en CrM-HMBG con respecto a PLG, CrMG y HMBG en la testosterona ($p=0,006$; $\eta^2p=0,454$) y la relación testosterona/cortisol (T/C; $p=0,032$; $\eta^2p=0,349$). Además, se encontró un efecto sinérgico de la suplementación combinada en testosterona (CrM-HMBG=-63.85% vs. CrMG + HMBG=-37.89%) y T/C (CrM-HMBG=680% vs. CrMG + HMBG=57.68%) y un efecto antagonista sobre el cortisol (CrM-HMBG=131.55% frente a CrMG + HMBG=389.99%). En resumen, la combinación de CrM más HMB mostró un aumento de testosterona y T/C en comparación con los otros grupos después de 10 semanas de suplementación. Además, dicha combinación presentó un efecto sinérgico sobre la testosterona y el T/C, así como un efecto antagonista sobre el cortisol en comparación con la suma de la suplementación individual o aislada.

Palabras clave: recuperación muscular; daño muscular inducido por el ejercicio; lactato deshidrogenasa; creatina quinasa; testosterona; cortisol; nutrición deportiva; suplementación

1. INTRODUCCIÓN



“Una idea se puede considerar como una ilusión hasta que dicha idea se convierte en realidad”

- Mark Twain

1. INTRODUCCIÓN

1.1. REMO

El remo es una actividad que se realiza desde hace más de 5000 años como medio de transporte acuático. Esta actividad no ha parado de evolucionar desde que se utilizaban troncos huecos o cañas atadas como medio de flotación y se impulsaban mediante las piernas o los brazos [4]. Hasta el siglo XIX, el remero se sentaba en una tabla fijada a la estructura del bote, llamado este tipo de remo “de banco fijo”. Con el desarrollo industrial y tecnológico, se introdujeron algunas innovaciones en las embarcaciones, como el apoyo del remo fuera del propio bote por medio de barras adosadas al casco, de hierro (1830), la sustitución de la quilla exterior por una interior (1854), el asiento deslizable o banco móvil (1869) y la chumacera o tolete girable (1874) [4].

El transporte de personas y mercancías propició el remo como deporte, dando lugar en 1715 a la primera competición de remo, la “Doggett’s Coat and Badge Race”, en Londres. Esta competición fue la regata de remo en vigor más antigua y uno de los eventos deportivos vigentes más antiguos. Su práctica se extendió por colegios y universidades inglesas, incluso más allá de las costas inglesas, adquiriendo el remo carácter de deporte distinguido [4]. En otros lugares, como el Golfo de Vizcaya, el mar Cantábrico y Galicia, la razón por las que se iniciaron las competiciones fue por las pugnas durante las labores de pesca entre las embarcaciones, siendo este el origen de las regatas de traineras. La primera regata de traineras fue en el año 1878 en San Sebastián, concretamente la “Bandera de la Concha” [5].

El remo tiene diferentes modalidades deportivas, cada una con sus propias características, como se puede observar en la Tabla 1, diferenciándose en 2 grandes grupos: remo de banco fijo y remo de banco móvil. El remo de banco móvil, es deporte olímpico desde la creación de los Juegos Olímpicos de la Era Moderna, en 1896, siendo olímpicas actualmente 6 de las 8 modalidades élite de la Federación Internacional de Remo (FISA) [6]. La diferencia entre los dos tipos de embarcación, como el propio nombre indica, es que en remo de banco móvil el banco se mueve hacia delante y hacia atrás, mientras que, en el remo de banco fijo, no hay movimiento. Por lo tanto, el porcentaje de implicación de cada grupo muscular varía dependiendo del tipo de embarcación, ganando importancia las piernas en el remo de banco móvil. Concretamente, las piernas aportan el 46%, el tronco un 32% y los brazos un 22% de la potencia requerida para cada palada en el remo de banco móvil. Por otro

lado, en el remo de banco fijo las piernas aportan cerca de un 40% y el tronco y brazos el 60% restante [5].

Tabla 1. Características de las embarcaciones y tripulación de las diferentes modalidades del remo (modificado de González-Aramendi, 2014) [5].

Embarcación	Eslora máxima (m)	Peso mínimo (Kg)	Distancia de regata (m)	Remos por remero (n)	Tripulación	Olimpico (Sí/No)
Remo de banco fijo						
Bateles	7,00	70	2000	1	1 patrón, 4 remeros	No
Trainerillas	9,50	100	3500	1	1 patrón, 6 remeros	No
Traineras	12,00	200	5556	1	1 patrón, 13 remeros	No
Remo de banco móvil						
Scull individual (1x)	8,2	14,0	2000	2	1 remero	Sí
Doble scull (2x)	10,4	27,0	2000	2	2 remeros	Sí
Cuatro scull sin timonel (4x-)	13,4	52,0	2000	2	4 remeros	Sí
Dos sin timonel (2-)	10,4	27,0	2000	1	2 remeros	Sí
Dos con timonel (2+)	10,4	32,0	2000	1	2 remeros + t	No
Cuatro sin timonel (4-)	13,4	50,0	2000	1	4 remeros	Sí
Cuatro con timonel (4+)	13,7	51,0	2000	1	4 remeros + t	No
Ocho con timonel (8+)	19,9	96,0	2000	1	8 remeros + t	Sí

t: timonel

1.2. REMO TRADICIONAL

La Asociación de Clubes de Traineras (ACT), que fue creada el 2 de julio de 2003, es la liga más importante de remo tradicional. Esto fue posible gracias al acuerdo entre Gobiernos de las Comunidades Autónomas de Asturias, Galicia, País Vasco y Cantabria, con el objetivo de convertir este deporte un referente para los futuros jóvenes deportistas. Durante la temporada 2019, los integrantes de la liga fueron 12 equipos (Astillero, Cabo, Donostiarra, Hondarribia, Kaiku, Lekitarra, Ondarroa, Orío, Santurtzi, San Pedro y Urdaibai) que completaron 22 regatas como se puede ver en la Tabla 2 [7].

El remo tradicional de trainera, a pesar de no ser una modalidad olímpica, goza de popularidad en muchos países. Este es un deporte en el que 13 remeros y un patrón montados en una trainera con unas medidas concretas de un máximo de 12 metros de eslora y un peso mínimo de 200 kilogramos, tienen que dar 3 ciabogas o giros para completar una distancia total de 5556 metros en río o mar en el menor tiempo posible [5,8]. Este deporte es de una demanda física muy exigente, ya que los remeros tradicionales completan la distancia en 19-20 minutos después de ejecutar aproximadamente 675-625 paladas con una fuerza media de 400-600 Newtons [5,8]. Esta exigencia se demuestra en las mediciones de concentración de lactato en sangre venosa periférica (LA) inmediatamente después de la competición, siendo las concentraciones de 10,23 mmol/L de media por remero [9].

Además, la energía requerida para este deporte depende tanto del metabolismo anaeróbico (21–30%) como del aeróbico, a pesar de una predominancia del aeróbico con un 70–86% del esfuerzo [8]. Al requerir este deporte tanto la fuerza como la resistencia aeróbica, Izquierdo-Gabarren y colaboradores sugieren que los predictores de rendimiento más importantes del remo tradicional sean el test máximo de 20 minutos (W20 min), la producción de potencia en 10 paladas máximas (W10 paladas), la potencia de la palada asociada a 4 mmol/L (W4), la suma de producción de potencia de las repeticiones realizadas al 75% del 1 RM durante el tirón en banco (Rep75sumTB) y la repetición máxima en press de banca (1RMPB) [8]. Posiblemente, siendo la W4 la prueba más predictiva para determinar el rendimiento en este deporte [10].

Tabla 2. Calendario ACT de la temporada 2019 [7].

Número	Nombre	Lugar	Fecha
1	X Bandera de Bilbao	Bilbao	22-06-2019
2	XXXVI Bandera Petronor - Zierbena	Zierbena	23-06-2019
3	I Bandera Repsol Electricidad y Gas	Santander	29-06-2019
4	XXXIV El Correo Ikurriña - BBK Sari Nagusia	Lekeitio	30-06-2019
5	III Bandera Cidade da Coruña (J1)	A Coruña	06-07-2019
6	III Bandera Cidade da Coruña (J2)	A Coruña	07-07-2019
7	XII Bandera Donostiarra Kaiarriba - Amenabar	San Sebastián	13-07-2019
8	VII Bandera CaixaBank	Castro Urdiales	14-07-2019
9	Orioko XXIX. Estropadak - VII. Orio Kanpina Bandera	Orio	20-07-2019
10	XVIII Bandera Ayuntamiento de Sestao	Sestao	21-07-2019
11	Santurtziko XL. Ikurriña	Santurtzi	27-07-2019
12	Getxoko Estropaden XLI. Ikurriña - J.A. Agirre Lehendakariaren XV. Omenaldia	Getxo	28-07-2019
13	XXXV. Ondarroako Bandera - Cikautxo Sari Nagusia	Ondarroa	10-08-2019
14	Hondarribiko XXXII. Bandera - Mapfre Sari Nagusia	Hondarribia	11-08-2019
15	XLII Zarauzko Estropadak (J1)	Zarauz	17-08-2019
16	XLII Zarauzko Estropadak (J2)	Zarauz	18-08-2019
17	II Bandeira Concello de Bueu - Gran Premio Teccarsa- Rehau-Roto	Bueu	24-08-2019
18	XXIX Bandeira Concello de Boiro	Boiro	24-08-2019
19	Bermeo Hiriko XXXVII. Bandera - Avia Sari Nagusia	Bermeo	14-09-2019
20	Playoff 1	Bermeo	14-09-2019
21	Playoff 2	Portugalete	15-09-2019
22	XLIX GP - XLV Bandera El Corte Inglés	Portugalete	15-09-2019

1.3. PLANIFICACIÓN DEL ENTRENAMIENTO

Los entrenamientos sirven para mejorar las cualidades físicas de los deportistas, y así conseguir el mayor rendimiento posible [11]. Por tanto, el objetivo de la planificación en el remo es obtener un nivel máximo de las capacidades anaeróbicas (alácticas y láctica) y aeróbica durante las competiciones [11]. Para ello, es necesaria una planificación adecuada. Además, en el caso de este grupo de deportistas, las obligaciones laborales o académicas, les obliga a la programación de una única sesión diaria [12]. Así, la temporada se divide en 3 periodos diferentes (preparatorio, competitivo y recuperación) [13].

1.3.1. Periodo preparatorio

El periodo preparatorio, comienza a principios de noviembre y el objetivo principal es conseguir adaptaciones fisiológicas que se relacionen con la mejora en el rendimiento. Al inicio de esta fase, la preparación se centra en trabajo de gimnasio y remoergómetro. Esto es debido a que en esta época la climatología no es adecuada para el trabajo en trainera y las pocas sesiones que se realizan en agua son para la mejora de las cualidades técnicas y conjunción del grupo. A partir del mes de abril, con la mejora climatológica y la cercanía de las competiciones, se reducen las sesiones de gimnasio y remoergómetro y se aumentan las sesiones en agua, para así centrarse en la especificidad del deporte [13]. Durante esta fase, los entrenamientos son mayoritariamente destinados a conseguir una base de resistencia (60% del total del entrenamiento) trabajando en rangos de 2-4 mmol/L [11]. El entrenamiento por encima de umbral anaeróbico tiene su importancia para mejorar el consumo máximo de oxígeno (VO_{2max}), aunque no se recomienda que este tipo de entrenamiento supere el 10% del entrenamiento total. Alrededor del 20% de las horas de entrenamiento se utilizan para el entrenamiento de fuerza que es importante tanto para la mejora de rendimiento como para la prevención de lesiones [14]. Para acabar con la distribución del entrenamiento de esta fase, el tiempo restante sirve para realizar trabajo complementario [11].

1.3.2. Periodo competitivo

El periodo competitivo comienza a finales de junio y termina a mediados de septiembre. Durante esta fase en la que habitualmente se realizan 2 competiciones semanales (sábados por la tarde y domingos al mediodía), el objetivo principal es la competición y recuperación entre estas [13]. El tipo de entrenamiento que se realiza durante esta fase es mayoritariamente de carácter aeróbico (70% del total del entrenamiento) [11,15]. Por otro lado, el trabajo aeróbico-anaeróbico (entrenamiento en de concentraciones de LA de 4-8 mmol/L) consiste en un 25% del total. El restante 5% consiste en trabajo puramente anaeróbico, por encima de 8 mmol/L [11].

1.3.3. Periodo de recuperación

Por último, el periodo final es el de recuperación. Esta última fase comienza a mediados septiembre y finaliza a finales de noviembre. Durante esta fase, los deportistas desconectan de la práctica deportiva para descansar física y mentalmente de este exigente deporte y así coger fuerzas para la siguiente temporada [13].

1.4. CONTROL DEL ENTRENAMIENTO

Para un adecuado control del entrenamiento, se realizan diferentes pruebas a los deportistas, tanto para evaluar su estado físico como para establecer las zonas de entrenamiento óptimas. Al haber variaciones del estado de forma de los deportistas durante la temporada, son esenciales estas pruebas para sacar el mayor beneficio posible del entrenamiento.

Para determinar el estado de forma o las zonas de entrenamiento se realizan pruebas de esfuerzo individuales en remoergómetros [16]. Las mediciones de consumo VO_{2max} de forma directa, no se realizan varias veces por temporada, al requerirse un instrumental avanzado, costoso y de difícil acceso. Entonces, se realizan diferentes pruebas más accesibles como son las siguientes:

1.4.1. Umbral anaeróbico individual (UAI)

Este umbral se obtiene a través de una prueba de esfuerzo y hay diferentes pruebas para medirlo. Uno de los métodos más eficaces para medir este umbral es el método “D-max” [17]. Este método consiste en crear una línea de regresión entre la LA al principio y al final de una prueba de ejercicio incremental, así como una línea de regresión polinómica de tercer orden que represente la cinética del lactato en sangre durante el ejercicio. El punto en el que se observa la distancia máxima entre la curva polinómica y la línea recta se define como el “D-max”. Esta explicación se puede observar en la Figura 1 de forma más sencilla y visual.

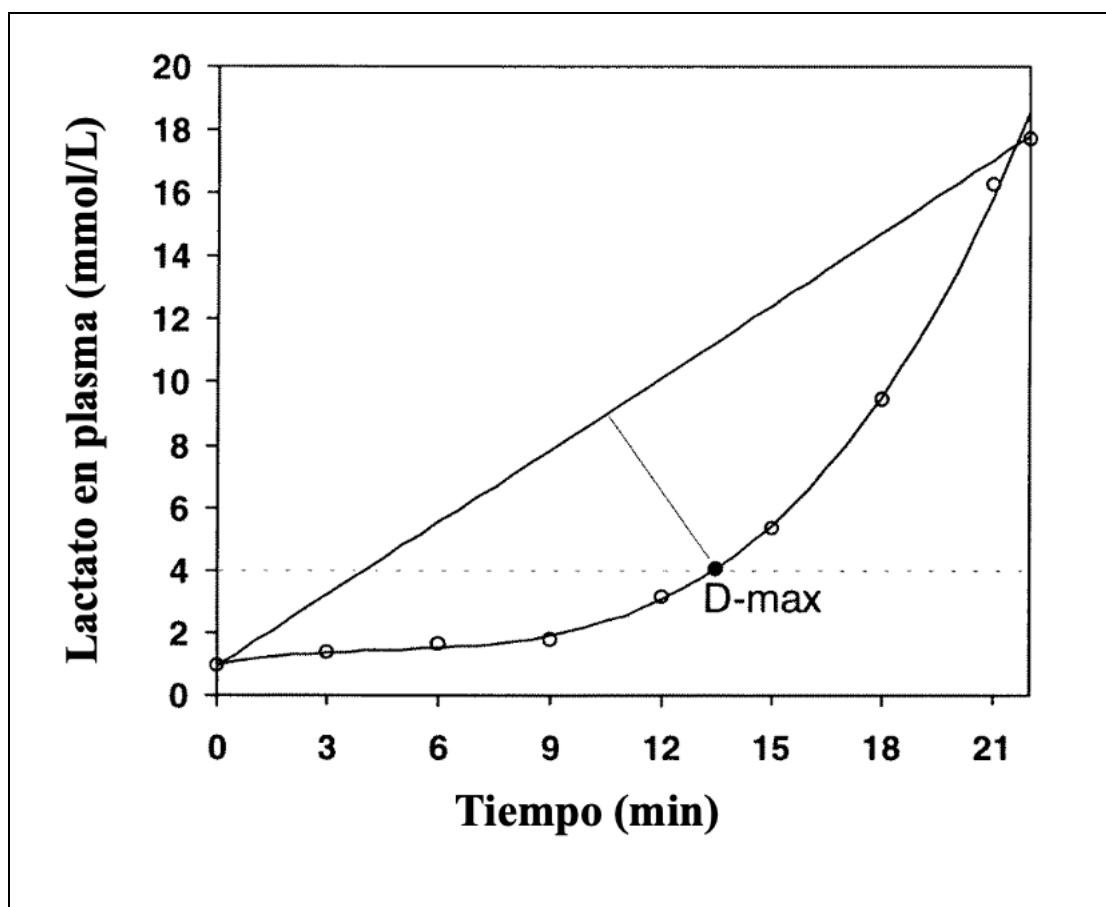


Figura 1. Expresión gráfica de la obtención del “D-max” [17]

1.4.2. Umbral de 4 mmol/L de lactato

El valor de 4 mmol/L de lactato fue propuesto en 1976 por Mader [18], 5 años más tarde fue renombrado por Sjodin y Jakobs con las siglas OBLA, referentes a su significado en inglés “Onset Blood Lactate Accumulation” [19]. Una concentración superior a 4 mmol/L

se ha establecido como el límite entre la predominancia aeróbica y la anaeróbica [18]. Además, la potencia generada a esta intensidad, es un indicador del rendimiento para el remo de banco fijo como demostraron Izquierdo-Gabarren y colaboradores [8].

1.4.3. Potencia aeróbica máxima (PAM)

La PAM o la velocidad aeróbica máxima (VAM) es la intensidad de trabajo en la que se logra alcanzar el VO_{2max} [20,21]. Por lo tanto, la PAM es de mayor intensidad que el IAT y el W4, ya que está asociado a valores cercanos a 8 mmol/L de lactato (W8) [22]. Dicha medición es de gran utilidad para los entrenadores a la hora de diseñar y controlar el entrenamiento [23,24]. Además, la PAM ha sido definida como uno de los mejores predictores del rendimiento en el remo olímpico [25–27].

1.5. FATIGA

A pesar de intentar controlar las zonas de entrenamiento, la exigencia del intenso entrenamiento de los deportistas de competición puede conllevar un alto nivel de estrés físico y mental, produciendo niveles altos de fatiga [28]. Dicha fatiga resulta en una disminución en la capacidad de producir fuerza [28–30]. La fatiga puede ser aguda o crónica dependiendo de la duración de esta. La aguda supone una disminución momentánea del rendimiento que suele volver a los niveles normales transcurridas unas horas. Estos niveles de fatiga son incluso deseables para producir un efecto de supercompensación y, por lo tanto, una mejor adaptación [31,32]. Sin embargo, la fatiga crónica consiste en un descenso en el rendimiento, produciendo entrenamiento excesivo no funcional o un síndrome de sobreentrenamiento [33,34]. El entrenamiento excesivo no funcional implica una disminución del rendimiento durante un mes, hasta que vuelve a niveles anteriores. Por otro lado, el síndrome de sobreentrenamiento es más grave, ya que el descenso en el rendimiento se prolonga durante más de un mes [31,33].

A nivel fisiológico, una activación muscular intensa y/o prolongada produce un incremento en la ratio de adenosín difosfato y adenosín trifosfato (ADP/ATP). Ello conlleva a una disminución de la enzima ATPasa y por lo tanto, la imposibilidad de producir energía a través de la degradación de ATP [35]. Cuando el ratio ADP/ATP se incrementa, hay una pequeña reducción en la bomba de ion de calcio (Ca^{2+}) e incrementa la filtración de Ca^{2+} del retículo sarcoplasmático al citoplasma, acción que está relacionado con la fatiga [28]. La acumulación intracelular de Ca^{2+} activa la calpaína. Esta es una proteasa neutra no lisosomal

situada en las regiones I y Z del sarcómero, que se activa a través del incremento de la concentración de calcio y es responsable de la degeneración de los discos Z del sarcómero, produciendo así daño muscular inducido por el ejercicio (EIMD) [36]. Los marcadores más habituales de EIMD son la creatina quinasa (CK), lactato deshidrogenasa (LDH), incluso el aspartato aminotransferasa (AST).

El EIMD es dependiente del nivel de entrenamiento de los deportistas, la intensidad, la duración del ejercicio y del tipo de deporte [37]. Particularmente las contracciones excéntricas y las acciones de alto impacto producen significativamente más EIMD que las contracciones concéntricas y las de bajo impacto [37].

La degeneración muscular producida por el ejercicio está relacionada con incremento en la CK, especialmente la enzima citosólica CK-MM, que es la que se encuentra principalmente en las líneas M de los sarcómeros del músculo esquelético [37]. Los niveles de CK sanguíneos se empiezan a considerar niveles altos cuando se sitúan entre 300 IU/L y 500 IU/L. Este marcador, puede seguir incrementándose hasta 24–96 horas después del ejercicio, llegando a alcanzar 4 veces los niveles de reposo [37,38].

El EIMD también está relacionado con incrementos del LDH, una enzima proteica que interconvierte piruvato en lactato en la sangre [37]. Los niveles sanguíneos de esta enzima pueden seguir incrementado hasta 3-5 días después de haber realizado ejercicio, llegando a duplicar los valores en reposo [6]. El incremento depende del tipo de ejercicio o deporte, siendo más elevado este número cuanto más exigente sea la actividad [6].

Por otro lado, las hormonas anabólicas-catabólicas también tienen un valor importante para monitorizar las adaptaciones al entrenamiento [39]. Sin embargo, a diferencia de los marcadores de EIMD expuestos anteriormente, las hormonas anabólicas como la testosterona (T) o las catabólicas como el cortisol (C), nos dan una información de adaptación a largo plazo [40,41].

La T es una hormona anabólica y androgénica secretada por el eje hipotalámico-hipofisario-testicular. La señal para la producción y liberación de T gonadal se origina en el hipotálamo. Las neuronas especializadas en el hipotálamo producen y secretan la hormona liberadora de gonadotropina. La hormona liberadora de gonadotropina viaja directamente a la glándula pituitaria anterior a través de la vena porta hipotalámica-hipofisaria. En la hipófisis, la hormona liberadora de gonadotropina estimula la producción y liberación de la hormona luteinizante y la hormona foliculoestimulante a partir de las células gonadótropas.

Después de su liberación, estas 2 hormonas entran en la circulación y se transportan a las gónadas. Allí, la hormona luteinizante estimula la producción de T en las células de Leydig de los hombres y las células de la teca de las mujeres [42,43]. Un incremento de este marcador, es indicador de un estado anabólico [39,44,45]. La T actúa como un potenciador de otros mecanismos hormonales como la hormona del crecimiento (GH) y el factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1) en el proceso anabólico [46]. También tiene su efecto en el sistema nervioso al poder interactuar con receptores en las neuronas, incrementar la cantidad de neurotransmisores liberados, regenerar nervios, incrementar el tamaño del cuerpo celular y el tamaño/diámetro de las dendritas [47,48]. También estimula la síntesis de proteínas e inhibe la degradación de proteína como efecto anabólico y anti-catabólico respectivamente [43].

Por el contrario, el C es una hormona esteroidea de la familia de los glucocorticoides, siendo el más importante de esta familia ya que ocupa el 95% de la actividad de todos los glucocorticoides [49]. Esta es secretada por el eje hipotalámico-hipofisario-adrenal cuando hay un estado catabólico como respuesta al estrés producido por el ejercicio [39,44,45]. Durante el ejercicio, este eje responde a numerosos estímulos como las señales homeostáticas neuronales (quimiorreceptores, estimulación barorreceptora y osmoreceptor), señales homeostáticas circulantes (glucosa, leptina, grelina y péptido natriurético auricular) y señales inflamatorias (interleucina-1, interleucina-6 y factores de necrosis tumoral- α) [50]. El C se libera a través de una cascada iniciada por la activación de neuronas que contienen factor liberador de corticotropina del hipotálamo. El factor liberador de corticotropina se secreta por el hipotálamo, y se transporta a la glándula pituitaria anterior, donde estimula la secreción de la hormona adrenocorticotrófica a la circulación periférica. La hormona adrenocorticotrófica a su vez, estimula directamente la corteza suprarrenal para que sintetice y secrete glucocorticoides a la circulación general [51]. El C estimula la lipólisis en las células adiposas del tejido periférico. Además, en las células musculares incrementa la degradación proteolítica y disminuye la síntesis de proteínas. Por esta razón se liberan lípidos y aminoácidos en a la circulación sanguínea [49].

Después de analizar el efecto de T y C para el control del estado anabólico-catabólico, se puede interpretar la relación de estas dos hormonas por sus fines antagónicos. Por ello, el ratio testosterona/cortisol (T/C), ha sido propuesto como un indicador de adaptación al entrenamiento, indicando el incremento de este ratio una mejor adaptación [52,53].

Los marcadores sanguíneos explicados en este apartado sirven para determinar el estrés y fatiga debido al desequilibrio entre carga de entrenamiento y recuperación [54]. Este control de la fatiga, tanto a largo como a corto plazo, puede ayudar a prevenir efectos negativos del entrenamiento o competición, una recuperación insuficiente, el sobreentrenamiento o lesiones asociadas [55,56].

1.6. RECUPERACIÓN

Los deportistas de élite, al tener un nivel tan alto de estrés fisiológico por la exigencia de sus entrenamientos, necesitan mantener un equilibrio adecuado entre entrenamiento y recuperación [33]. El entrenamiento prolongado y excesivo y/o una insuficiente recuperación puede resultar en un entrenamiento excesivo no funcional o un síndrome de sobreentrenamiento [33,34]. Esto puede conllevar a un incremento del estrés y/o fatiga y, consecuentemente, un empeoramiento o estancamiento del rendimiento [33,57].

Para sobreponerse a los exigentes estímulos del entrenamiento, la recuperación es de vital importancia. Por ello, para reducir el riesgo de una recuperación insuficiente, se recomienda una aplicación sistemática de estrategias de recuperación y descanso, junto con estrategias relacionadas con el estilo de vida como el sueño, dieta y actividades sociales [55].

Uno de los factores más importantes para una correcta recuperación es la nutrición. Una adecuada ingesta de energía es necesaria para conseguir una masa corporal adecuada, salud, maximizar los efectos del entrenamiento y, por ende, mejorar el rendimiento [58]. Además, ingestas bajas de energía pueden resultar en una pérdida excesiva de masa muscular, incluso aumentar el riesgo de fatiga, lesión o enfermedad. Los contratiempos que pueden ser ocasionados por una ingesta de energía inadecuada, pueden conllevar un proceso de recuperación prolongado [58]. Por lo tanto, para garantizar una nutrición adecuada hay que prestar especial atención a la duración, intensidad, tipo de ejercicio, frecuencia de entrenamiento y cuantificación en los periodos pre y post ejercicio [59]. Concretamente, en el remo es esencial mantener una nutrición apropiada para prevenir tanto enfermedades como lesiones y a su vez poder maximizar las adaptaciones del entrenamiento y la recuperación [60].

1.7. AYUDAS ERGOGENICAS

Como ayuda adicional para maximizar la recuperación, los suplementos y los alimentos deportivos son interesantes. Además de poder acelerar el proceso de recuperación, pueden proporcionar beneficios como prevención o tratamiento de deficiencias nutricionales, un efecto placebo y a veces, un efecto ergogénico directo. Pero no hay muchos suplementos que aseguren un efecto ergogénico respaldado por la evidencia científica [61].

1.7.1 Monohidrato de creatina (CrM)

Precisamente, uno de los suplementos deportivos más estudiados y con mayor evidencia científica es el CrM, que sirve para aumentar los niveles de creatina (Cr) [62,63]. La cantidad total de Cr en el músculo es de 120 mmol/kg de media para personas de 70 kg, pudiendo llegar a haber niveles de 160 mmol/kg en individuos con misma masa corporal [64]. La mayoría de Cr se encuentra en el músculo esquelético (~95%), mientras que el ~5% restante se encuentra en cerebro y testículos [65,66]. Respecto a la Cr en el músculo, esta se divide en fosofocreatina (PCr) y Cr libre, ocupando la PCr dos tercios del total y la Cr libre el tercio restante [62].

La Cr se sintetiza principalmente en hígado y riñones, aunque una pequeña parte también se produce en el páncreas [62,67]. La Cr se sintetiza en estos órganos a través de 2 procesos diferentes. Para empezar reaccionan la glicina y la metionina, catalizada por la enzima arginina:glicina aminotransferasa (AGAT), formando guanidinoacetato (GAA). Después el GAA reacciona con S-adenosil metionina a través de la enzima guanidinoacetato N-metiltransferasa (GAMT) formando finalmente la Cr como se puede observar en la figura 2 [62,67]. Algunos individuos pueden tener dificultades para sintetizar endógenamente la Cr debido a errores congénitos por deficiencias en AGAT, GMAT y/o en el transportador de creatina (CRTR), siendo más dependientes de la ingesta exógena de CrM para mantener concentraciones óptimas de PCr y Cr libre [62].

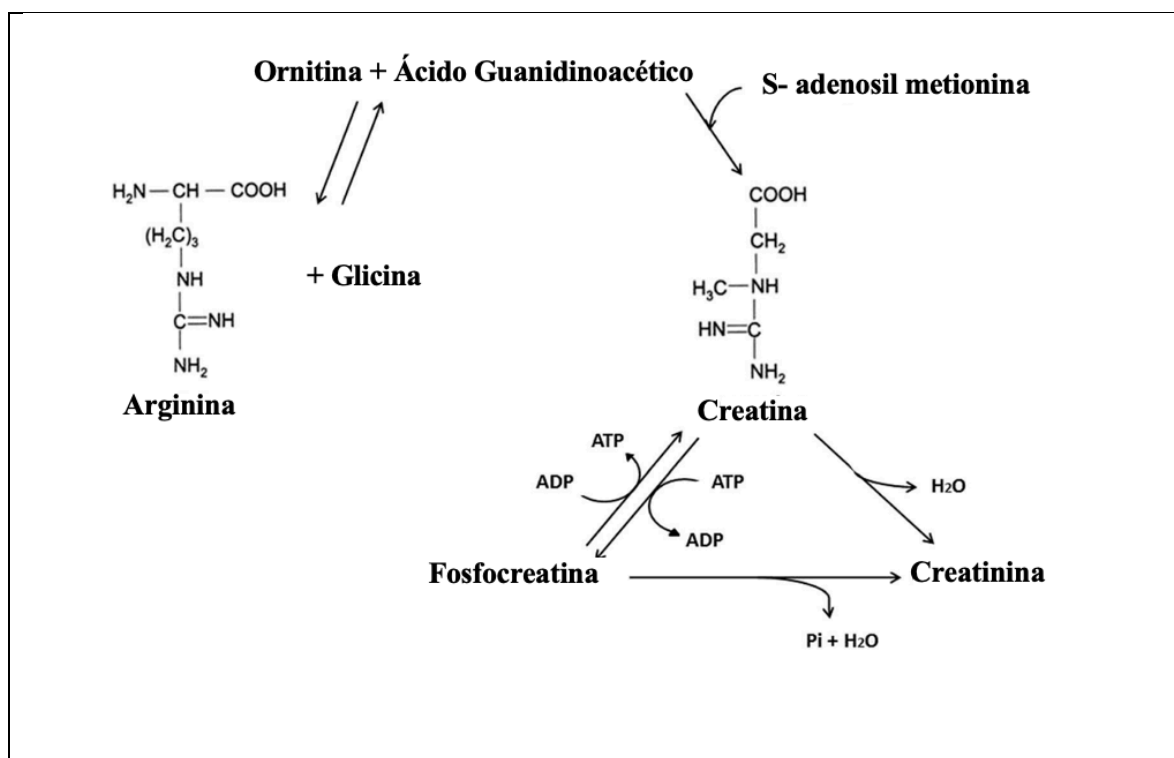


Figura 2. Estructura química y vía bioquímica para la síntesis de Cr [62,66]

Sin embargo, la síntesis de Cr no es suficiente para tener los depósitos de Cr normales, ya que el cuerpo necesita entre 1 y 3 gramos de Cr. Aproximadamente, la mitad de la Cr diaria necesaria se obtiene a través de la dieta [68,69]. Los principales alimentos que contienen Cr son la carne roja y los mariscos [70–73]. Habitualmente, una dieta aporta entre 1 y 2 gramos de Cr [69]. En este caso, los músculos tienen una saturación en torno al 60-80% de los depósitos de Cr [62,74–77].

La suplementación con CrM sirve para incrementar los depósitos musculares de Cr alrededor del 20-40% [64]. Para conseguir este incremento hay dos métodos diferentes comúnmente utilizados. El primero de los métodos es ingerir 5 g (o 0,3 g/kg de masa magra) de CrM 4 veces al día durante los primeros 5-7 días, después, cuando los depósitos musculares de Cr están llenos, se ingieren entre 3-10 g/día con el objetivo de mantenerlos llenos. El segundo método, tarda más en llenar los depósitos de Cr, ya que consiste en ingerir una cantidad de 3 g/día de CrM durante 28 días.

Este suplemento es uno de los más conocidos y estudiados que estén relacionados con el rendimiento físico y la salud [62,63]. Sin embargo, los resultados de los estudios sobre el efecto del CrM en la capacidad aeróbica son bastante inconsistentes, ya que hay algunos

estudios en los que se pueden observar mejoras significativas [78–80] y otros en las que no [81–86]. Aunque cabe añadir que en ninguno de estos estudios se han superado las 4 semanas de periodo de suplementación para analizar cómo afecta a largo plazo.

También se ha investigado como afecta el CrM al EIMD y a los marcadores hormonales, habiendo resultados inconsistentes otra vez en ambos casos. En el caso del EIMD, algunos estudios han mostrado disminución de la CK [87] y LDH [87–89], mientras que otros no han encontrado efectos significativos en valores de CK [88,89]. Por otro lado, solo hay 3 estudios que analicen la el nivel hormonal de los deportistas [90–92]. Ninguno de estos estudios muestra diferencias en T y C, salvo el estudio de Vatani y cols. que encuentra un aumento significativo en T [92]. Sin embargo, estos resultados parecen debidos a un efecto agudo, ya que se mide inmediatamente después de un exigente test, y no a una adaptación. Hay que añadir que para conseguir adaptaciones inducidas por el entrenamiento en la T y C, es necesario un mínimo de tiempo (8-16 semanas) [40].

La mejora por ingesta de CrM en la capacidad aeróbica puede deberse a un retraso o disminución de la fatiga durante el ejercicio y la mejora en la posterior recuperación debido a las diferentes vías fisiológicas a las que afecta [62].

El CrM puede mejorar el rendimiento aeróbico por su influencia en el sistema CK/PCr. Como se puede observar en la Figura 3, este sistema puede retrasar la fatiga incrementando la refosforilación de adenosín difosfato (ADP) a adenosín trifosfato (ATP) a través de la enzima CK-MM por unidad de tiempo. Por lo tanto, a igualdad de duración e intensidad de ejercicio se reduciría el ratio ADP/ATP [35,38]. Otra de las vías por la que el CrM puede retrasar la fatiga es incrementando los depósitos de glucógeno muscular [93,94], aunque no está clara la razón de este incremento [93]. Esto puede ser importante, porque la depleción del glucógeno muscular puede alterar la fatiga disminuyendo la liberación de Ca^{2+} del retículo sarcoplasmático [28]. Sin embargo, el mecanismo de cómo los bajos niveles de glucógeno afectan al fallo en la liberación de calcio desde el retículo sarcoplasmático no está claro todavía [28].

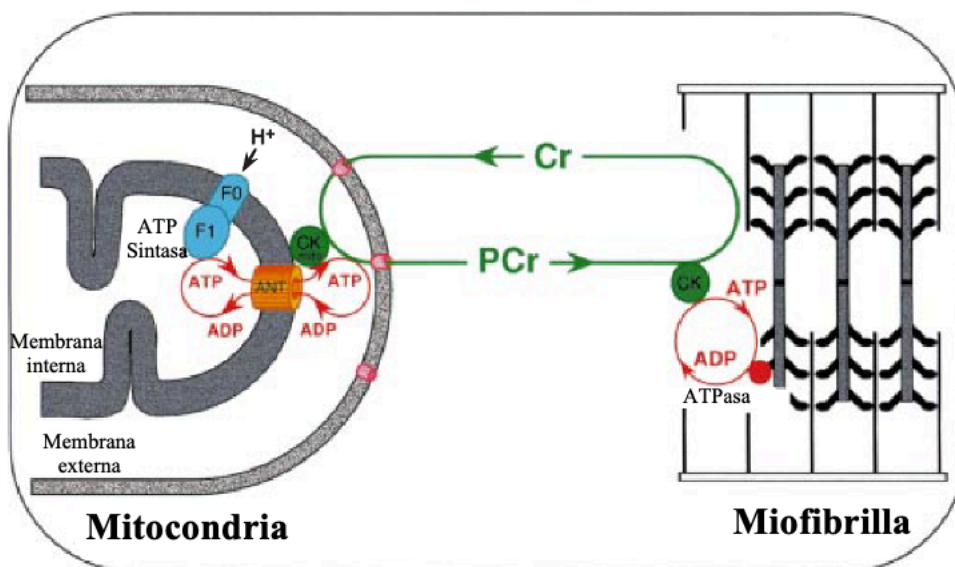


Figura 3. Explicación gráfica del sistema CK/PCr [95]

Además, este suplemento puede acelerar la recuperación de después del ejercicio aumentando la síntesis de proteína activando IGF-1 y por lo tanto, la vía fosfatidilinositol 3 kinasa (PI3K/Akt) [96]. Incluso, el CrM puede afectar en la recuperación incrementando la transcripción de las células satélite, mejorando el factor de regulación miogénica 4 (MRF-4) [97,98], que influye concretamente en la fusión del proceso de transcripción [99].

Algunos de estos mecanismos inducidos por el CrM pueden variar la composición corporal, que es uno de los factores que puede resultar determinante en algunos deportes [100]. Estos cambios pueden producirse en valores como masa corporal magra (LBM), masa corporal (BM), masa grasa (FM) y masa libre de grasa (FFM). Este suplemento puede aumentar la masa muscular incrementando la síntesis de proteínas [96] e incrementando la presión osmótica en el músculo [101–103].

A parte de los beneficios en el rendimiento deportivo y recuperación, este es un suplemento considerado seguro, ya que el único efecto secundario reportado consistentemente ha sido el incremento de la masa corporal. Además, no hay evidencia de que al dejar de tomar este suplemento los niveles de Cr muscular caigan por debajo de la línea de base. Por lo tanto, parece no afectar a la síntesis endógena de Cr.

1.7.2 β -hidroxi β -metilbutirato (HMB)

Otro de los suplementos que puede ayudar a recuperar mejor y a mejorar el rendimiento es el β -hidroxi β -metilbutirato (HMB), aunque con un nivel de evidencia más bajo que el CrM [63]. El HMB es un subproducto del aminoácido de cadena ramificada (BCAA), leucina, que tiene un papel clave en el metabolismo de las proteínas. La leucina es un aminoácido esencial que no se sintetiza naturalmente en el cuerpo, por lo que es necesario ingerirla [104].

La formación de HMB a través de la leucina, se produce mediante un proceso que tiene lugar en el músculo e hígado. La leucina se convierte en alfa-Cetoisocaproato (KIC) en una transaminación reversible a través de la enzima transferasa BCAA en el músculo. Ya en el hígado el KIC puede producir isovaleril-Coa mediante la enzima deshidrogenasa de cetoácidos de cadena ramificada en la mitocondria o en HMB a través de la enzima dioxigenasa KIC en el citosol. La mayoría del KIC es transformada en isovaleril-Coa, mientras que tan solo el 5-10% del KIC se convierte en HMB [104–106]. Después, el HMB se convierte en HMG-CoA en el citosol del hígado y actúa como un precursor de la síntesis de colesterol que actúa como constituyente de las membranas celulares [104,107,108]. Sin embargo, no está claro el transportador del HMB a la célula muscular. A pesar de que una parte es transportada acoplado a H^+ y otra es llevada por transportadores de monocarboxilato acoplados a Na^+ , no se sabe cómo se traslada la mayor parte del HMB hacia la célula muscular [109].

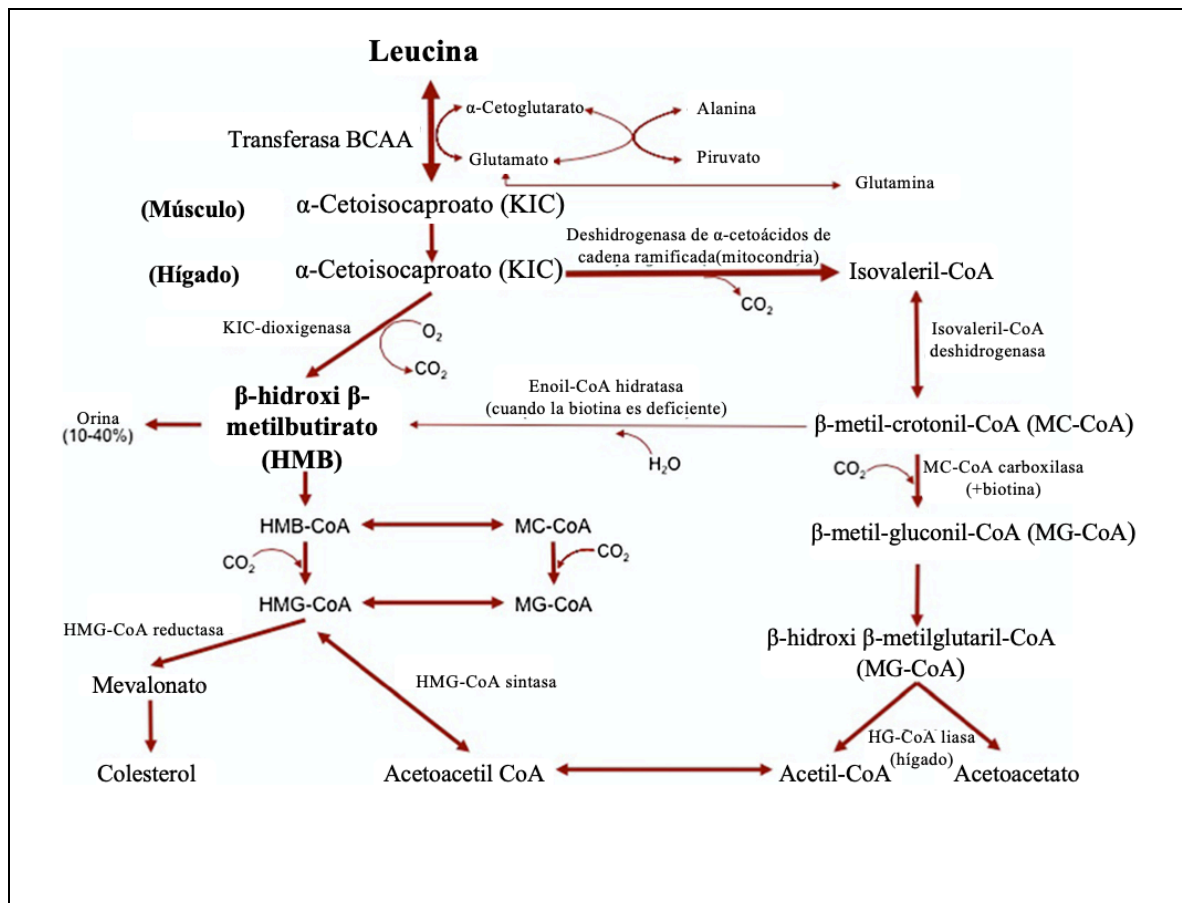


Figura 4. Metabolismo del HMB [104]

Aunque es posible encontrar HMB de forma natural en algunas plantas o alimentos animales, estas cantidades son muy bajas [110–112]. Por lo tanto, la forma más fácil para conseguir HMB con productos de la naturaleza es mediante la ingesta de leucina [104]. Sin embargo, las concentraciones farmacológicamente activas de HMB en el músculo y la sangre solo se pueden lograr mediante altas ingestas de HMB [113,114], que se suele administrar habitualmente en cantidades entre 3 y 6 gramos por día [115,116]. Con el objeto de situarlo en perspectiva, una persona necesitaría consumir más de 600 g de proteína de alta calidad para obtener la cantidad de leucina necesaria (60 gramos) para conseguir la dosis diaria de 3 g de HMB [101]. Debido a que la ingesta de dicha cantidad de proteína no es práctica, las cantidades de HMB requeridas pueden ser aumentadas por suplementos dietéticos [104].

Dicho suplemento se consume para aumentar la cantidad de HMB en los músculos y la sangre. En la mayoría de estudios se toma junto con el desayuno, el almuerzo y la cena, sin tener en cuenta el momento del entrenamiento [104]. Para optimizar los efectos crónicos de HMB, la recomendación más habitual es consumir 3 gramos diarios, divididos en tres porciones iguales [104].

El HMB es una ayuda ergogénica que ha sido investigada en el ámbito del rendimiento deportivo y de la recuperación, con resultados controvertidos [104,107,117]. El efecto de este suplemento en el rendimiento aeróbico no es una excepción, ya que hay algunos estudios que muestran mejoras en esta capacidad [118–121], mientras que otros no muestran cambios [122,123]. Sin embargo, en las únicas 2 investigaciones en las que se ha realizado un protocolo de suplementación a largo plazo, más de 8 semanas, se han observado mejoras [118–121].

Por otro lado, se ha investigado cómo afecta el HMB al EIMD y a los marcadores hormonales, habiendo también resultados inconsistentes en ambos casos. En el caso del EIMD, algunos estudios han mostrado disminución de la CK [124–126] y LDH [125], mientras que otros no muestran cambios en las enzimas CK [120,121,127] y LDH [120,121,127]. Estas diferencias podrían estar mediadas por diferencias metodológicas en el momento de la toma de muestra de sangre. Es decir, los estudios en los que la toma de sangre se hizo inmediatamente después del ejercicio, no tuvieron efecto en niveles de CK y LDH en sangre [120,121,127]. Mientras que cuando las mediciones que se recopilaban tras un mínimo de 12 horas del último ejercicio, sí que se encontraron diferencias significativas en el EIMD [124–126]. Por otro lado, la mayoría de los mismos que investigan el efecto de HMB sobre las hormonas catabólicas-anabólicas no mostraron cambios en la T [120,121,123,127,128] y el C [120,121,123,127], habiendo solo un estudio que observó un efecto positivo al verse reducida la concentración de C en reposo [126]. Sin embargo, en todos los estudios que no encontraron efecto en la T o el C [120,121,123,127], se tomaron muestras de sangre después de un ejercicio sin mostrar un cambio de adaptación hormonal, probablemente contaminado por el efecto agudo del ejercicio anterior. El único estudio que encontró un decremento significativo en el C se encontró después de la suplementación de HMB (3 g/día en 3 porciones diferentes) a largo plazo (12 semanas) [126]. Esto puede ser debido a que para conseguir adaptaciones producidas por el entrenamiento en la T y C, es necesario un mínimo de tiempo (8-16 semanas) [40].

Las mejoras en la capacidad aeróbica después de la ingesta de HMB pueden deberse a un retraso o disminución de la fatiga durante el ejercicio y la posterior recuperación debido a las diferentes vías fisiológicas a las que afecta [104].

La vía por la cual el HMB podría influir en el retraso de la fatiga puede ser a través de una mejora de la síntesis de glucógeno [129], debido a una inhibición de la glucógeno sintasa quinasa 3 (GSK3), que regula negativamente la síntesis de glucógeno [130]. El

aumento del glucógeno muscular puede ser importante, ya que el bajo almacenamiento de glucógeno está asociado al fallo en la liberación del Ca^{2+} por el retículo sarcoplásmico, como se explicó anteriormente [28]. El HMB también puede aumentar la oxidación de grasas, y por lo tanto ahorrar glucógeno, al incrementar la biogénesis mitocondrial. La biogénesis mitocondrial se incrementa con la ingesta de HMB al aumentar la expresión del gen receptor activado por proliferador de peroxisoma (PGC-1 α) [131].

Por otro lado, dicho suplemento puede tener influencia en la recuperación por diferentes vías reduciendo la degradación de proteínas y aumentando la síntesis de proteínas. El HMB puede reducir la descomposición de las proteínas mediante la inhibición de la actividad proteolítica del sistema ubiquitina-proteosoma [121], mediante la inhibición de la proteína quinasa C (PKC) y, por lo tanto, del factor nuclear kappa B (NF- κ B), que está involucrado en la transcripción de citocinas en las células del hígado [132,133]. Además, puede aumentar la síntesis de proteínas mediante la estimulación de IGF-I [134]. IGF-1 estimula la vía PI3K/Akt que activa la fosforilación de la diana de rapamicina en células de mamífero (mTOR). En consecuencia, activa la proteína ribosómica S6 quinasa (p70S6k). Esta proteína mejora la traducción del ácido ribonucleico mensajero (ARNm) que codifica las proteínas ribosómicas y los factores de elongación [135,136] e inhibe la traducción eucariótica factor de iniciación 4E-proteína de unión 1 (4E-BP1) [137]. De esta forma incrementa la síntesis de proteína del músculo esquelético. Asimismo, el HMB puede influir en la transcripción de células satélite activando la vía de la proteína quinasa activada por mitógeno/proteína quinasa regulada por señal extracelular (MAPK/ERK) y la vía PI3K/Akt [138], y mejorar así la proliferación y diferenciación respectivamente [99].

Estos mecanismos fisiológicos, también pueden variar la composición corporal [121,131,134]. De este modo, el HMB puede influir en valores como LBM, BM, FM y FFM. Así, este suplemento puede aumentar la masa muscular aumentando la síntesis de proteínas [134] y disminuyendo la degradación muscular [121]. Además, puede reducir la masa grasa al incrementarse la oxidación de grasas [131].

La seguridad del HMB ha sido ampliamente estudiada [105,139–142]. En un estudio realizado en ratas por la Agencia de Medicamentos y Alimentación (FDA), no se certificó ningún efecto adverso con respecto a observaciones clínicas, hematología, química clínica o peso de órganos después de que las ratas que consumieron una dieta de hasta 5% de HMB durante 91 días [142]. Dicho estudio no encontró niveles de efectos adversos observados después de la ingesta de 3,49 y 4,16 g/kg de masa corporal de HMB para ratas machos y

hembras, respectivamente [36]. Estas cantidades serían el equivalente a un varón humano de 81 kg que consume casi 50 g de HMB-Ca por día durante tres meses sin efectos adversos, según la dosis equivalente humana normalizada al área de superficie corporal [104]. Teniendo en cuenta que la cantidad de 3 g/día recomendada para la mejora del rendimiento y recuperación está muy alejada de los 50 g/día, no debería producir ningún efecto secundario.

1.8. COMBINACIÓN DE CrM Y HMB

En general, estos suplementos han sido investigados sin mezclarse con otros [78–86,118–123], a pesar de que habitualmente se utilizan de forma conjunta [60]. Dado que estos suplementos tienen diferentes vías fisiológicas para mejorar el rendimiento y la recuperación [92–94,110,129,143–145], se podría asumir que la combinación de CrM y HMB pudiese tener mayor efecto que tomándolos por separado. Por ejemplo, algunos autores han demostrado efectos sinérgicos de 2 suplementos deportivos, como es el caso de la beta-alanina y CrM, aumentando la capacidad física de trabajo en el umbral de fatiga neuromuscular [82,146]. Sin embargo, los pocos estudios que analizan la combinación de CrM y HMB no demuestran efectos claros en parámetros de rendimiento y/o recuperación [147–152].

Además, hay que añadir que al mezclarse 2 ayudas ergogénicas diferentes, puede ser interesante analizar el efecto interactivo entre estas (sinérgico, multiplicativo, antagónico o anulador) para ver el efecto real de cada suplemento y si es efectivo mezclarlas o no [153]

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS



“El éxito tiene una simple fórmula: da lo mejor de ti y puede que a la gente le guste”

- Sam Ewing

2. HIPÓTESIS Y OBJETIVOS

La suplementación deportiva ha demostrado ser de gran importancia en el ámbito deportivo, ya que puede dar un plus en la mejora del rendimiento y/o recuperación. El efecto producido es dependiente de la sustancia y dosis tomada ya que no todas producen el mismo efecto. El Instituto Australiano del Deporte tiene una clasificación de estas ayudas ergogénicas clasificándolas según la evidencia científica de cada una [63].

A pesar de que algunos suplementos tienen alta evidencia en la mejora del rendimiento, hay que interpretar en qué deportes pueden ser efectivos y en cuáles no tendría un efecto positivo la ingesta de estos. Por ello, los profesionales del deporte tienen que tomar la decisión de qué suplementos utilizar.

En este sentido, 2 de los suplementos populares son el CrM y el HMB. Es habitual que deportistas tomen estos suplementos con la intención de mejorar el rendimiento, aunque hay pocos estudios al respecto. Concretamente, estas 2 ayudas ergogénicas son recomendadas para la mejora de rendimiento en el remo, que es un deporte de predominancia aeróbica. Sin embargo, a pesar de que estos dos suplementos se recomiendan tomar conjuntamente en este deporte, todavía no hay ningún estudio que muestre los efectos de la mezcla de estos dos suplementos. Además, sería interesante tanto analizar cómo afecta esta combinación a marcadores tanto de rendimiento como de recuperación como calcular el efecto potenciación de la mezcla en un periodo de suplementación de largo plazo.

Por lo tanto, esta tesis doctoral se centra en 3 hipótesis y 3 objetivos principales:

2.1. HIPÓTESIS

1) La literatura científica confirma que la combinación de CrM y HMB mejora el rendimiento deportivo, la composición corporal, los marcadores de EIMD y las hormonas anabólico-catabólicas en comparación con sus efectos aislados

2) La combinación de CrM y HMB podría mejorar la potencia aeróbica medida por una prueba incremental en remeros masculinos tradicionales de élite durante el periodo competitivo.

3) La combinación de CrM y HMB podría mejorar los niveles de EIMD y de hormonas anabólico-catabólicas en remeros tradicionales masculinos de élite durante el período competitivo.

2.2. OBJETIVOS

1) Determinar la eficacia de mezclar CrM más HMB para mejorar el rendimiento deportivo, la composición corporal, los marcadores de EIMD y las hormonas anabólico-catabólicas en comparación con sus efectos aislados.

2) Determinar la eficacia y el grado de potenciación de 10 semanas de suplementación con una mezcla de 0.04 g/kg/día (≈ 3 g/día) de CrM más 3 g/día de HMB en la potencia aeróbica medida por una prueba incremental en remeros masculinos tradicionales de élite durante el periodo competitivo.

3) Determinar el efecto y el grado de potenciación de la mezcla a largo plazo (10 semanas) de 0.04 g/kg/día de CrM (≈ 3 g/día) más 3 g/día de HMB en marcadores de EIMD y en las hormonas anabólico-catabólicas en remeros tradicionales masculinos de élite durante el período competitivo.

3. MÉTODOS



“Pelea hasta el último aliento”

- William Shakespeare

3. MÉTODOS

3.1. ESTUDIO 1

3.1.1. Estrategias de búsqueda de literatura

Esta revisión sistemática se realizó de acuerdo con las pautas de la declaración PRISMA® (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) y el modelo PICOS para la definición de los criterios de inclusión: P (Población): "atletas", I (Intervención): "Impacto de la combinación de CrM y HMB en el deporte", C (Comparadores): "mismas condiciones con placebo, solo HMB o solo CrM", O (Resultado): "rendimiento deportivo, composición corporal, daño muscular y estado hormonal" y S (diseño del estudio): "ensayo clínico" [154]. Se realizó una búsqueda sistemática de la literatura científica actual para los estudios que investigaron la suplementación mixta de CrM más HMB en el rendimiento deportivo y la recuperación. Los estudios se encontraron buscando en las bases de datos: PubMed/MEDLINE, Web of Science (WOS) y Scopus desde el inicio hasta el 3 de julio de 2019, utilizando la siguiente ecuación de búsqueda booleana: ("creatine monohydrate supplementation"[All Fields] OR "creatine supplementation"[All Fields]) AND ("HMB supplementation"[All Fields] OR "beta hydroxy beta methylbutyrate supplementation"[All Fields] OR (beta-Hydroxy[All Fields] AND methylbutyrate[All Fields] AND supplementation[All Fields])) AND ("muscle damage" [All Fields] OR "hormone status"[All Fields] OR ("athletes"[MeSH Terms] OR "athletes"[All Fields]) OR ("exercise"[MeSH Terms] OR "exercise"[All Fields]) OR "sport performance"[All Fields] OR "body composition"[All Fields]). A través de dicha ecuación, se obtuvieron artículos relevantes en este campo y además se utilizó la estrategia de bola de nieve. Todos los títulos y resúmenes de la búsqueda fueron contrastados para identificar duplicados y posibles estudios faltantes. Los títulos y resúmenes se seleccionaron para una posterior revisión de texto completo.

3.1.2. Criterios de inclusión y exclusión

Para los artículos obtenidos mediante esta búsqueda, se aplicaron los siguientes criterios de inclusión para la selección de estudios: 1) un experimento bien diseñado que incluyera la ingestión de la combinación de CrM más HMB; 2) con una situación experimental idéntica relacionada con la ingestión de un placebo, solo CrM y/o solo HMB; 3) que midiera los efectos de la suplementación mixta en el rendimiento deportivo, la

composición corporal, el daño muscular y el estado hormonal; 4) que fuera ensayo clínico; 5) que la con información fuera clara sobre la administración de ayudas ergogénicas (dosis y tiempo); y 6) que estuviera publicado en cualquier idioma. Los siguientes criterios de exclusión se aplicaron a los protocolos experimentales de la investigación: 1) que la suplementación se mezclara con otros suplementos o era un compuesto de múltiples ingredientes; y 2) que estuviera llevado a cabo en participantes con unas condiciones previas, como lesión o problemas de salud. No se aplicaron filtros en el nivel, el género, el origen étnico o la edad de los atletas para aumentar el poder analítico del análisis.

Una vez aplicados los criterios de inclusión y exclusión a cada estudio, fueron extraídos los datos sobre la fuente del estudio (incluidos los autores y el año de publicación), el diseño del estudio, la administración de suplementos (dosis y tiempo), el tamaño de la muestra y las características de los participantes (nivel, raza y sexo).

3.1.3. Mediciones de los resultados

Se examinó la literatura sobre los efectos de la combinación de CrM más HMB en el rendimiento deportivo utilizando varias variables de resultado, como el rendimiento deportivo [147,149–152], la composición corporal [147,149,150], el daño muscular [147,148,150–152] y el estado hormonal [148].

3.1.4. Evaluación de la calidad de los experimentos

La calidad metodológica y el riesgo de sesgo fueron evaluados de acuerdo a la Cochrane Collaboration Guidelines [155]. Esta guía divide los ítems en seis dominios: sesgo de selección (generación de secuencia y ocultamiento de la asignación); sesgo de realización (cegamiento de los participantes y del personal); sesgo de detección (cegamiento de la evaluación del resultado); sesgo de desgaste (datos de resultados incompletos); sesgo de notificación (notificación selectiva de los resultados); y otras fuentes de sesgo.

Se caracterizaron como "bajo" si se cumplían los criterios para un bajo riesgo de sesgo (sesgo plausible que probablemente no altere seriamente los resultados) o "alto" si se cumplían los criterios para un alto riesgo de sesgo (sesgo plausible que debilita seriamente la confianza en el resultado), o se consideró "poco claro" si se desconocía el riesgo de sesgo (sesgo plausible que genera dudas sobre los resultados). Los detalles completos se muestran en la Figura 5 y la Figura 6.

	Generación de secuencia (sesgo de selección)	Ocultamiento de la asignación (sesgo de selección)	Cegamiento de los participantes y del personal (sesgo de realización)	Cegamiento de la evaluación del resultado (sesgo de detección)	Datos de resultados incompletos (sesgo de desgaste)	Notificación selectiva de los resultados (sesgo de notificación)	Otras fuentes de sesgo
Crowe et al., 2003 [148]	●	?	●	●	+	+	●
Faramarzi et al., 2009 [151]	+	?	+	?	+	+	●
Jowko et al., 2001 [147]	+	?	+	+	+	+	+
O,Connor et al., 2003 [152]	●	?	●	●	+	+	●
O,Connor et al., 2007 [149]	●	?	●	●	+	+	●
Zajac et al., 2003 [150]	+	?	?	?	+	+	●

Figura 5. Resumen del riesgo de sesgo de cada artículo incluido. ● indica bajo riesgo; ? indica riesgo de sesgo desconocido; ● indica alto riesgo de sesgo

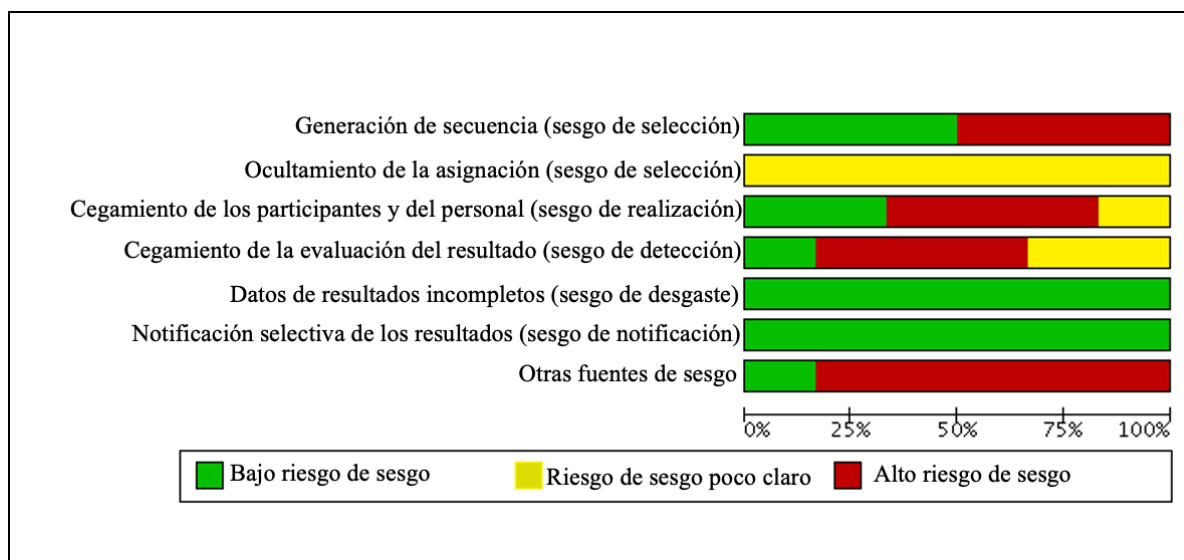


Figura 6. Gráfico de riesgo de sesgo presentado en porcentaje de los estudios incluidos

3.2. ESTUDIO 2

3.2.1. Participantes

Veintiocho remeros tradicionales de élite masculinos ($30,43 \pm 4,65$ años; $23,92 \pm 1,85$ kg/m² y $8,3 \pm 1,15\%$ de masa grasa) que pertenecían a un club de remo de la liga ACT, con más de 5 años de experiencia en remo tradicional de alto nivel participaron en este estudio con un diseño de doble ciego y controlado con un grupo placebo. Todos los remeros realizaron 6 días/semana de entrenamiento. El mismo equipo monitorizó las sesiones de entrenamiento consistentes en 1,5 horas/día, (incluyendo la práctica de remo, entrenamiento individual de fuerza y de prevención y protocolos de recuperación) durante 10 semanas en la temporada (período competitivo con 2 rondas oficiales de remo por semana). Además, el dietista-nutricionista del club elaboró una dieta personalizada para cada remero. Las dietas se propusieron utilizando pautas de energía y macronutrientes previamente establecidas para un rendimiento deportivo adecuado, y se basaron en la carga de entrenamiento, las características personales y las intolerancias de cada participante [156].

Se realizó un examen médico antes de comenzar el estudio para verificar que los participantes no tenían ninguna enfermedad o lesión previa. Ningún participante tenía ninguna enfermedad, ni fumaba, ni bebía alcohol ni tomaba medicamentos, lo que alteraría la respuesta hormonal. Asimismo, para evitar la posible interferencia de otros suplementos nutricionales en las diferentes variables medidas en esta investigación, se introdujo un período de lavado de 10 días. Además, durante el período de investigación, los atletas solo tomaron el suplemento asignado y el batido de recuperación consistente en carbohidratos (CHO) y proteínas.

Todos los participantes pasaron un examen físico, fueron informados completamente de todos los aspectos del estudio y firmaron una declaración de consentimiento informado. Esta investigación fue diseñada de acuerdo con la Declaración de Helsinki (2008), con la actualización de Fortaleza (2013) [157] y aprobada por el Comité de Ética en Investigación Humana de la Universidad del País Vasco, Vitoria, España con el número M10/2017/247.

3.2.2. Protocolo experimental y plan de evaluación

Este estudio fue diseñado como un estudio de doble ciego aleatorizado y controlado con placebo para analizar los efectos de la suplementación oral de 10 semanas de 0,04 g/kg/día de CrM; 3 g/día de HMB; 0,04 g/kg/día de CrM más 3 g/día de HMB; o placebo en el rendimiento deportivo medido por una prueba incremental [158]. Las dosis propuestas se eligieron en función de la seguridad y la eficacia de la suplementación con Cr y HMB en el ejercicio, el deporte y la medicina [62,104].

Los participantes fueron asignados aleatoriamente en 4 grupos diferentes utilizando un diseño de bloque estratificado por el software SPSS. Un estadístico independiente generó la secuencia de aleatorización: 1. Grupo de placebo (PLG; n=7; altura: 184,9±2,4 cm y masa corporal: 81,9±6,3 kg), 2. Grupo tratado con 0,04 g/kg/día de CrM (CrMG : n=7; altura: 183,4±7,8 cm y masa corporal: 81,2±5,0 kg), 3. Grupo tratado con 3 g/día de HMB (HMBG; n=7; altura: 185,5±10,1 cm y masa corporal: 79,9±12,2 kg) y 4. Grupo tratado con 0,04 g/kg/día de CrM más 3 g/día de HMB (CrM-HMBG; n=7; altura: 181,6±4,3 cm y masa corporal: 78,0±4,7 kg). Todos los participantes asistieron al laboratorio (08:30 a.m.) para la extracción de sangre en 2 puntos específicos durante el estudio: 1) al inicio del estudio (T1) y 2) después del tratamiento (T2, el día después de 10 semanas de tratamiento).

Los 4 grupos tomaron suplementos o placebo durante los 6 días de entrenamiento semanal junto con un batido de recuperación con sabor a chocolate (1 g/kg de CHO + 0.3 g/kg de proteína) en la media hora después de terminar el ejercicio [162]. No se agregó ninguna sustancia al PLG, pero los atletas no estaban al tanto de esta situación, ya que el sabor estaba enmascarado con el sabor a chocolate. En los días libres, los remeros tomaron la misma dosis de suplementos 30 minutos antes de acostarse. Ninguno de los participantes usó ninguna sustancia previa al entrenamiento. Un nutricionista independiente al club hizo los batidos con la cantidad de suplemento correspondiente para cada grupo, por lo que ni los remeros ni los investigadores sabían la suplementación que los participantes estaban tomando. Además, el mismo nutricionista verificó todos los días que todos los remeros cumplían con el protocolo de ingesta de suplementos. El CrM se obtuvo del polvo Creapure[®], mientras que el HMB se obtuvo con HMB-Ca FullGas[®] (Fullgas Sport, S.L, 20115 Astigarraga, Guipúzcoa (España)).

3.2.3. Prueba de esfuerzo incremental

Para evaluar el rendimiento de los atletas, se realizó una prueba incremental en T1 y T2. Las 2 sesiones de prueba se realizaron a las 6:30 p.m. en un pabellón deportivo cubierto con condiciones estándar (temperatura: 21°C y humedad: 60%), para mantener las condiciones iguales en ambas pruebas. Las pruebas se realizaron después de un calentamiento estandarizado de 15 minutos. El calentamiento incluyó 10 minutos de remo constante con dos aceleraciones de 1 minuto (en los minutos 3 y 5 del calentamiento) y 5 minutos de aceleraciones y ejercicios de prevención de lesiones que consisten en movimientos generales, estiramiento dinámico/estático y estabilidad del core. Todos los remeros consumieron 3 g/kg de CHO en las 1-4 horas antes de ambas pruebas [156].

La prueba incremental [158], se realizó en un ergómetro de remo interior (sistema Concept II, modelo D, Morrisville, VT, EE. UU), en el que se fijó el asiento para permanecer estático durante la prueba [159]. La prueba se realizó con etapas de 3 minutos de intensidad progresiva hasta la fatiga con intervalos de descanso de 30 segundos entre etapas para obtener muestras de LA en el lóbulo de la oreja. La carga de trabajo inicial fue de 100W. Una vez que se inició la prueba y en cada etapa, se le pidió al remero que mantuviera la intensidad constante (W) y las paladas constantes [160]. La intensidad se incrementó en 40 W en cada etapa posterior hasta el agotamiento. El agotamiento se definió como la incapacidad del remero para realizar 3 paladas consecutivas a la potencia estipulada. Se determinó que utilizando criterios estándares para remeros la pruebas de esfuerzo máximas eran válidas [161].

3.2.4. Concentración de lactato en sangre

Las muestras de LA se obtuvieron mediante muestras (5 µl) del lóbulo de la oreja de cada remero antes de comenzar la prueba y al final de cada etapa de 3 minutos. El LA se determinó mediante un analizador Lactate Scout (EKF Diagnostics®, Penarth, Cardiff, Reino Unido) siguiendo las instrucciones del fabricante [162]. Para evitar la variabilidad entre analizadores, se utilizó el mismo analizador para ambas pruebas en todos los participantes. La validez del analizador se garantizó verificando los valores medidos con los estándares de lactato de acuerdo con las instrucciones del fabricante [162].

3.2.5. Determinación de los umbrales

Después de obtener los diferentes valores de LA en cada etapa del protocolo incremental, se representaron gráficamente como una función continua contra el tiempo. Luego, se extrapola la potencia que obtuvo cada remero en el umbral anaeróbico (WAT), a 4 mmol (W4) y 8 mmol (W8). Para el cálculo del WAT, se utilizó el método D-max [17,163].

3.2.6. Antropometría

Las medidas antropométricas se tomaron siguiendo el protocolo de “The International Society for the Advancement of Kinanthropometry” (ISAK) [164]. Además, el mismo antropometrista certificado internacionalmente (ISAK nivel 3) tomó las medidas a todos los participantes. Todas las mediciones se realizaron por duplicado para una adecuada fiabilidad. Si la diferencia entre las medidas duplicadas excedía el 5% para un pliegue cutáneo individual, se tomaba una tercera medida. Para los análisis se utilizaron la media de las mediciones antropométricas duplicadas o las medianas en las triplicadas. La altura (cm) se midió utilizando una varilla de medición SECA[®], con una precisión de 1 mm, mientras que el BM (kg) se evaluó mediante una báscula modelo SECA[®], con una precisión de 0,1 kg. El índice de masa corporal (IMC) se calculó utilizando la ecuación $BM/altura^2$ (kg/m²). Se calculó la suma de 6 pliegues cutáneos (mm) (tríceps, subescapular, suprailíaco, abdominal, muslo frontal y pantorrilla interna), previamente medidos con un plicómetro Harpenden[®], con una precisión de 0,2 mm. Las circunferencias (cm) (circunferencia relajada del brazo, circunferencia del muslo y circunferencia de la pantorrilla) se midieron con una cinta de medición estrecha, metálica e inextensible Lufkin[®] modelo W606PM con una precisión de 1 mm. La FM se calculó utilizando la ecuación de Yushasz modificada por Carter [165] y para el cálculo de la masa muscular (MM) se utilizó la fórmula elaborada por Lee [166].

3.2.7. Evaluación de la dieta

Todos los participantes fueron informados sobre el seguimiento adecuado de los alimentos por los mismos nutricionistas y dietistas capacitados [167]. Instruyeron a los atletas sobre dos métodos validados de recuerdo dietético. El primer método fue completar en T2 un cuestionario de frecuencia alimentaria (FFQ), que se ha utilizado previamente para la

población deportiva [168]. Este FFQ, pedía a los participantes que recordaran su consumo promedio basado en ciertas categorías de "frecuencia" durante las 10 semanas anteriores e incluía 139 alimentos y bebidas diferentes, organizados por tipo de alimento y patrón de comida. Las categorías de frecuencia se basaron en la cantidad de veces que se consumió un artículo por día, por semana o por mes. El consumo diario de energía (kcal) y cada macronutriente en gramos se determinó dividiendo la ingesta informada por la frecuencia en días.

El segundo método fue un recuerdo dietético de 7 días en T1 y T2 de los 7 días anteriores a la prueba, para examinar si los resultados de este recordatorio eran similares a los del FFQ. Si los participantes habían pesado los alimentos, entonces esos datos se utilizaron para el recordatorio, sin embargo, si no era posible pesar los alimentos, los tamaños de las porciones consumidas se estimaron a partir del peso estándar de los alimentos o al determinar el tamaño de las porciones mirando un libro con 500 fotografías de alimentos. Los valores de los alimentos se convirtieron en ingestas de energía total, macronutrientes y micronutrientes mediante un paquete de software validado (EasyDiet[®], versión 2019). Este paquete de software fue desarrollado por el Centro Español de Estudios Superiores en Nutrición y Dietética, que se basa en tablas españolas de composición de alimentos [169]. Además, se calculó la ingesta total de energía y macronutrientes que cada atleta realizó en relación con cada kg de BM.

3.2.8. Análisis estadístico

Todas las variables se presentan como medias y desviaciones estándar (SD). Los cambios porcentuales de las variables estudiadas en cada grupo de estudio entre las pruebas T1 y T2 se calcularon como Δ (%): $[(T2 - T1)/T1] \times 100$.

La prueba de Shapiro-Wilk se utilizó para determinar la normalidad de los datos ($n < 50$) en todas las variables continuas, por lo tanto, utilizamos fórmulas paramétricas. Además, se aplicó la prueba de Levene para medir la homocedasticidad de las varianzas. Los niveles medios de Δ (%), la ingesta dietética y la producción de potencia de la prueba incremental en T1 y T2 se compararon mediante un análisis de covarianza de un factor con la categoría de suplementos como factor fijo. Se aplicó la prueba post-hoc de Bonferroni para las comparaciones por pares entre los grupos. Asimismo, las diferencias de T1 a T2 en cada grupo se evaluaron mediante una prueba T para muestras relacionadas. Además, se utilizó la prueba de análisis de varianza (ANOVA) de medidas repetidas para examinar los efectos de

las interacciones (tiempo x grupo de suplementación) entre los grupos de suplementación (PLG, CrMG, HMBG y CrM-HMBG) en la producción de potencia durante la prueba incremental.

Los tamaños del efecto entre los participantes se calcularon utilizando la eta cuadrada parcial (η^2p). Dado que es probable que esta medida sobreestime los tamaños del efecto, los valores se interpretaron de acuerdo con Ferguson [170], que indica que no tiene ningún efecto si $0 \leq \eta^2p < 0,05$; un efecto mínimo si $0,05 \leq \eta^2p < 0,26$; un efecto moderado si $0,26 \leq \eta^2p < 0,64$; y un fuerte efecto si $\eta^2p \geq 0,64$.

El siguiente cálculo se utilizó para expresar las variables en condición de CrMG, HMBG y CrM-HMBG como un cambio porcentual de PLG [153].

Cambio normalizado (%) =

$$[\text{Tratamiento (CrMG, HMBG o CrM-HMBG)/Control (PLG)} - 1] \times 100.$$

Con el objetivo de calcular las interacciones entre los tratamientos que se combinaron, se utilizaron las variables A y B: 1) Efecto aditivo=A&B combinado=A + B individualmente; 2) Efecto sinérgico=A&B combinado>A + B individualmente; 3) Efecto antagonista = A&B combinado<A + B individualmente; 3) efecto anulador=A&B combinado=A o B individualmente; 4) Efecto multiplicativo=A&B combinado = A × B individualmente [153].

Los análisis se realizaron con el software SPSS versión 24.0 (SPSS, Inc., Chicago, Illinois, EE. UU.) y Microsoft Excel (software Microsoft Excel versión 19). La significación estadística se indicó cuando $p < 0,05$

3.3. ESTUDIO 3

3.3.1. Participantes

Veintiocho remeros tradicionales de élite masculinos ($30,43 \pm 4,65$ años y $59,92$ ml/min/kg de $VO_{2m\acute{a}x}$), pertenecientes a 1 de los 12 equipos que componen la ACT, participaron en este estudio. Aunque algunos ellos, tuvieron lesiones leves y pudieron faltar a algunas sesiones de entrenamiento, todos completaron el estudio de manera rigurosa y sin abandono. Estos remeros entrenaron con la misma carga y realizaron el mismo número de sesiones de entrenamiento, con una duración diaria de 1,5 horas, 6 días/semana durante 10 semanas durante la temporada (período competitivo). Por lo tanto, el nutricionista del club de remo desarrolló una dieta personalizada para cada participante. Las dietas para un rendimiento deportivo adecuado se sugirieron utilizando pautas de energía y macronutrientes [156], considerando el volumen de entrenamiento, la carga de entrenamiento y las características individuales de cada remero.

Todos los atletas completaron un cuestionario de historial médico y pruebas electrocardiográficas y cardiopulmonares. Ningún participante estaba enfermo, ni fumaba, ni bebía alcohol, ni tomaba otros medicamentos, lo que alteraría la respuesta hormonal. Asimismo, para evitar la posible interferencia de otros suplementos nutricionales en las diferentes variables medidas en esta investigación, se introdujo un período de lavado de 2 semanas.

Todos los remeros fueron completamente informados de todos los procedimientos del estudio y firmaron una declaración de consentimiento informado. Esta investigación fue diseñada de acuerdo con la Declaración de Helsinki (2008) y la actualización de Fortaleza (2013) y fue aprobada por el Comité de Ética en Investigación Humana de la Universidad del País Vasco, Vitoria (M10/2017/247).

3.3.2. Protocolo experimental y plan de evaluación

Este estudio fue diseñado como un estudio doble ciego, aleatorizado y controlado con placebo para evaluar la influencia de la suplementación oral de 10 semanas de CrM más HMB en los marcadores de EIMD y las hormonas anabólicas/catabólicas en esta población deportiva.

Los participantes fueron asignados aleatoriamente a cuatro grupos (PLG, CrMG, HMBG y CrM-HMBG) por un estadístico independiente utilizando un diseño de bloque estratificado: PLG (n=7; altura: 184,9±2,4 cm y masa corporal: 81,9±6,3 kg), CrMG (n=7; 0,04 g/kg/día de CrM; altura: 183,4±7,8 cm y masa corporal: 81,2±5,0 kg), HMBG (n = 7; 3 g / día de HMB; altura: 185,5±10,1 cm y masa corporal: 79,9±12,2 kg), y CrM-HMBG (n=7; 0,04 g/kg/día de CrM más 3 g/día de HMB; altura: 181,6±4,3 cm y masa corporal: 78,0±4,7 kg). Las dosis de suplementación de CrM y HMB se seleccionaron de acuerdo con un estándar de suplementación para el rendimiento atlético [34, 35] y en remeros de élite [60]. Todos los participantes asistieron al laboratorio a las 8:30 a.m. para la extracción de sangre en dos momentos diferentes durante el período de intervención: (1) al inicio del estudio (T1) y (2) después del tratamiento, al acabar las 10 semanas de suplementación (T2).

Todos los remeros realizaron 6 sesiones de ejercicio por semana durante las 10 semanas de estudio (que fueron exactamente iguales para todos los participantes), con una duración de 1,5 h/día (distribuido en 60% de trabajo aeróbico en una trainera, 30% de entrenamiento de fuerza en el gimnasio y 10% de entrenamiento complementario: prevención de lesiones, estabilidad central y movilidad articular). Estas sesiones de ejercicio incluyeron dos regatas oficiales de remo o entrenamiento equivalente por semana. Los atletas completaron un total de 96,6 horas de ejercicio durante el estudio.

Todos los participantes tomaron placebo o suplementos durante los 6 días de entrenamiento semanal mezclados con un batido de recuperación con sabor a chocolate (1 g/kg de CHO y 0,3 g/kg de proteína) dentro de la media hora de terminar el ejercicio [171]. No se agregó ninguna sustancia de enmascaramiento al PLG, dado que los atletas desconocían el contenido del batido de recuperación al tener todos los remeros el mismo sabor en el batido. En el día libre, todos los remeros ingirieron la misma dosis de suplementos 30 minutos antes de acostarse en un batido de chocolate proporcionado por un nutricionista independiente. Los deportistas e investigadores no sabían qué suplementación (doble ciego) estaba tomando cada uno, porque un nutricionista independiente del club de remo hizo los batidos de recuperación con la suplementación individual y verificó que todos los remeros cumplieran con el protocolo de ingerir los suplementos. El CrM se adquirió del polvo Creapure® y el HMB de HMB-Ca FullGas® (Fullgas Sport, S.L, 20115 Astigarraga, Guipúzcoa, España).

3.3.3. Análisis de sangre

Para la evaluación de los marcadores de EIMD y los parámetros hormonales en T1 y T2, se obtuvieron muestras de sangre de la vena antecubital de todos los atletas. Todas las muestras se tomaron en condiciones basales después de, al menos, 12 h de ayuno y 36 h sin ejercicio. Para estandarizar las muestras de sangre en T1 y T2, los remeros realizaron la misma sesión de entrenamiento en la última sesión de entrenamiento antes de la recolección de muestras de sangre. Esta sesión de entrenamiento consistió predominantemente en actividad concéntrica (daño muscular inferior) y fue de corta duración (30 min). En T1 y T2, los remeros llegaron al laboratorio a las 8:30 a.m. y las muestras de sangre se recogieron después de estar en reposo durante 30 minutos.

Los marcadores bioquímicos de EIMD (AST, CK y LDH) se midieron usando un autoanalizador automático (Hitachi 917, Japón).

El estado hormonal se midió en este estudio (T y C) a través de diferentes métodos. La T sérica se midió mediante kits de prueba de inmunsorbentes enzimáticos disponibles comercialmente (DRG testosterone ELISA kit[®], DRG Instruments GmbH, Marburg/Lahn, Alemania). El coeficiente de variación intraensayo (CV) fue del 4,3% y el CV entre los ensayos fue del 9,2%. Por otro lado, para la medición del C, se usó una prueba fluorescente ligado a enzimas con la ayuda de un analizador multiparamétrico (Minividas[®], Biomerieux, Marcy l'Etoile, Francia). Se usó el sustrato 4-metilumbeliferona y se realizó la emisión de fluorescencia a 450 nm, y después de la estimulación, a 370 nm. El CV intra-ensayo fue del 5,7% y el CV del inter-ensayo fue del 6,2%.

3.3.4. Antropometría y composición corporal

El protocolo de la ISAK [164] se utilizó para las mediciones antropométricas y todos los participantes fueron medidos por el mismo antropometrista certificado internacionalmente (ISAK nivel 3), tanto en T1 como en T2.

Todas las mediciones se tomaron dos veces y si la diferencia entre ambas medidas excedió el 5% para un pliegue cutáneo individual, se tomó una tercera medición. Para el análisis, cuando la medición se tomó dos veces, se eligió la media, y cuando se tomaron tres mediciones, se eligió la mediana. La altura (cm) se midió utilizando una varilla de medición SECA[®], con una precisión de 1 mm, mientras que el BM (kg) se evaluó mediante una báscula

modelo SECA[®], con una precisión de 0,1 kg. El índice de masa corporal (IMC) se calculó utilizando la ecuación $BM/altura^2$ (kg/m²). Se calculó la suma de 6 pliegues cutáneos (mm) (tríceps, subescapular, suprailíaco, abdominal, muslo frontal y pantorrilla interna), previamente medidos con un plicómetro Harpenden[®], con una precisión de 0,2 mm. Las circunferencias (cm) (circunferencia relajada del brazo, circunferencia del muslo y circunferencia de la pantorrilla) se midieron con una cinta de medición estrecha, metálica e inextensible Lufkin[®] modelo W606PM con una precisión de 1 mm. La FM se calculó utilizando la ecuación de Yushasz modificada por Carter [165] y para el cálculo de la masa muscular (MM) se utilizó la fórmula elaborada por Lee [166].

3.3.5. Evaluación de la dieta

Todos los participantes fueron informados sobre el seguimiento adecuado de los alimentos por los mismos nutricionistas y dietistas capacitados [167]. Instruyeron a los atletas sobre dos métodos validados de recuerdo dietético. El primer método fue completar en T2 un FFQ, que se ha utilizado previamente en población deportiva [168]. Este FFQ, pedía a los participantes que recordaran su consumo promedio basado en ciertas categorías de "frecuencia" durante las 10 semanas anteriores e incluía 139 alimentos y bebidas diferentes, organizados por tipo de alimento y patrón de comida. Las categorías de frecuencia se basaron en la cantidad de veces que se consumió un artículo por día, por semana o por mes. El consumo diario de energía (kcal) y cada macronutriente en gramos se determinó dividiendo la ingesta informada por la frecuencia en días.

El segundo método fue un recuerdo dietético de 7 días en T1 y T2 de los 7 días anteriores a la prueba, para examinar si los resultados de este recordatorio eran similares a los del FFQ. Si los participantes habían pesado los alimentos, entonces esos datos se utilizaron para el recordatorio, sin embargo, si no era posible pesar los alimentos, los tamaños de las porciones consumidas se estimaron a partir del peso estándar de los alimentos o al determinar el tamaño de las porciones mirando un libro con 500 fotografías de alimentos.

Los valores de los alimentos se convirtieron en ingestas de energía total, macronutrientes y micronutrientes mediante un paquete de software validado (EasyDiet[®], versión 2019). Este paquete de software fue desarrollado por el Centro Español de Estudios Superiores en Nutrición y Dietética, que se basa en tablas españolas de composición de alimentos [169]. Además, se calculó la ingesta total de energía y macronutrientes que cada atleta realizó en relación con cada kg de BM.

3.3.6. Análisis estadístico

Los datos se presentan como medias \pm SD. La significación estadística se indicó cuando $p < 0,05$. Las diferencias de T1 a T2 en cada grupo se evaluaron mediante pruebas t para muestras relacionadas, después de que se estableció la normalidad de los datos con la prueba de Shapiro-Wilk ($n < 50$) basada en datos paramétricos o no paramétricos.

Se usó una prueba de análisis ANOVA de medidas repetidas para examinar los efectos de interacción (tiempo \times grupo de suplementación) entre los grupos de suplementación (PLG, CrMG, HMBG y CrM-HMBG). Se aplicó una prueba post-hoc de Bonferroni para las comparaciones por pares entre los grupos. Los cambios porcentuales de las variables estudiadas en cada grupo de estudio entre las pruebas de referencia (T1) y post-tratamiento (T2) se calcularon como Δ (%): $((T2 - T1) / T1) \times 100$.

Los tamaños del efecto entre los participantes se calcularon utilizando la eta cuadrada parcial (η^2_p). Dado que es probable que esta medida sobreestime los tamaños del efecto, los valores se interpretaron de acuerdo con Ferguson [170], que indica que no tiene ningún efecto si $0 \leq \eta^2_p < 0,05$; un efecto mínimo si $0,05 \leq \eta^2_p < 0,26$; un efecto moderado si $0,26 \leq \eta^2_p < 0,64$; y un fuerte efecto si $\eta^2_p \geq 0,64$.

El siguiente cálculo se utilizó para expresar las variables en condición de CrMG, HMBG y CrM-HMBG como un cambio porcentual de PLG [153].

Cambio normalizado (%) =

$$[Tratamiento (CrMG, HMBG o CrM-HMBG)/Control (PLG) - 1] \times 100.$$

Con el objetivo de calcular las interacciones entre los tratamientos que se combinaron, se utilizaron las variables A y B: 1) Efecto aditivo=A&B combinado=A + B individualmente; 2) Efecto sinérgico=A&B combinado>A + B individualmente; 3) Efecto antagonista = A&B combinado<A + B individualmente; 3) Efecto anulador=A&B combinado=A o B individualmente; 4) Efecto multiplicativo=A&B combinado = A \times B individualmente [153].

Los análisis se realizaron con el software SPSS versión 24.0 (SPSS, Inc., Chicago, Illinois, EE. UU.) y Microsoft Excel (software Microsoft Excel versión 19). La significación estadística se indicó cuando $p < 0,05$.

4. RESULTADOS



“No se puede derrotar a la persona que nunca se rinde”

- Babe Ruth

4. RESULTADOS

4.1. ESTUDIO 1

4.1.1. Búsqueda principal

Una búsqueda en las tres bases de datos electrónicas observó 17 estudios relevantes, con 3 estudios adicionales encontrados por búsquedas en listas de referencias (Figura 7). Tras eliminar los estudios duplicados ($n = 14$) y realizar la revisión de títulos y resúmenes ($n = 6$), se seleccionaron ocho estudios [122,147–152,172]. Después de la evaluación de texto completo, solo se excluyeron 2 estudios [122,172] (uno se combinó con un entrenamiento no habitual [172] y el otro se realizó con solo uno de los suplementos [122]). De este modo, se incluyeron 6 estudios para esta revisión sistemática [147–152].

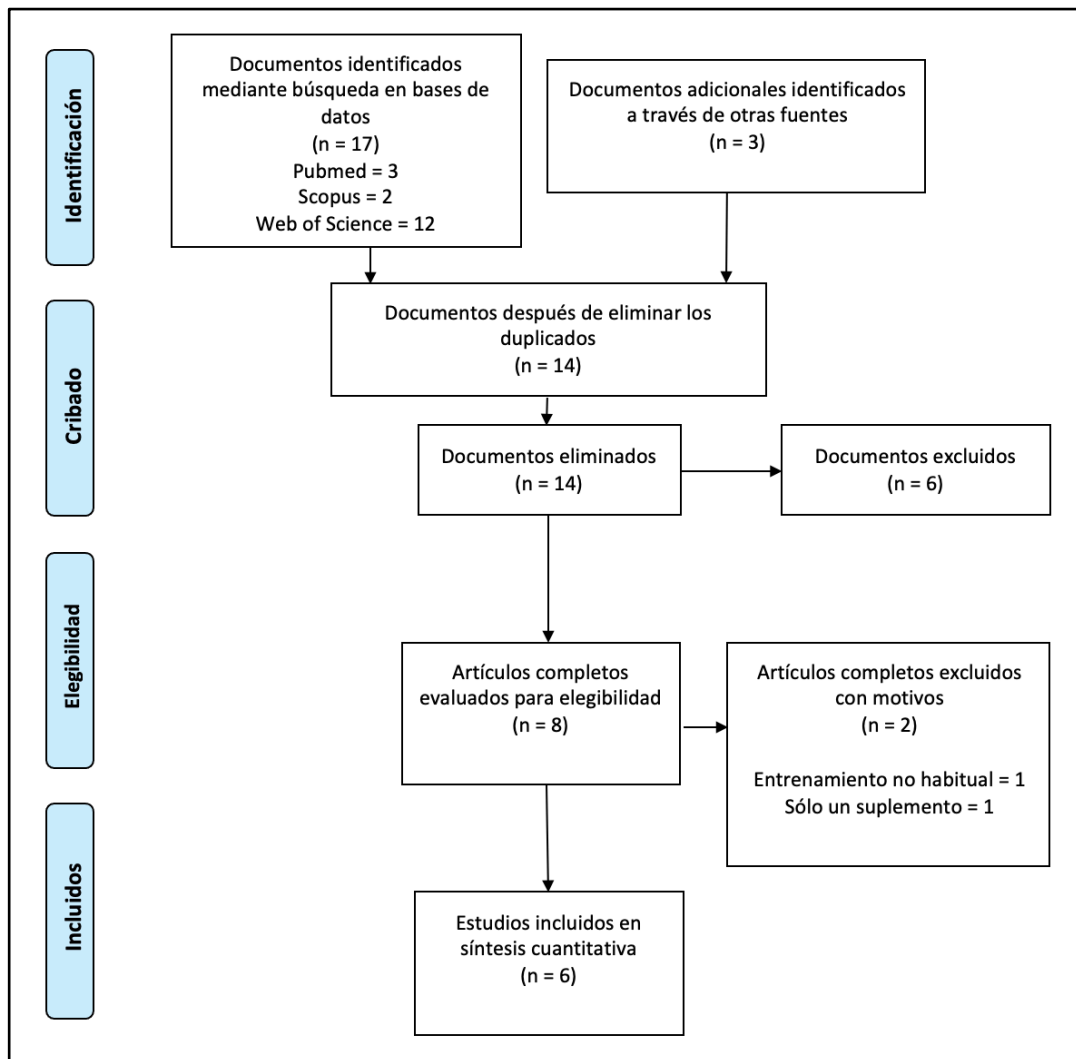


Figura 7. Diagrama de flujo “Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses” (PRISMA)

El diseño de los 6 estudios incluyó un estudio aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo [147], 2 estudios aleatorizados, controlados con placebo [150,151] y 3 estudios con grupo control [148,149,152]. Cinco de los 6 estudios se realizaron en deportes de equipo intermitentes: tres en rugby [148,149,152], uno en baloncesto [150] y uno en fútbol [151]. El último estudio se realizó en hombres sanos [147]. La suma de todos los participantes del estudio incluidos en esta revisión fueron 201 hombres, de los cuales 161 fueron participantes en ligas deportivas de alto nivel (5 estudios) [148–152] y los 40 restantes fueron participantes moderadamente entrenados [147].

Algunos estudios dividieron a los participantes en 4 grupos de suplementación diferentes: grupo placebo (PLG) o grupo control (CON), grupo creatina (CrMG), grupo HMB (HMBG) y grupo CrM más HMB (CrM-HMBG) [147,150]. Otros estudios asignaron a los participantes a 3 grupos: PLG o CON, HMBG y CrM-HMBG [148,149,151,152].

4.1.2. Suplementación de CrM y HMB

La duración de las intervenciones en los estudios fue entre 6 días y 6 semanas (42 días). En 4 de los estudios incluidos en esta revisión sistemática, el protocolo de suplementación consistió en 3 g/día de CrM y 3 g/día de HMB [148,149,151,152]. La excepción fueron los estudios de Jowko et al. [147] y Zajac et al. [150], en el que la suplementación con CrM consistió en 20 g/día durante los primeros 7 días seguido de 10 g/día los siguientes 14 días, y 15 g/día los primeros 5 días seguido de 5 g/día los siguientes 25 días, respectivamente. Además, la frecuencia del programa de entrenamiento realizado por los atletas fue de 3 o 4 días por semana [147–150,152] o 6 días por semana [151] en un programa de entrenamiento de resistencia.

4.1.3. Resultados en el rendimiento deportivo

La Tabla 3, presenta las diferentes pruebas realizadas para determinar los resultados medidos por el rendimiento mediante la ejecución de un test de velocidad anaeróbica (RAST) [151], una prueba de repetición máxima (1RM) de diferentes ejercicios de fuerza [147], prueba de capacidad aeróbica multietapa, pedaleo máximo durante 60 segundos [152], pruebas de fuerza muscular, resistencia muscular y potencia de las piernas [149], y una prueba triple de Wingate [150].

La combinación de CrM más HMB mostró mejoras en el rendimiento de la fuerza en un estudio [147], pero el otro estudio que midió este parámetro no encontró cambios en el rendimiento entre los grupos [149]. Por otro lado, la capacidad anaeróbica se mejoró en dos investigaciones [147,150] cuando los atletas ingirieron CrM más HMB, aunque el estudio de O'Connor et al. [152] no encontró ninguna mejora. La última variable de rendimiento fue la capacidad aeróbica, medida mediante una prueba de capacidad aeróbica multietapa, donde no se observaron cambios entre grupos [152]

Tabla 3. Resumen de los estudios incluidos en la revisión sistemática que investigó el efecto de CrM más HMB en las habilidades de rendimiento deportivo.

Autor/es	Población	Intervención	Mediciones	Efectos		
				CrM-HMBG Vs. CON/PLG	CrM-HMBG Vs. CrMG	CrM-HMBG Vs. HMBG
Famarzi et al., (2009) [151]	24 jugadores de fútbol (21,6±0,1 años)	Aleatorizado, controlado con placebo CrM: 3 g/día HMB: 3 g/día Duración: 6 días	<ul style="list-style-type: none"> • Pico de potencia (RAST) • potencia media (RAST) • Índice de fatiga (RAST) 	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ Pico de potencia • ↑ potencia media • ↔ Índice de fatiga 	No se muestran datos	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ Pico de potencia • ↔ potencia media • ↔ Índice de fatiga
Jówko et al., (2001) [147]	40 varones sanos (21,0±2,1 años)	Aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo CrM: 20 g/día (1 semana) + 10 g/día (2 semanas) HMB: 3 g/día Duración: 3 semanas	<ul style="list-style-type: none"> • Test de fuerza acumulativa (1RM) 	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ Test de fuerza acumulativa (1RM) 	<ul style="list-style-type: none"> • ↔ Test de fuerza acumulativa (1RM) 	<ul style="list-style-type: none"> • ↔ Test de fuerza acumulativa (1RM)
O'Connor & Crowe (2003) [152]	27 jugadores varones de rugby de élite (18–32 años)	Con grupo control CrM: 3 g/día HMB: 3 g/día Duración: 6 semanas	<ul style="list-style-type: none"> • Rendimiento aeróbico (prueba de capacidad aeróbica multietapa) • Rendimiento anaeróbico (prueba de capacidad anaeróbica máxima de 60 segundos) 	<ul style="list-style-type: none"> • ↔ Capacidad aeróbica • ↔ Capacidad anaeróbica 	No se muestran datos	<ul style="list-style-type: none"> • ↔ Capacidad aeróbica • ↔ Capacidad anaeróbica

Tabla 3. (continuación)

Autor/es	Población	Intervención	Mediciones	Efectos		
				CrM-HMBG Vs. CON/PLG	CrM-HMBG Vs. CrMG	CrM-HMBG Vs. HMBG
O'Connor & Crowe (2007) [149]	30 jugadores varones de rugby de élite (24,9±1,5 años)	Con grupo control CrM: 3 g/día HMB: 3 g/día Duración: 6 semanas	<ul style="list-style-type: none"> Fuerza muscular (prueba 3RM) Resistencia muscular (máximo número de dominadas hasta el agotamiento) Pico de potencia (Prueba de potencia de pierna de 10 segundos) 	<ul style="list-style-type: none"> ↔ Press de banca ↔ Peso muerto ↔ Remo ↔ Resistencia muscular ↔ Pico de potencia ↔ Trabajo total 	No se muestran datos	<ul style="list-style-type: none"> ↔ Press de banca ↔ Peso muerto ↔ Remo ↔ Resistencia muscular ↔ Pico de potencia ↔ Trabajo total
Zajac et al., (2003) [150]	52 jugadores de baloncesto entrenados (25,6±5,6 años)	Aleatorizado, controlado con placebo CrM: 15 g/día (primeros 5 días) + 5 g/día (resto de días) HMB: 3 g/días Duración: 30 días	<ul style="list-style-type: none"> Potencia anaeróbica máxima relativa (prueba triple Wingate) Trabajo total relativo (prueba triple Wingate) 	<ul style="list-style-type: none"> ↑ Potencia relativa máxima ↑ Trabajo total relativo 	<ul style="list-style-type: none"> ↔ Potencia relativa máxima ↔ Trabajo total relativo 	<ul style="list-style-type: none"> ↑ Potencia relativa máxima ↑ Trabajo total relativo

CrM: suplementación de monohidrato de creatina, **HMB:** suplementación de HMB, **CON/PLG:** grupo control o placebo, **HMBG:** grupo suplementado con HMB, **CrMG:** grupo suplementado con monohidrato de creatina, **CrM-HMBG:** grupo suplementado con monohidrato de creatina y HMB, **RAST:** Test de velocidad anaeróbica; ↑: incremento, **1RM:** 1 repetición máxima, **3RM:** 3 repeticiones máximas; ↓: disminución, ↔: sin efecto.

4.1.4. Resultados en la composición corporal

La Tabla 4, muestra las mediciones de composición corporal. Zajac et al. [150] encontraron reducciones en FM (respecto a CON/PLG y CrMG) cuando se complementaron con CrM más HMB, aunque Jowko et al. [147] no lo hizo. Por otro lado, Zajac et al. encontraron un aumento en BM (respecto a CON/PLG y HMBG), en contraste con los estudios de Jowko et al. [147] y O'Connor et al. [149] que no encontraron cambios en este parámetro entre los grupos cuando se ingirió CrM más HMB. Finalmente, ningún estudio encontró cambios en la medida de BM [147,149,150].

4.1.5. Resultados de daño muscular y estado hormonal

La Tabla 5 muestra los efectos en las isoenzimas sanguíneas musculares como la CK [147,148,151], la LDH [151] y la LA [150,152], que no cambiaron después de la suplementación con CrM más HMB. Además, las hormonas sanguíneas anabólicas/catabólicas (T y C) no mostraron cambios cuando los remeros fueron suplementados con CrM más HMB [147]

Tabla 4. Resumen de los estudios incluidos en la revisión sistemática que investigó el efecto de CrM más HMB en la composición corporal

Autor/es	Población	Intervención	Mediciones	Efectos		
				CrM-HMBG Vs. CON/PLG	CrM-HMBG Vs. CrMG	CrM-HMBG Vs. HMBG
Jówko et al., (2001) [147]	40 varones sanos (21,0±2,1 años)	Aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo CrM: 20 g/día (1 semana) + 10 g/día (2 semanas) HMB: 3 g/día Duración: 3 semanas	<ul style="list-style-type: none"> • BM • FM • LBM 	<ul style="list-style-type: none"> • ↔BM • ↔FM • ↔LBM 	<ul style="list-style-type: none"> • ↔BM • ↔FM • ↔LBM 	<ul style="list-style-type: none"> • ↔BM • ↔FM • ↔LBM
O'Connor & Crowe (2007) [149]	30 jugadores varones de rugby de élite (24,9±1,5 años)	Con grupo control CrM: 3 g/día HMB: 3 g/día Duración: 6 semanas	<ul style="list-style-type: none"> • BM • Suma de 6 pliegues • Circunferencia del brazo (relajado) • Circunferencia del brazo (contraído) • Circunferencia del pecho • Circunferencia de la cintura • Circunferencia de la cadera • Contorno de muslo • Diámetro del femur • Diámetro del húmero 	<ul style="list-style-type: none"> • ↔ BM • ↔ Suma de 6 pliegues • ↔ circunferencia del brazo (relajado) • ↔ Circunferencia del brazo (contraído) • ↔ Circunferencia del pecho • ↔ Circunferencia de la cintura • ↔ Circunferencia de la cadera • ↔ Contorno de muslo • ↔ Diámetro del femur • ↔ Diámetro del húmero 	No se muestran datos	<ul style="list-style-type: none"> • ↔ BM • ↔ Suma de 6 pliegues • ↔ circunferencia del brazo (relajado) • Circunferencia del brazo (contraído) • ↔ Circunferencia del pecho • ↔ Circunferencia de la cintura • ↔ Circunferencia de la cadera • ↔ Contorno de muslo • ↔ Diámetro del femur • ↔ Diámetro del húmero

Tabla 4. (continuación)

Autor/es	Población	Intervención	Mediciones	Efectos		
				CrM-HMBG Vs. CON/PLG	CrM-HMBG Vs. CrMG	CrM-HMBG Vs. HMBG
Zajac et al., (2003) [150]	52 jugadores de baloncesto entrenados (25,6±5,6 años)	Aleatorizado, controlado con placebo CrM: 15 g/día (primeros 5 días) + 5 g/día (resto de días) HMB: 3 g/días Duración: 30 días	<ul style="list-style-type: none"> • BM • FFM • FM 	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ BM • ↑ FFM • ↓ FM 	<ul style="list-style-type: none"> • ↔ BM • ↔ FFM • ↓ FM 	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ BM • ↑ FFM • ↔ FM

CrM: suplementación de monohidrato de creatina, **HMB:** suplementación de HMB, **CON/PLG:** grupo control o placebo, **HMBG:** grupo suplementado con HMB, **CrMG:** grupo suplementado con monohidrato de creatina, **CrM-HMBG:** grupo suplementado con monohidrato de creatina y HMB, **LBM:** masa corporal magra, **BM:** masa corporal, **FM:** masa grasa, **FFM:** masa libre de grasa; ↑: incremento, ↓: disminución, ↔: sin efecto.

Tabla 5. Resumen de los estudios incluidos en la revisión sistemática que investigó el efecto de CrM más HMB sobre el daño muscular y el estado hormonal.

Autor/es	Población	Intervención	Mediciones	Efectos		
				CrM-HMBG Vs. CON/PLG	CrM-HMBG Vs. CrMG	CrM-HMBG Vs. HMBG
Crowe et al., (2003) [148]	28 jugadores varones de rugby de élite (24,9±0,7 años)	Con grupo control CrM: 3 g/día HMB: 3 g/día Duración: 6 semanas	<ul style="list-style-type: none"> • Testosterona • Cortisol • CK • Urea 	<ul style="list-style-type: none"> • ↔ Testosterona • ↔ cortisol • ↔ CK • ↔ Urea 	No se muestran datos	<ul style="list-style-type: none"> • ↔ Testosterona • ↔ cortisol • ↔ CK • ↔ Urea
Faramarzi et al., (2009) [151]	24 jugadores de fútbol (21,6±0,1 años)	Aleatorizado, controlado con placebo CrM: 3 g/día HMB: 3 g/día Duración: 6 días	<ul style="list-style-type: none"> • CK • LDH 	<ul style="list-style-type: none"> • ↔ CK • ↔ LDH 	No se muestran datos	<ul style="list-style-type: none"> • ↔ CK • ↔ LDH
Jówko et al., (2001) [147]	40 varones sanos (21,0±2,1 años)	Aleatorizado, doble ciego, controlado con placebo CrM: 20 g/día (1 semana) + 10 g/día (2 semanas) HMB: 3 g/día Duración: 3 semanas	<ul style="list-style-type: none"> • CK • Nitrógeno de urea 	<ul style="list-style-type: none"> • ↔ CK • ↓Nitrógeno de urea 	<ul style="list-style-type: none"> • ↑CK • ↔Nitrógeno de urea 	<ul style="list-style-type: none"> • ↑CK • ↔ Nitrógeno de urea
O'Connor & Crowe (2003) [152]	27 jugadores varones de rugby de élite (18–32 años)	Con grupo control CrM: 3 g/día HMB: 3 g/día Duración: 6 semanas	<ul style="list-style-type: none"> • LA 	<ul style="list-style-type: none"> • ↔ LA 	No se muestran datos	<ul style="list-style-type: none"> • ↔ LA

Tabla 5. (continuación)

Autor/es	Población	Intervención	Mediciones	Efectos		
				CrM-HMBG Vs. CON/PLG	CrM-HMBG Vs. CrMG	CrM-HMBG Vs. HMBG
Zajac et al., (2003) [150]	52 jugadores de baloncesto entrenados (25,6±5,6 años)	Aleatorizado, controlado con placebo CrM: 15 g/día (primeros 5 días) + 5 g/día (resto de días) HMB: 3 g/días Duración: 30 días	<ul style="list-style-type: none"> • LA • CK • LDH 	<ul style="list-style-type: none"> • ↔ LA • ↔ CK • ↔ LDH 	<ul style="list-style-type: none"> • ↔ LA • ↔ CK • ↔ LDH 	<ul style="list-style-type: none"> • ↔ LA • ↑ CK • ↑ LDH

CrM: suplementación de monohidrato de creatina, **HMB:** suplementación de HMB, **CON/PLG:** grupo control o placebo, **HMBG:** grupo suplementado con HMB, **CrMG:** grupo suplementado con monohidrato de creatina, **CrM-HMBG:** grupo suplementado con monohidrato de creatina y HMB, **CK:** creatina quinasa, **LA:** ácido láctico, **LDH:** lactato deshidrogenasa; ↑: incremento, ↓: disminución, ↔: sin efecto.

4.2. ESTUDIO 2

Durante el estudio, los atletas no mostraron diferencias estadísticas significativas ($p > 0,05$) en los valores de consumo de energía y macronutrientes entre los grupos (Tabla 6). La ingesta de energía fue de aproximadamente 45 kcal/kg en cada grupo de estudio. Del mismo modo, la ingesta de proteínas, grasas y CHO fue $\approx 1,9$ g/kg; 1,5 g/kg y 6,0 g/kg respectivamente en cada grupo de estudio.

Tabla 6. Datos de antropometría y composición corporal en los cuatro grupos de estudio al inicio del estudio (T1) y después de 10 semanas (T2)

	PLG	CrMG	HMBG	CrM-HMBG
Energía (kcal)	3340±350	3358±358	3290±410	3375±395
Energía (kcal/kg)	44±6	45±6	45±6	45±7
Proteína (g)	143±24	145±26	141±29	143±26
Proteína (%)	17±3	18±3	18±3	17±3
Proteína (g/kg)	2±0	2±1	2±1	2±0
Proteína animal (g)	84±23	86±25	81±19	86±25
Proteína vegetal (g)	60±11	58±15	62±19	59±17
Grasa (g)	101±20	103±21	99±21	101±22
Grasa (%)	27±4	28±4	27±5	28±5
Grasa (g/kg)	2±0	2±1	2±1	2±1
Carbohidratos totales (g)	450±55	460±60	459±58	453±61
Carbohidratos (%)	54±5	55±5	55±6	54±5
Carbohidratos (g/kg)	6±1	6±1	6±1	6±1
Hierro (mg)	24±7	24±7	24±7	23±8

Los datos se muestran en media±SD

La Tabla 7 muestra los datos de antropometría y composición corporal en T1 y T2 en cada uno de los grupos de estudio. No se observaron diferencias significativas en la interacción grupo por tiempo en la masa corporal, suma de 6 pliegues cutáneos, masa grasa (kg) y masa muscular (kg) ($p > 0,05$). Con respecto a la masa corporal y la masa grasa, se encontró una disminución significativa en todos los grupos durante el estudio ($p < 0,05$). Sin embargo, se encontró una disminución significativa en la masa muscular en PLG entre los 2 momentos de estudio (T1: 33,3±4,3 vs. T2: 32,7±4,1 kg; $p < 0,05$; $\eta^2 p = 0,160$).

Tabla 7. Datos de antropometría y composición corporal en los cuatro grupos de estudio al inicio del estudio (T1) y después de 10 semanas (T2).

Group	T1	T2	P (TxG)	η^2p
Masa corporal (Kg)				
PLG	81,9±6,3	80,0±5,3*	0,883	0,028
CrMG	81,2±5,0	78,6±5,4*		
HMBG	79,9±12,2	77,6±11,1*		
CrM-HMBG	78,0±4,7	75,5±4,5*		
6 Pliegues (mm)				
PLG	51,6±18,9	48,8±16,3	0,790	0,050
CrMG	57,0±6,5	54,7±14,1		
HMBG	54,2±11,4	52,0±13,0		
CrM-HMBG	50,4±7,1	47,4±4,9		
Masa grasa (kg)				
PLG	7,3±2,7	6,4±2,3*	0,207	0,255
CrMG	6,1±0,7	5,8±0,7*		
HMBG	6,8±1,3	6,3±1,1*		
CrM-HMBG	6,4±0,8	6,2±0,4*		
Masa muscular (kg)				
PLG	33,3±4,3	32,7±4,1*	0,442	0,160
CrMG	31,5±1,9	31,2±2,3		
HMBG	32,8±1,5	32,2±1,1		
CrM-HMBG	34,6±1,3	34,6±1,1		

Los datos se muestran en media±SD. P (TxG): interacción grupo por tiempo ($p < 0.05$). ANOVA de medidas repetidas. *: Significativamente diferente entre los puntos de estudio (T1 vs. T2). $p < 0.05$.

La Tabla 8 muestra los valores de potencia aeróbica obtenidos en diferentes intensidades durante la prueba incremental tanto en T1 como en T2. Se puede observar una mejora significativa ($p < 0,05$) en la interacción grupo por tiempo en W8 ($p < 0,001$; $\eta^2p = 0,766$). Sin embargo, no hubo diferencias significativas en la interacción grupo por tiempo en WAT y W4.

Además, se observaron aumentos significativos ($p < 0,05$) entre los puntos de estudio en WAT en HMBG (T1: 238±40 vs. T2: 253±35 W; $\eta^2p = 0,168$) y CrM-HMBG (T1: 238±22,73 vs. T2: 264±19 W; $\eta^2p = 0,168$), en W4 en CrM-HMBG (T1: 236±29 vs. T2: 263±19 W; $\eta^2p = 0,181$) y en W8 en CrM (T1: 300±20 vs. T2: 314±21 W; $\eta^2p = 0,766$), HMBG (T1: 295±45 vs. T2: 314±49 W; $\eta^2p = 0,766$) y CrM-HMBG (T1: 288±21 vs. T2: 331±35 W ; $\eta^2p = 0,766$).

Tabla 8. Producción de potencia en el umbral anaeróbico (WAT), 4 (W4) y 8 mmol (W8) en los cuatro grupos de estudio al inicio del estudio (T1) y después de 10 semanas (T2).

Group	T1	T2	P (TxG)	η^2p
WAT (W)				
PLG	254±34	259±20	0,228	0,168
CrMG	242±21	253±12		
HMBG	238±40	253±35*		
CrM-HMBG	238±22	264±19*		
W4 (W)				
PLG	242±16	241±31	0,196	0,181
CrMG	243±20	247±21		
HMBG	238±45	251±36		
CrM-HMBG	236±29	262±19*		
W8 (W)				
PLG	317±19	314±24	<0,001	0,766
CrMG	300±20	314±21*		
HMBG	295±45	314±49*		
CrM-HMBG	288±21	331±35*		

Los datos se muestran en media±SD. P (TxG): interacción grupo por tiempo ($p<0.05$). ANOVA de medidas repetidas. *: Significativamente diferente entre los puntos de estudio (T1 vs. T2). $p<0.05$.

Además, el ANOVA detectó interacciones significativas con respecto al cambio porcentual entre T1 y T2 (Figura 8). Específicamente, hubo incrementos significativamente mayores a favor de CrMG (+5±2%); HMBG (+6±3%) y CrM-HMBG (+15±5%) en comparación con PLG (-1±3%) de T1 a T2 para W8. También, hubo incrementos significativamente mayores en favor de CrM-HMBG en comparación con CrMG y HMBG ($p<0,01$).

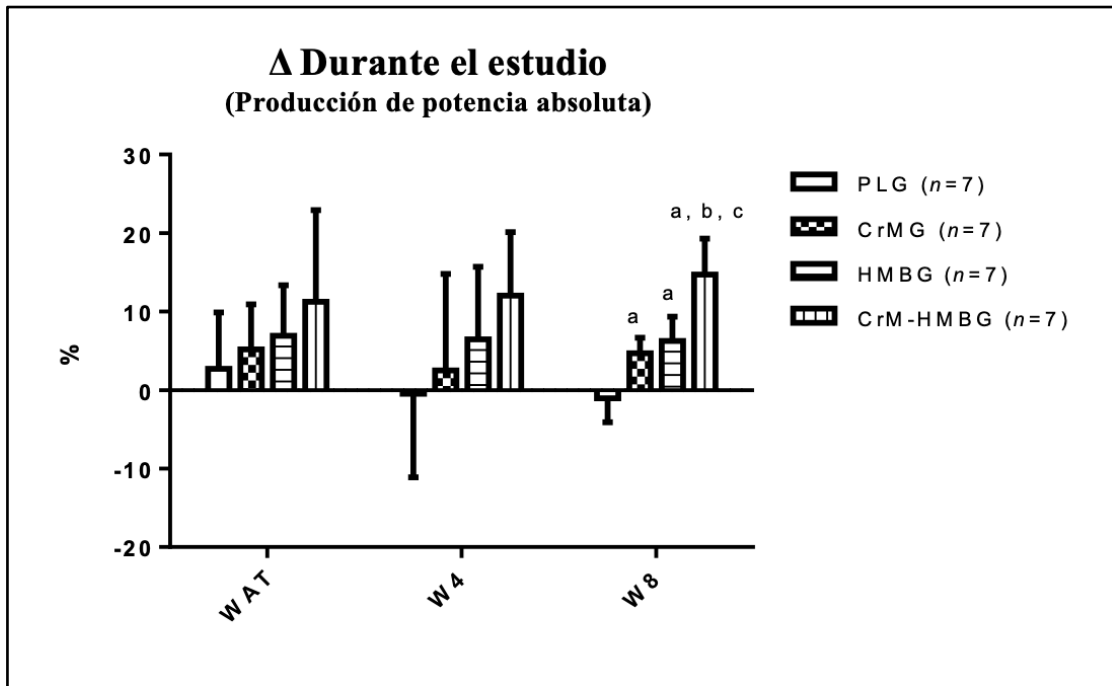


Figura 8. Porcentaje de cambios durante el estudio sobre la producción de potencia absoluta en el umbral anaeróbico (WAT), 4 mmol/L (W4) y 8 mmol/L (W8) en los 4 grupos de estudio. Los datos se muestran en media±SD. Δ : $((T2-T1) / T1) \times 100$; Las diferencias entre grupos en cada test se ha calculado con una prueba ANOVA ($p < 0,05$): a, respecto a PLG; b, respecto a CrMG; c, respecto a HMBG.

Los resultados en la Tabla 9, mostraron los cambios en WAT, W4, W8 en todos los grupos suplementados con respecto a PLG, después de 10 semanas. Se ha encontrado un efecto sinérgico de la suplementación combinada para la suma de los dos suplementos por separado en WAT (CrM-HMBG=403% vs. CrMG + HMBG=338%), W4 (CrM-HMBG=2736% vs. CrMG + HMBG=1705%) y W8 (CrM-HMBG=1293% vs. CrMG + HMBG=878%) usando la ecuación sinérgico=A&B combinada>A + B individualmente [153].

Además, al comparar la sinergia encontrada en la combinación CrM-HMBG, se observó que el efecto sinérgico más potenciado (CrM-HMBG - (CrM + HMBG)) que se ha observado fue en W4 (Tabla 9).

Tabla 9. Determinación del efecto de la combinación de suplementos.

Grupo	CrMG (A)	HMBG (B)	A+B	CrM-HMBG	CrM-HMBG - (A+B)
WAT	134%	203%	338%	403%	66%
W4	397%	1309%	1705%	2736%	1031%
W8	364%	514%	878%	1293%	364%

Los datos están expresados en cambio respecto al grupo placebo (%) = [Grupo experimental/placebo (PLG) - 1] × 100. A+B= suma de los efectos de CrMG (A) y HMBG (B) cuando se han suplementado por separado.

4.3. ESTUDIO 3

Tabla 10. Antropometría y composición corporal de los participantes.

	PLG	CrMG	HMBG	CrM-HMBG
Energía (kcal/kg)	44,8±6,2	45,0±6,6	44,7±6,3	45,1±7,0
Proteína (g/kg)	1,9±0,4	2,0±0,6	1,9±0,7	1,9±0,4
Grasa (g/kg)	1,5±0,4	1,6±0,5	1,5±0,6	1,6±0,6
Carbohidratos (g/kg)	6,0±0,9	6,1±1,1	6,1±1,3	6,0±1,2

Los datos se muestran en media±SD

Durante el estudio, los atletas no mostraron diferencias estadísticas significativas ($p>0,05$) en los valores de ingesta de energía y macronutrientes entre los grupos (Tabla 10).

Tabla 11. Antropometría y composición corporal de los participantes

Group	T1	T2	P (T × G)	η^2p
Masa corporal (kg)				
PLG	81,9±6,3	80,0±5,3*	0,883	0,028
CrMG	81,2±5,0	78,6±5,4*		
HMBG	79,9±12,2	77,6±11,1*		
CrM-HMBG	78,0±4,7	75,5±4,5*		
Índice de masa corporal (kg/m ²)				
PLG	24,1±2,4	23,6±2,0	0,951	0,016
CrMG	24,1±1,5	23,4±1,6*		
HMBG	24,1±1,8	23,3±1,8*		
CrM-HMBG	23,7±1,6	22,9±1,4*		
Masa muscular (%)				
PLG	40,3±2,5	41,0±2,3	0,789	0,104
CrMG	40,6±2,4	41,7±2,7		
HMBG	41,1±2,0	41,7±2,2		
CrM-HMBG	41,2±2,4	42,1±2,3		
Masa grasa (%)				
PLG	8,9±1,5	8,7±1,4	0,884	0,030
CrMG	8,6±1,7	8,4±1,8		
HMBG	8,7±1,5	8,4±1,1		
CrM-HMBG	8,5±1,6	8,2±1,4		

Los datos se muestran en media±SD. P (TxG): interacción grupo por tiempo ($p<0,05$). ANOVA de medidas repetidas. *: Significativamente diferente entre los puntos de estudio (T1 vs. T2). $p<0,05$.

La masa corporal, el índice de masa corporal, el porcentaje de masa muscular y el porcentaje de masa grasa no mostraron diferencias significativas ($p > 0,05$) en la interacción grupo por tiempo (Tabla 11). Sin embargo, se encontraron disminuciones significativas ($p < 0,05$) entre los dos momentos de estudio para la masa corporal en PLG, CrMG, HMBG y CrM-HMBG y para el índice de masa corporal en HMBG y CrM-HMBG (Tabla 11).

Tabla 12. Estado de las hormonas testosterona y cortisol en los participantes.

Group	T1	T2	P (T × G)	η^2p
Testosterona (ng/dL)				
PLG	5,22±0,56	4,56±0,84	0,006	0,454
CrMG	4,27±0,73	4,20±1,12		
HMBG	4,90±0,95	5,60±1,56		
CrM-HMBG	4,91±0,87	5,97±1,23*		
Cortisol (µg/dL)				
PLG	15,87±2,99	17,93±2,08*	0,451	0,121
CrMG	15,75±2,78	20,80±6,13*		
HMBG	16,32±1,29	23,30±2,97*		
CrM-HMBG	18,18±1,13	22,95±1,89*		
Ratio testosterona/cortisol				
PLG	34,77±12,03	25,97±6,58*	0,032	0,349
CrMG	28,04±7,49	22,17±9,90*		
HMBG	30,19±6,33	23,94±4,98*		
CrM-HMBG	27,07±5,12	26,07±5,29		

Los datos se muestran en media±SD. P (TxG): interacción grupo por tiempo ($p < 0,05$). ANOVA de medidas repetidas. *: Significativamente diferente entre los puntos de estudio (T1 vs. T2). $p < 0,05$.

La Tabla 12 muestra diferencias significativas en la interacción de grupo por tiempo para la T ($p = 0,006$; $\eta^2p = 0,454$) y T/C ($p = 0,32$; $\eta^2p = 0,349$). Además, se observaron aumentos significativos entre T1 y T2 ($p < 0,05$) en C en PLG, CrM, HMBG y CrM-HMBG y en T en CrM-HMBG y descenso en T/C en PLG, CrM y HMBG (Tabla 12).

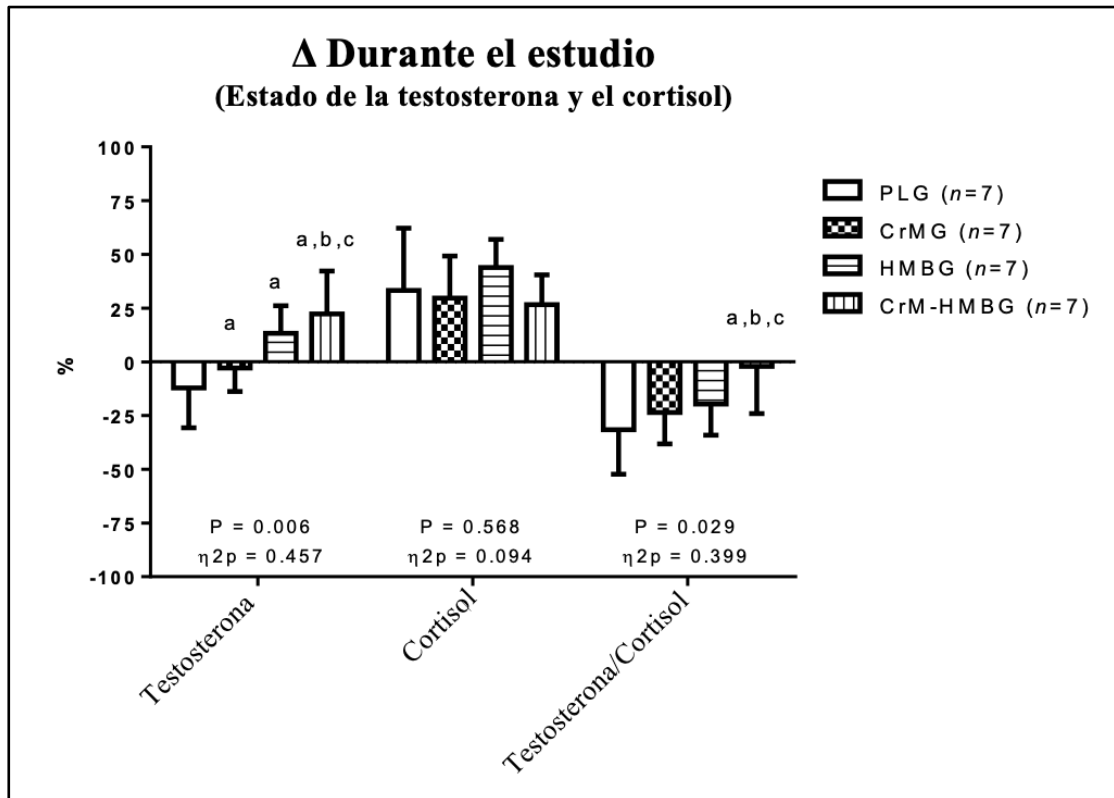


Figura 9. Porcentaje de cambios durante el estudio en el estado de la hormona cortisol, testosterona y la relación testosterona/cortisol en los cuatro grupos de estudio. Los datos se muestran en media \pm SD. Δ : $((T_2 - T_1) / T_1) \times 100$; Las diferencias entre grupos en cada test se ha calculado con una prueba ANOVA ($p < 0,05$): a, respecto a PLG; b, respecto a CrMG; c, respecto a HMBG.

La Figura 9 muestra diferencias significativas en el cambio porcentual de T ($p=0,006$; $\eta^2 p=0,457$) entre PLG y CrMG, HMBG y CrM-HMBG y entre CrM-HMBG y CrMG y HMBG ($p > 0,05$). Además, el cambio porcentual del T/C mostró diferencias estadísticas ($p=0,029$; $\eta^2 p=0,399$) entre CrM-HMBG y PLG, así como CrMG y HMBG. Sin embargo, no hubo diferencias significativas entre los grupos en el cambio porcentual de C ($p=0,568$; $\eta^2 p=0,094$).

Tabla 13. Marcadores de daño muscular inducidos por el ejercicio en los cuatro grupos de estudio al inicio del estudio (T1) y después de 10 semanas (T2).

Group	T1	T2	P (T × G)	η^2p
AST (UI/L)				
PLG	17,83±2,79	22,00±1,55*	0,648	0,077
CrMG	22,33±9,65	23,50±8,89		
HMBG	18,00±3,29	19,00±6,96		
CrM-HMBG	21,33±4,68	24,67±7,30		
CK (UI/L)				
PLG	190,50±94,79	216,83±97,35	0,641	0,079
CrMG	277,00±171,40	256,33±130,38		
HMBG	147,50±63,91	243,33±286,42		
CrM-HMBG	201,67±105,64	260,50±159,28		
LDH (UI/L)				
PLG	293,17±36,23	310,17±22,98	0,792	0,049
CrMG	337,00±47,69	337,33±39,20		
HMBG	340,17±27,64	342,17±45,35		
CrM-HMBG	339,17±24,77	337,83±60,72		

Los datos se muestran en media±SD. P (TxG): interacción grupo por tiempo ($p<0.05$). ANOVA de medidas repetidas. *: Significativamente diferente entre los puntos de estudio (T1 vs. T2). $p<0,05$.

Los marcadores EIMD (AST, LDH y CK) no presentaron diferencias estadísticamente significativas en la interacción grupo por tiempo entre T1 y T2 (Tabla 13). Sin embargo, se observaron aumentos significativos entre T1 y T2 para AST en PLG (T1: 17,83±2,79 vs. T2: 22,00±1,55; $p<0,05$).

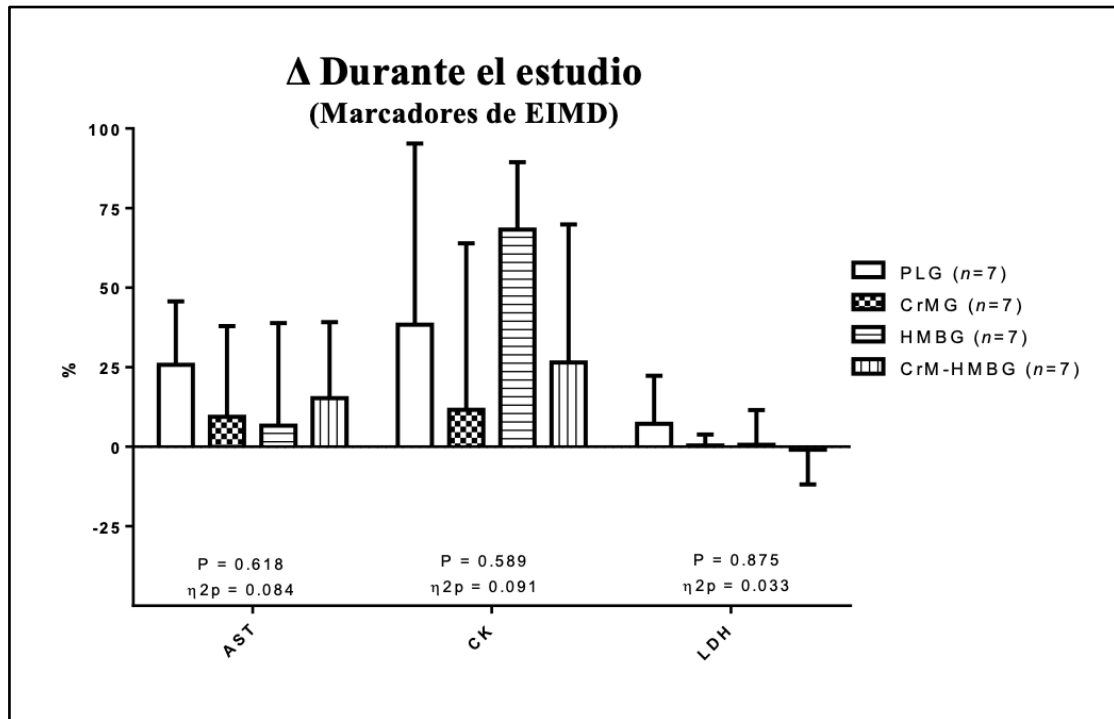


Figura 10. Porcentaje de cambios en los marcadores daño muscular inducido por el ejercicio (EIMD). Los datos se muestran en media \pm SD. Δ : $((T2-T1) / T1) \times 100$; Las diferencias entre grupos en cada test se ha calculado con una prueba ANOVA ($p < 0,05$)

La Figura 10 muestra que no hubo diferencias significativas en el cambio porcentual de ningún marcador EIMD entre T1 y T2 ($p > 0,05$).

Tabla 14. Determinación del efecto de la combinación de suplementos.

Grupo	% de cambio respecto al placebo	Efecto interactivo
Cortisol		
CrMG	24,38%	Antagonista
HMBG	71,92%	
CrMG + HMBG	96,30%	17,49 < 96,3
CrM-HMBG	17,49%	
Testosterona		
CrMG	4,21%	Sinérgico
HMBG	-42,1%	
CrMG + HMBG	-37,89%	-63,85 > -37,85
CrM-HMBG	-63,85%	
Ratio testosterona/cortisol		
CrMG	135,09%	Sinérgico
HMBG	120,8%	
CrMG + HMBG	255,89%	1280 > 255,89
CrM-HMBG	1280%	

La Tabla 14 muestra un efecto antagonista de la suplementación combinada en comparación con la suma de ambos suplementos aislados en C (CrM-HMBG=17,49% vs. CrMG + HMBG=96,30%). Asimismo, se observó un efecto sinérgico de la suplementación combinada con respecto a la suma de los dos suplementos por separado en T (CrM-HMBG = -63,85% vs. CrMG + HMBG=-37,89%) y en T/C (CrM-HMBG=1280% vs. CrMG + HMBG=255,89%).

5. DISCUSIÓN



“El descontento es la primera necesidad de progreso”

- Thomas Edison

5. DISCUSIÓN

5.1. ESTUDIO 1

El objetivo principal de esta revisión sistemática fue resumir toda la evidencia científica publicada hasta la fecha sobre el efecto de la suplementación con CrM más HMB en las variables relacionadas con el rendimiento físico (rendimiento en la fuerza [147,149], rendimiento anaeróbico [150–152], rendimiento aeróbico [152]), composición corporal (LBM, BM, FM, FFM) [147,149,150], daño muscular (CK, LDH, LA) [147,150–152] y estado hormonal (T y C) [148], medido en los 6 estudios incluidos en esta revisión sistemática [147–152]. Los resultados principales indicaron que la combinación de 3–10 g/día de CrM más HMB 3 g/día, durante 1–6 semanas, podría producir más mejoras que tomándolos de forma aislada en el rendimiento en la fuerza, el rendimiento anaeróbico y la composición corporal (FFM, FM). Sin embargo, no se encontraron resultados significativos en el rendimiento aeróbico, en el daño muscular y en los parámetros de las hormonas anabólicas/catabólicas cuando se combinaron ambos suplementos. Debido a los diferentes resultados medidos en los estudios, los siguientes resultados se dividieron en diferentes grupos. Los resultados podrían estar influenciados por el tipo de deporte, la cantidad de cada suplemento y la duración de la intervención. Las características de los participantes, como la edad, el sexo, el origen étnico, la composición corporal, el nivel de entrenamiento, las diferencias en el entrenamiento, la nutrición y el estado de salud, también pueden influir en los resultados.

5.1.1. Impacto en el rendimiento deportivo

5.1.1.1. Rendimiento en la fuerza

La fuerza es una capacidad condicional esencial en el rendimiento deportivo y describe la capacidad de realizar cualquier acción más rápido cuando se mueve la misma masa [173]. Este tipo de estímulo requiere Cr/PCr como sustrato energético [174]. Por lo tanto, podría mejorarse con la ingestión de CrM, aumentando el rendimiento muscular mediante un incremento de la Cr/PCr [175]. Además, la suplementación con HMB también puede mejorar la fuerza a través de un aumento del área transversal del músculo [129]. Este efecto de HMB podría deberse a un aumento

de la síntesis de proteínas musculares causado por una regulación al alza de la vía mTOR [104], o por un marcado cambio en el metabolismo oxidativo [129]. Aunque en uno de los 2 estudios analizados se mejoró el rendimiento en la fuerza [147], en el otro [149] no se encontraron cambios. La razón principal de este fenómeno podría ser el nivel de entrenamiento de los participantes [176]. Sin embargo, en el estudio de Jowko et al., fueron medidos 40 hombres sanos mediante 1 RM de diferentes ejercicios (press de banca, press por detrás del cuello, flexión de bíceps, sentadilla, extensión de tríceps, cargada de potencia y suma de todas las pruebas), y se demostró que la suplementación con CrM más HMB causó aumentos en la fuerza acumulativa [147]. Dichas observaciones son consistentes, pero no prueban la hipótesis de que CrM más HMB actúa a través de mecanismos distintos, como se ha descrito anteriormente.

5.1.1.2. Rendimiento anaeróbico

Los períodos prolongados de sprints múltiples que ocurren en diferentes deportes (por ejemplo, fútbol, baloncesto o rugby) agotan las reservas de glucógeno muscular, lo que lleva a una disminución en la producción de energía y una reducción en la tasa de trabajo general durante el entrenamiento y/o la competición [177]. Se ha demostrado que la suplementación con CrM a largo plazo aumenta el contenido de ARNm de algunos genes y proteínas implicados en la síntesis de glucógeno, produciendo un cambio en la osmolaridad celular [93,94]. Además, un aumento de la PCr muscular por la suplementación con CrM es esencial para las actividades que dependen del sistema de energía PCr [143]. Hay que añadir, que el sistema Cr/PCr reduce el LA en las acciones glucolíticas anaeróbicas [95]. Por otro lado, el balance neto muscular negativo que ocurre después del ejercicio de resistencia debe resolverse rápidamente [178]. Para lograr esto, se debe ingerir leucina después del ejercicio. La suplementación con HMB (la leucina es un precursor de HMB) en los 30 minutos posteriores al ejercicio podría ser suficiente estímulo para producir síntesis de proteínas, facilitando la recuperación muscular [129].

En relación con este tema, se analizaron 3 estudios [150–152]. Dos de ellos mostraron mejoras en el rendimiento anaeróbico [150,151]. Concretamente, Faramarzi et al. [151] encontraron un mejor rendimiento anaeróbico (potencia máxima) en jugadores de fútbol durante el RAST en CrM-HMBG con respecto a HMBG. Este resultado mostró un efecto aditivo de la suplementación combinada de CrM más HMB

[151]. Igualmente, en un estudio realizado con jugadores de baloncesto de élite, Zajac et al., encontraron mejores resultados en CrMG y CrM-HMBG en comparación con HMBG y CON en una prueba triple Wingate. Sin embargo, aunque no hubo diferencias estadísticas entre CrMG y CrM-HMBG, CrM-HMBG mostró un mejor rendimiento en la prueba triple Wingate [150]. Por otro lado, O'Connor et al. no describieron cambios entre los grupos suplementados después de una prueba de capacidad anaeróbica máxima de 60 segundos [152]. Estos resultados podrían estar relacionados con el alto nivel de entrenamiento anaeróbico de los jugadores de rugby de élite y la dificultad para mejorar los resultados para dichos atletas [152]. Por lo tanto, la combinación de CrM más HMB podría ayudar a lograr mejores resultados en el rendimiento anaeróbico que tomándolos individualmente, sin embargo, se necesita más investigación para afirmar estos hallazgos.

5.1.1.3. Rendimiento aeróbico

El rendimiento aeróbico es un factor clave en los deportes de larga duración (por ejemplo, eventos como carreras largas, ciclismo o remo) que requiere mantener una intensidad específica durante el mayor tiempo posible [179]. El CrM puede mejorar la capacidad aeróbica al aumentar el sistema Cr/PCr, reduciendo la concentración de LA a la misma intensidad [95]. Además, el CrM mejora la síntesis de glucógeno muscular [93,94]. Igualmente, el HMB también puede afectar el rendimiento aeróbico al mejorar la capacidad aeróbica a través de la biogénesis mitocondrial, mediante la activación de PGC-1 α [131]. En esta línea, no se observaron diferencias significativas entre los grupos suplementados en el único estudio en el que el rendimiento aeróbico se midió mediante una prueba de capacidad aeróbica multietapa [152]. Este resultado podría deberse al hecho de que el entrenamiento se centró en ejercicios de fuerza y no en entrenamiento de resistencia, que es el más adecuado para mejorar este parámetro [180]. Además, los participantes eran atletas altamente entrenados, que estarían más cerca de su máximo potencial genético en comparación con los sujetos no entrenados [176].

Por lo tanto, estos resultados controvertidos generan ciertas dudas sobre la suplementación de CrM más HMB y el beneficio en el rendimiento aeróbico de los deportistas. Sin embargo, la investigación futura debería orientarse hacia la exploración de sus efectos en otro tipo de pruebas deportivas y entre diferentes grupos de atletas.

5.1.2. Impacto en la composición corporal

Para obtener el máximo rendimiento, los atletas deben tener una composición corporal óptima para la práctica deportiva concreta, con un bajo porcentaje de masa grasa y una óptima masa musculo-esquelética [100]. En este sentido, el HMB podría aumentar la masa muscular [181], al aumentar la síntesis de proteínas después de una intensa sesión de entrenamiento [104], mediante la activación de la vía mTOR [138]. Del mismo modo, puede reducir la descomposición de las proteínas mediante la reducción del sistema ubiquitina-proteasoma [182] y al aumentar el eje GH-IGF-I [183]. Además, el HMB podría aumentar la oxidación de las grasas, mejorando la biogénesis mitocondrial mediante la activación de PGC-1 α y, por lo tanto, reduciendo el porcentaje de masa grasa [131]. Por otro lado, se ha propuesto la suplementación con CrM para aumentar la masa muscular al aumentar la presión osmótica en el músculo, con lo que aumentaría el contenido de agua muscular [101–103], y a su vez promoverá la síntesis de glucógeno [14,15].

En consecuencia, la mezcla de CrM más HMB podría aumentar la FFM o la LBM más que tomándolos de forma aislada, como demostró el estudio de Zajac et al. [150]. Sin embargo, en el estudio de Jowko et al. [147] no se encontraron dichos cambios, a pesar de que la FM también se puede reducir [150] o no mostrar cambios [147]. En este sentido, Zajac et al. [150], obtuvo un resultado interesante, dado que la suplementación mixta combinada con tres sesiones de entrenamiento de fuerza de cuerpo completo por semana, parecía ayudar a aumentar la BM y disminuir la FM. En este sentido, el HMBG disminuyó la FM en comparación con CRG y CONG, y CRG aumentó BM (sin aumentar FM) en contraste con HMBG y CONG, mostrando un efecto acumulativo en términos de mejorar la composición corporal cuando se ingirieron juntos. Además, en la investigación de O'Connor et al. [149], los parámetros de composición corporal medidos (BM, suma de seis pliegues, circunferencia del brazo (relajada), circunferencia del brazo (contraída), circunferencia del pecho, circunferencia de la cintura, circunferencia de la cadera y contorno del muslo) no cambiaron cuando se combinaron con tres sesiones de fuerza de todo cuerpo completo y una sesión de velocidad/potencia por semana. Estos resultados pueden explicarse por el alto volumen de entrenamiento de los participantes. Por lo tanto, la combinación de CrM más HMB podría tener un efecto aditivo debido al efecto en diferentes vías energéticas, aunque se debe considerar el tipo y el nivel de deportistas que lo realizan.

5.1.3. Impacto en los marcadores de daño muscular y estado hormonal

5.1.3.1. Impacto en los marcadores de daño muscular

Los marcadores de EIMD que se midieron para identificar un estado de daño muscular reciente o sobrecarga temporal fueron los siguientes: LDH, CK y LA [184]. Cuando la CrM y HMB se toman de forma aislada, la CrM puede reducir los niveles de LA [79], LDH [87], y CK [87], y de la misma forma, el HMB también reduce LA [120] CK [125] y LDH [125] después del entrenamiento. Por otro lado, cuando los suplementos se toman juntos, no muestran efectos positivos en los niveles de CK [147,148,151], LDH [151], y LA [150,152]. Concretamente, en el estudio de Jowko et al. [147], los niveles de CK permanecieron elevados después de tres semanas de suplementación con CrM-HMBG. Esto podría explicar una disminución en la degradación de proteínas a través de HMB [116], y las mejoras en LBM y la fuerza conseguida por este suplemento. Este estudio [147], no mostró un efecto aditivo de HMB y CrM; todo lo contrario, con CrM perjudicando los resultados de HMB. En resumen, los resultados de los estudios no mostraron un mejor efecto al combinar ambos suplementos en los marcadores de daño muscular en comparación con la ingesta individual.

5.1.3.2. Impacto en las hormonas anabólico/catabólicas

Monitorizar la T y el C, podría proporcionar información sobre la recuperación/preparación de un deportista, y ser una herramienta para programar el volumen/intensidad de entrenamiento diario [41]. Mientras que la T es una hormona anabólica y anticatabólica que indica el grado de regeneración endógena, el C indica estrés acumulado [41]. En este sentido, la ingesta de HMB puede reducir los niveles de C en sangre [185] y el CrM puede aumentar los niveles de T [92,144] cuando se toman individualmente. Solo hubo un estudio que analizó el estado hormonal cuando se ingirió la mezcla de suplementos [148], y no se mostraron diferencias en los niveles de C o T después de 6 semanas de suplementación. Sin embargo, es difícil obtener cambios en este parámetro [40], y se necesitan más estudios para comprender el efecto de CrM y HMB en combinación sobre las respuestas hormonales anabólicas/catabólicas.

5.1.2. Fortalezas, limitaciones y futura investigación

En esta revisión sistemática, como fortaleza, se analizaron 6 estudios [147–152], considerando diferentes modalidades deportivas (rugby, baloncesto y fútbol), mediciones y duración de la suplementación. Además, las pruebas utilizadas para medir la fuerza, el rendimiento anaeróbico y el rendimiento aeróbico fueron completamente diferentes. Como limitaciones, esta diversidad resultó en dificultades para comparar los diferentes resultados de los estudios. Además, no todos los estudios analizaron el efecto de la mezcla de suplementos con la suplementación individual. Por lo tanto, los resultados de esta revisión sistemática deben tratarse con precaución debido al pequeño número de trabajos de investigación disponibles para incluir. En consecuencia proponemos como líneas de futuro, más estudios con metodologías de medición similares para determinar la eficacia de mezclar CrM más HMB con el objetivo de mejorar el rendimiento deportivo y para comprender el posible efecto aditivo de esta combinación.

5.2. ESTUDIO 2

Para el conocimiento de los autores, hay pocos estudios que examinen la suplementación combinada de CrM más HMB [147–152]. Cinco de ellos, se realizaron en deportes de equipo intermitentes (3 en rugby [148,149,152], 1 en baloncesto [150] y 1 en fútbol [151]), deportes caracterizados por la combinación de acciones cortas de alta intensidad con acciones de baja intensidad. Los resultados encontrados son controvertidos respecto al rendimiento deportivo [147,149–152]. Dos de ellos, no encontraron diferencias significativas en el rendimiento aeróbico (prueba de capacidad aeróbica multietapa) [152], rendimiento anaeróbico (prueba de capacidad anaeróbica máxima de 60 segundos) [152], fuerza muscular (prueba 3RM) [149], resistencia muscular (número máximo de flexiones hasta el agotamiento) [149], potencia máxima (prueba de potencia de pierna de 10 segundos) [149] y trabajo total (prueba de potencia de pierna de diez segundos) [149]. Sin embargo, 3 de ellos mostraron mejoras en la potencia máxima y la potencia media (RAST) [151], en la prueba de fuerza acumulativa (1RM) [147] y en la potencia anaeróbica relativa máxima y total (prueba triple Wingate) [150]. Estos resultados no se pueden comparar con los obtenidos previamente en este estudio, dado que este estudio es el único que mide el rendimiento aeróbico en una prueba incremental, que es un buen predictor del rendimiento aeróbico como la prueba incremental de remo tradicional (buen predictor para el rendimiento aeróbico) [8].

Además, aunque no está claro, algunos autores han indicado que los beneficios de ambos suplementos podrían estar asociados con un aumento en la masa muscular [186,187]. Sin embargo, el presente estudio indicó que la suplementación con CrM más HMB no mostró diferencias entre los grupos en la composición corporal (masa muscular y masa grasa) de los deportistas. Estos resultados podrían explicarse por el alto nivel de entrenamiento de los participantes y el estricto control nutricional durante el estudio [176].

Por otro lado, el LA se produce en las células musculares durante el ejercicio cuando la glucosa se oxida como un proceso de la glucólisis anaeróbica [188]. Cuando se incrementa la intensidad del ejercicio, el LA aumenta. Además altos niveles de LA están asociados a la imposibilidad de continuar haciendo ejercicio [188]. Por lo tanto, es interesante disminuir el LA cuando se realizan las mismas intensidades, para mejorar la capacidad de resistencia [188]. La suplementación de CrM más HMB durante 10 semanas mostró que a la misma concentración de LA (8 mmol/L) se obtuvo una potencia de trabajo significativamente mayor que cuando los suplementos se tomaron individualmente. En la misma línea, Zajac et al. [150] y Faramarzi et al. [151] observaron un aumento significativo en la potencia aeróbica la potencia total y relativa durante la prueba triple Wingate, y en el pico de potencia mediante el RAST, respectivamente. Sin embargo, en contraste con estos estudios, el hallazgo más importante de nuestra investigación fue el efecto sinérgico de la suplementación combinada que se encuentra en todas las pruebas de rendimiento (WAT, W4, W8). Por lo tanto, los 2 suplementos utilizados podrían ejercer sus diferentes efectos en las vías fisiológicas, y como resultado obtener un mejor rendimiento (expresado en índices de potencia).

Por otra parte, la ingestión de CrM aumentó la Cr total muscular y, por lo tanto, su influencia en el sistema Cr/PCr. Este sistema, puede reducir la cantidad de LA al disminuir la glucólisis (ahorrando glucógeno) a la misma intensidad, mejorando la capacidad aeróbica [62]. Este proceso consiste en volver a sintetizar PCr a través de la Cr libre en las mitocondrias, para tener una mayor disponibilidad de energía durante el ejercicio. La Cr libre reacciona con la isoenzima mitocondrial de la CK, quemando un ATP, en el espacio intermembrana de las mitocondrias. El ATP utilizado para crear el PCr, se transforma en ADP que cruza la intermembrana mitocondrial a través de la translocasa de nucleótidos de adenina (ANT) para ingresar en el espacio de la

membrana interna de la mitocondria, donde reacciona con la ATP sintasa consumiéndola y reproduciendo ATP. Ese metabolito pasa a través de ANT al espacio intermembrana exterior para reaccionar con otra molécula de Cr, comenzando nuevamente el ciclo [95]. De otra manera, el HMB puede aumentar la expresión génica del PGC-1 α , cambiando la transformación del tipo de fibra (impulsando el cambio de fibra rápida a lenta) y mejorando la biogénesis mitocondrial y, por lo tanto, la función oxidativa para mejorar la capacidad aeróbica [131]. Este proceso consiste en aumentar la densidad y la cantidad de mitocondrias en células musculares y, por lo tanto, incrementar la oxidación de las grasas y la capacidad aeróbica [189]. Estas adaptaciones podrían ahorrar glucógeno, que es uno de los factores limitantes durante el ejercicio de resistencia, aumentando la capacidad oxidativa y reduciendo la producción de LA mediante la glucólisis [188].

Una de las adaptaciones a largo plazo al entrenamiento de resistencia es la capacidad de reducir los niveles de LA [190]. Las adaptaciones se consiguen después de un período de recuperación adecuado, y existen estrategias para acelerar la recuperación [191]. Estos suplementos podrían influir en la recuperación al aumentar la síntesis de proteínas, disminuir la degradación de proteínas, aumentado los depósitos de glucógeno muscular y mejorar la reparación de la membrana [62]. En particular, la síntesis de proteínas podría ser aumentada por el HMB y la CrM. El HMB puede aumentar este parámetro mediante la estimulación de la fosforilación de mTOR por algunos genes diana como p70S6k, eIF4E y eIF2B [138] y al aumentar los IGF-I [134]. La degradación de proteínas puede reducirse mediante el HMB, disminuyendo la actividad catalítica del proteasoma [182] y también aumentando los IGF-I [134]. El almacenamiento de glucógeno puede incrementarse con ambos suplementos [93,129]. El HMB puede mejorar la síntesis de glucógeno [129], probablemente al acelerar el ciclo del ácido tricarbóxico para proporcionar un esqueleto de carbono para la síntesis de glucógeno. Por otro lado, el CrM también puede mejorar el almacenamiento de glucógeno muscular al aumentar la fosforilación de la proteína quinasa activada por adenosín monofosfato y, por lo tanto, la translocación de GLUT4 [93]. El sarcolema puede repararse con HMB que se convierte en HMG-CoA para la síntesis de colesterol y, por lo tanto, reducir el EIMD como la CK y el LDH [105,116]. El CrM también puede aumentar la síntesis de proteínas, mejorando el factor de transcripción miogénico

MRF-4 [97] y, en consecuencia, aumentando el número de células satélite y el número de mionúcleos [98].

5.2.1 Limitaciones, fortalezas y futura investigación

Como factores limitantes, es importante destacar el hecho del pequeño tamaño de muestra por grupo ($n=7$), en total 28 participantes; Sin embargo, es cierto que es muy difícil obtener muestras más grandes en deporte de élite. Además, el estudio se realizó en un entorno controlado (aleatorizado, doble ciego, nutrición, entrenamiento) que podría ser una fortaleza de este estudio. Asimismo, la dieta ingerida por los atletas se controló durante todo el proceso de intervención, de modo que estos parámetros no influyeron en los resultados finales que podrían presentar errores en el efecto de CrM más HMB.

Para futuras investigaciones, se necesitan más estudios sobre la combinación de CrM más HMB en ejercicios de resistencia de ~20 minutos máximos para tener una evidencia más fuerte de la efectividad de esta combinación de ayudas ergogénicas en el rendimiento láctico anaeróbico. También sería interesante el análisis del efecto de estos suplementos en mujeres deportistas.

5.2.2. Aplicaciones prácticas

Para aplicar el conocimiento práctico, este estudio podría ser interesante para los profesionales interesados en mejorar la capacidad de resistencia de sus atletas, dado que la ingesta durante 10 semanas de una combinación de HMB (3g/día) y CrM (0,04 g/kg/día) podría mejorar la capacidad de resistencia en el ámbito deportivo.

Igualmente, en el contexto de la recuperación post-ejercicio, esto podría resultar en una mejora del rendimiento anaeróbico, es decir, ambos suplementos podrían tener el mismo efecto a través de diferentes mecanismos de acción, lo que justifica plenamente su uso combinado. Sin embargo, nuestros resultados son variados (no se dan las mismas mejoras en WAT, W4 y W8) y pueden verse fuertemente influenciados por el estado del entrenamiento de los participantes, el tamaño de la muestra y el tipo específico de protocolo o medición de ejercicio utilizado. Por lo tanto, se necesitan más estudios para determinar la eficacia general de la suplementación con HMB y CrM

como una ayuda ergogénica combinada dada la controversia en torno a los estudios que investigan el efecto de la suplementación con estos 2 suplementos en el rendimiento.

5.3. ESTUDIO 3

Este estudio se realizó para determinar el efecto y el grado de potenciación de la combinación a largo plazo (10 semanas) de 3 g/día de HMB más 0,04/kg/día de CrM en los marcadores de EIMD y el estado de T y C en remeros tradicionales de élite. El resultado principal reveló un aumento en la T y una mejor relación T/C después del tratamiento en CrM-HMBG en comparación con PLG, CrMG y HMBG después de 10 semanas de suplementación. Además, la combinación de CrM más HMB, presentó un efecto sinérgico sobre la T y el T/C y un efecto antagonista sobre el C en comparación con la suma de la suplementación individual (CrM + HMB) o aislada. Sin embargo, los resultados no mostraron diferencias en los marcadores EIMD (AST, CK y LDH) entre los diferentes grupos suplementados.

El rendimiento máximo requiere un equilibrio adecuado entre las cargas de entrenamiento y la recuperación muscular con el objetivo de minimizar la fatiga [57]. Para monitorizar este equilibrio con el fin de recuperar y/o evitar la fatiga, se utilizan varias variables, como los marcadores de EIMD y las hormonas anabólicas/catabólicas [33,37,192,193]. Aunque hay un incremento agudo en los marcadores EIMD después del ejercicio, especialmente con un componente excéntrico [37], el mantenimiento de valores altos de EIMD a largo plazo podría ser indicativo de un desequilibrio entre la carga y la recuperación, lo que podría reflejar fatiga crónica o sobreentrenamiento [33]. En particular, para comprender mejor este equilibrio, varios autores han propuesto que el estado de las hormonas anabólicas/catabólicas se modifica después del ejercicio debido a un efecto agudo [44]. Sin embargo, a largo plazo, un aumento en los niveles de T indicaría una mejor recuperación endógena [194], y un aumento en el C indicaría un mayor estrés y/o fatiga [39]. Por lo tanto, algunos autores han indicado que la relación T/C es un indicador objetivo del estado de fatiga de un atleta [52]. Por lo tanto, una disminución en esta relación a largo plazo indicaría un mayor estrés, mientras que un aumento indicaría una mejor recuperación [45].

Con el objeto de recuperarse más rápido y retrasar o evitar la fatiga en la mayor medida, se han propuesto algunos suplementos, como CrM o HMB [61,195]. Dado que

el CrM aumenta las reservas de Cr muscular, el sistema Cr/PCr se ve afectado positivamente [62]. Una de las funciones principales del sistema Cr/PCr es el sistema de transporte de energía celular. Mediante dicho sistema, se consigue una mayor disponibilidad de energía durante el ejercicio, a través de la Cr libre, que acelera la resíntesis de la PCr en las mitocondrias. En la membrana externa de la mitocondria, la Cr reacciona con la isoenzima mitocondrial de la CK, usando un ATP y convirtiéndolo en ADP. El ADP se resintetiza en ATP dentro la membrana interna de la mitocondria después de reaccionar con la ATP sintasa (que consume protones). Por lo tanto, el ATP se reutiliza nuevamente en la reacción entre la CK mitocondrial y la Cr, reiniciando el sistema Cr/PCr otra vez [95]. Por otro lado, el HMB puede aumentar la biogénesis mitocondrial al aumentar la expresión génica PGC-1 α , que contribuye a una mejor función oxidativa y, por lo tanto, mejora la capacidad aeróbica [131]. La biogénesis mitocondrial consiste en un aumento en la cantidad y densidad de las mitocondrias de las células musculares, la angiogénesis y aumenta la oxidación de las grasas [189]. Por lo tanto, estas adaptaciones podrían ayudar a ahorrar glucógeno, que es uno de los factores limitantes más importantes durante el ejercicio, cuando se realizan las mismas intensidades de entrenamiento [188].

A pesar de los resultados prometedores, el efecto sobre el EIMD y el estado hormonal, y las diferentes vías de acción metabólicas de la suplementación con CrM y HMB, la combinación de estos suplementos ha presentado resultados controvertidos para el EIMD y el estado hormonal [1]. Estos estudios no encontraron diferencias significativas en los niveles de CK [147,148,150,151] y LDH [150,151] entre los grupos suplementados. De hecho, en un estudio de Jowko et al. (20 g/día los primeros 7 días y 10 g/día el resto de los días de CrM y 3 g/día de HMB) [147], los niveles de CK se mantuvieron elevados después de 3 semanas de suplementación en CrM-HMBG, lo que sugiere que CrM tuvo un efecto antagónico en el efecto reductor del HMB sobre la CK. Sin embargo, los resultados obtenidos en este estudio sobre el EIMD, no mostraron un efecto antagonista sobre los marcadores de EIMD. Además, no hubo diferencias entre T1 y T2 en ninguno de los grupos de estudio que pudieran indicar un equilibrio adecuado entre las cargas de entrenamiento y la recuperación [195,196]. Estas diferencias podrían verse influidas por el momento de la toma de las muestras sanguíneas cuando el objetivo es determinar el efecto a largo plazo de la suplementación de CrM más HMB y se proporciona un tiempo insuficiente para evitar

aumentos agudos de los EIMD post-ejercicio [148]. Del mismo modo, dichas diferencias podrían deberse al hecho de que este tipo de deporte conlleva una actividad cíclica corta (~20 minutos), en contraste con los deportes de equipo intermitentes y de fuerza (actividad excéntrica alta con pesos pesados) [147,148,150–152] que producen una tasa más alta de daño muscular [125,197].

Respecto a las hormonas anabólicas/catabólicas, para nuestro conocimiento, solo un estudio ha analizado el estado de las hormonas anabólicas/catabólicas cuando se ingirieron suplementos combinados. Crowe y O'Connor, no mostraron diferencias significativas en los niveles de C o T después de 6 semanas de suplementación con CrM más HMB a pesar de recibir dosis de suplementación idénticas (3 g/día de CrM y 3 g/día de HMB) [148]. En este estudio, aunque se observó un aumento significativo en los niveles de C en todos los grupos de estudio entre T1 y T2, solo se observó un aumento significativo en los niveles de T en CrM-HMBG. Estos cambios resultaron en una disminución significativa de la relación T/C en PLG, CrMG y HMBG, lo que indica una mayor estrés/fatiga acumulada [198]. Las diferencias en los niveles de T podrían deberse a la duración de la intervención (6 semanas en el estudio de Crowe y O'Connor [148] a diferencia de las 10 semanas en el presente estudio), dado que la T requiere una intervención a largo plazo para producir cambios significativos [40,41]. Además, los resultados presentados sobre T y T/C podrían significar una mejor adaptación/recuperación del entrenamiento mediada por la combinación de CrM y HMB [126,144]. Estos resultados fueron corroborados por un efecto sinérgico de la suplementación combinada (CrM más HMB) sobre T y T/C y un efecto antagonista sobre el C. Sin embargo, después de revisar la literatura, hasta donde sabemos, los mecanismos por los cuales la combinación de CrM más HMB, aumentan la T y la relación T/C no están claros; por lo tanto, se necesita más investigación.

5.3.1. Limitaciones, fortalezas y futura investigación

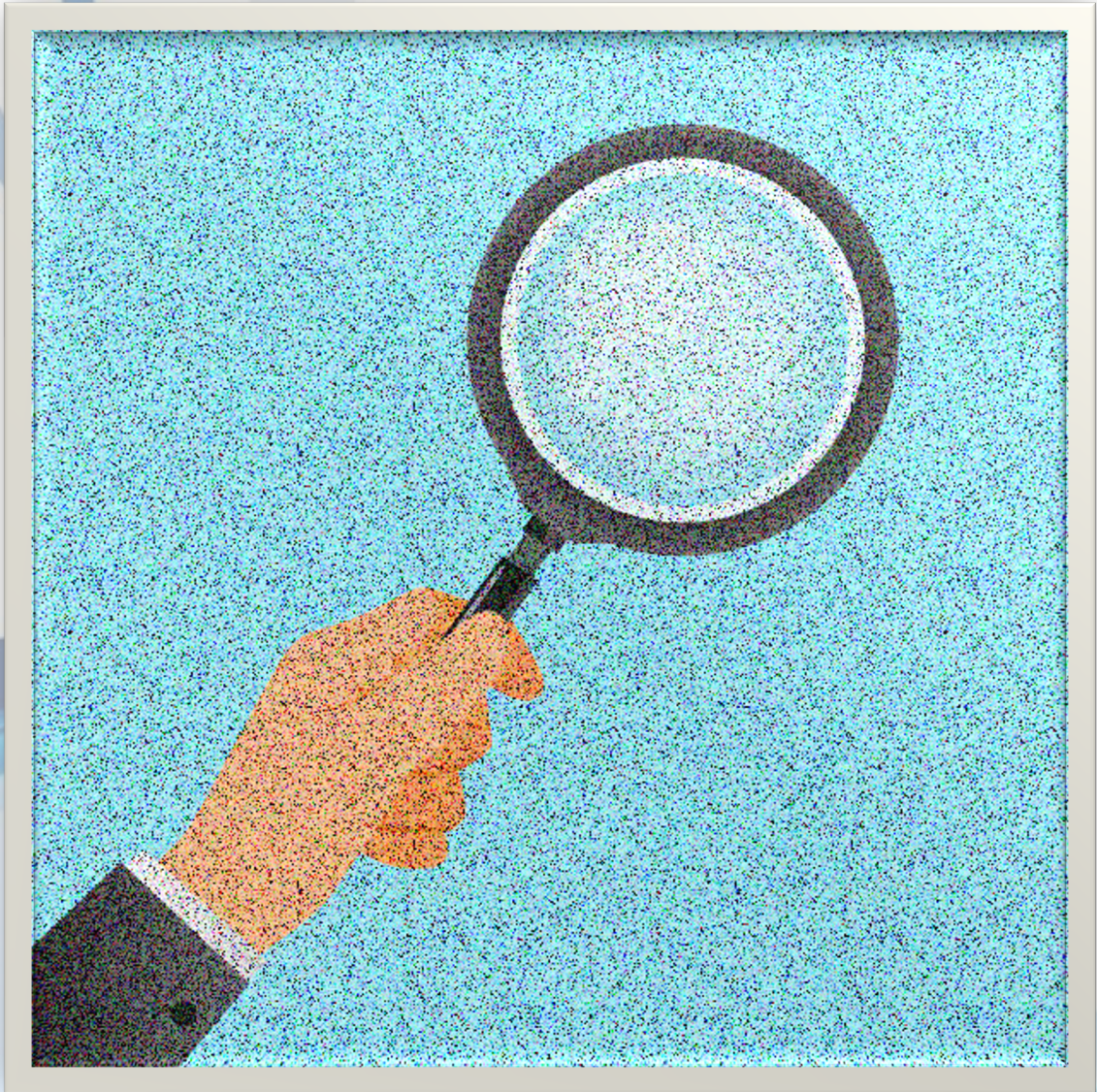
Los resultados de este estudio experimental deben tratarse con cautela, debido al pequeño tamaño de la muestra en total ($n=28$) y en cada grupo de estudio ($n=7$), que es común en los deportes de élite porque es muy difícil obtener muestras más grandes en esta población. Sin embargo, la metodología de un estudio es su fortaleza más importante, dado que este estudio fue una investigación con doble ciego y controlado con placebo para evitar posibles factores que pudiesen influir en el efecto combinado de CrM más HMB. Además, como otra fortaleza de este estudio, se controló la dieta ingerida por los atletas, así como la composición corporal durante todo el proceso de intervención, de modo que estos parámetros no influyeron en los resultados finales.

La investigación futura debería analizar la señal celular/mecanismo genético por el cual ambos combinados tienen un efecto sinérgico en el nivel de T. Además, se debe analizar cómo esta combinación afecta a la población femenina o los deportes anaeróbicos, dado que este estudio solo se centró en los hombres y el rendimiento aeróbico.

5.3.2. Aplicaciones prácticas

Este estudio podría ser interesante para nutricionistas y médicos que desean proporcionar una mejor recuperación posterior al entrenamiento o posterior a la competición para sus atletas. Esto es debido a que $0,04 \text{ g/kg/día}$ de CrM más 3 g/día de HMB durante 10 semanas podría mejorar la recuperación endógena y muscular. Las fases de suplementación podrían considerarse en las fases de entrenamiento en las que hay una mayor carga.

6. CONCLUSIONES



“Nada se vuelve más fácil, simplemente te vuelves más fuerte”

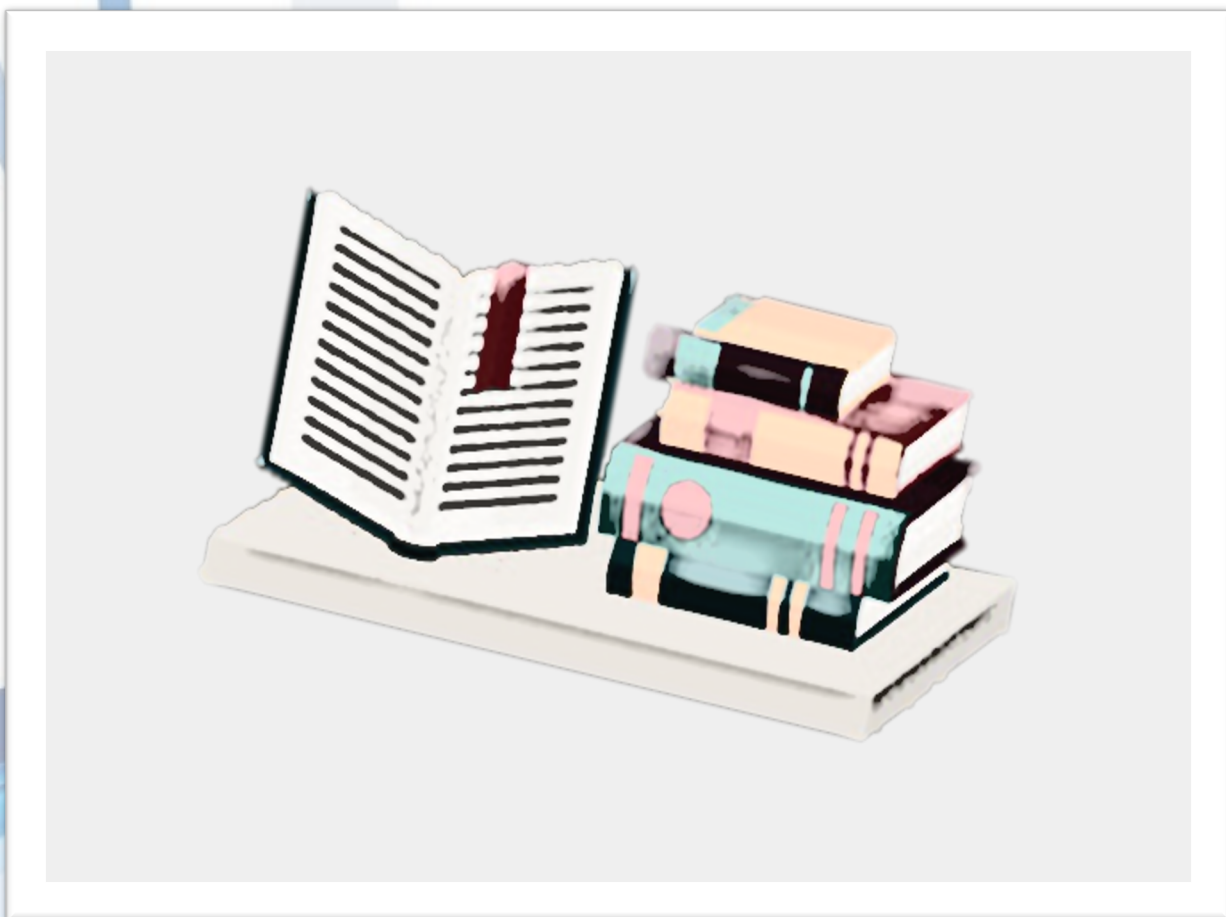
- Anónimo

6. CONCLUSIONES

1) La suplementación con una combinación de 0.04 g/kg/día (≈ 3 g/día) de CrM más 3 g/día de HMB durante 10 semanas de entrenamiento mostró un efecto sinérgico sobre la potencia aeróbica (medida como WAT, W4 y W8) durante una prueba incremental (relacionada con el umbral de lactato individual). Aunque ambos suplementos mostraron una posible mejora en la prueba incremental por separado, se mostró un efecto sinérgico cuando se mezclaron CrM más HMB, probablemente debido a sus diferentes mecanismos fisiológicos.

2) La suplementación con una combinación de 0,04 g/kg/día (≈ 3 g/día) de CRM más 3 g/día de HMB durante 10 semanas mostró un aumento de T y T/C en comparación con el grupo placebo o al tomar los suplementos de forma aislada. Además, esta suplementación combinada reveló un efecto sinérgico sobre la T y el T/C y un efecto antagonista sobre el C, que son resultados positivos para la recuperación de los atletas. Sin embargo, esta combinación no presentó diferencias en EIMD. Por lo tanto, el uso combinado de estos dos suplementos ergogénicos podría promover una recuperación muscular más rápida de la actividad de alta intensidad, pero sin prevenir el EIMD.

7. REFERENCIAS



“El descontento es la primera necesidad de progreso”

- Thomas Edison

7. REFERENCIAS

1. Fernández-Landa, J.; Calleja-González, J.; León-Guereño, P.; Caballero-García, A.; Córdova, A.; Mielgo-Ayuso, J. Effect of the combination of creatine monohydrate plus HMB supplementation on sports performance, body composition, markers of muscle damage and hormone status: a systematic review. *Nutrients* **2019**, *11*, 2528.
2. Fernández-Landa, J.; Fernández-Lázaro, D.; Calleja-González, J.; Caballero-García, A.; Córdova, A.; León-Guereño, P.; Mielgo-Ayuso, J. Effect of ten weeks of creatine monohydrate plus HMB supplementation on athletic performance tests in elite male endurance athletes. *Nutrients* **2020**, *12*, 193.
3. Fernández-Landa, J.; Fernández-Lázaro, D.; Calleja-González, J.; Caballero-García, A.; Córdova, A.; León-Guereño, P.; Mielgo-Ayuso, J. Long-term effect of combination of creatine monohydrate plus β -hydroxy β -methylbutyrate (HMB) on exercise-induced muscle damage and anabolic/catabolic hormones in elite male endurance athletes. *Biomolecules* **2020**, *10*, 140.
4. Dodd, C. *The Story of World Rowing*; Hutchinson, Ed.; 1st ed.; Stanley Paul: London, 1992;
5. González Aramendi, J. Remo olímpico y remo tradicional: Aspectos biomecánicos, fisiológicos y nutricionales. *Arch. Med. del Deport.* **2014**, *31*, 51–59.
6. The World Rowing Federation Available online: <https://worldrowing.com/events/rowing-and-para-rowing/> (accessed on Mar 9, 2021).
7. Eusko Label Liga Available online: <https://www.euskolabelliga.com> (accessed on Mar 9, 2021).
8. Izquierdo-Gabarren, M.; Expósito, R.G.; de Villarreal, E.S.; Izquierdo, M. Physiological factors to predict on traditional rowing performance. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2010**, *108*, 83–92.
9. González Aramendi, J.; M, Ainz, F. Cinética del lactato en remeros de banco fijo durante pruebas de laboratorio y de remo real. *Arch. Med. del Deport.* **1996**, *13*, 339–347.
10. Chwalbinska-Moneta, J. Effect of creatine supplementation on aerobic performance and anaerobic capacity in elite rowers in the course of endurance training. *Int. J. Sport. Exerc. Metab.* **2003**, *13*, 173–183.
11. Mäestu, J.; Jürimäe, J.; Jürimäe, T. Monitoring of performance and training in rowing. *Sport. Med.* **2005**, *35*, 597–617.
12. Pierna, J.B. La planificación en el remo: trainera. *Deport. y Act. física para todos* **2001**, *1*, 103–110.
13. Elorza, I.G. Análisis y comparación de remeros de distinta categoría y el entrenamiento en el remo de traineras (tesis doctoral), Universidad del País

- Vasco, 2016.
14. Nugent, F.; Eamonn, P.; Wilson, F.; Warrington, G. Strength and conditioning for competitive rowers. *Strength Cond. J.* **2020**, *42*, 6–21.
 15. Steinacker J M Physiological aspects of training in rowing. *Int. J. Sports Med.* **1993**, *14*, 3–10.
 16. Svedahl, K.; MacIntosh, B.R. Anaerobic threshold: The concept and methods of measurement. *Can. J. Appl. Physiol.* **2003**, *28*, 299–323.
 17. Zhou, S.; Weston, S.B. Reliability of using the D-max method to define physiological responses to incremental exercise testing. *Physiol. Meas.* **1997**, *18*, 145–154.
 18. Mader, A.; Liesen, H.; Heck, H.; Phillippi, H.; Schurch, P.; Hollmann, W. Zur urteilung der sportartspezifischen ausdauerleistungsfähigkeit. *Sport. Und Sport.* **1976**, *27*, 80–88.
 19. Sjödin, B.; Jacobs, I. Onset of blood lactate accumulation and marathon running performance. *Int. J. Sports Med.* **1981**, *2*, 23–26.
 20. Volkov, N.I.; Shirkovets, E.A.; Borilkevich, V.E. Assessment of aerobic and anaerobic capacity of athletes in treadmill running tests. *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* **1975**, *34*, 121–130.
 21. Daniels, J.; Scardina, N. Interval training and performance. *Sports Med.* **1984**, *1*, 327–334.
 22. Ruiz Rivera, D.J. Valoración funcional en patinadores de velocidad de alto nivel: determinación de forma directa, mediante una prueba de campo, de la velocidad aeróbica máxima patinando (Tesis doctoral), Universidade da Coruña, 2015.
 23. Wilmore, J.H.; Costill, D.L. *Fisiología del esfuerzo y del deporte*; 6th ed.; Editorial Paidó: Barcelona, 2007;
 24. López Chicharro, J.; Fernández Vaquero, A. *Fisiología del Ejercicio*; 3rd ed.; Editorial Panamericana: Madrid, 2019;
 25. Cosgrove, M.J.; Wilson, J.; Watt, D.; Grant, S.F. The relationship between selected physiological variables of rowers and rowing performance as determined by a 2000 m ergometer test. *J. Sports Sci.* **1999**, *17*, 845–852.
 26. Perkins, C.D.; Pivarnik, J.M. Physiological profiles and performance predictors of a women's NCAA rowing team. *J. Strength Cond. Res.* **2003**, *17*, 173–176.
 27. Riechman, S.E.; F, Z.R.; Balasekaran, G.; Goss, F.L.; Robertson, R.J. Prediction of 2000 m indoor rowing performance using a 30 s sprint and maximal oxygen Uptake. *J. Sports Sci.* **2002**, *20*, 681–687.
 28. Allen, D.G.; Lamb, G.D.; Westerblad, H. Skeletal muscle fatigue: cellular mechanisms. *Physiol. Rev.* **2008**, *88*, 287–332.
 29. Cairns, S.P. Lactic acid and exercise performance : culprit or friend? *Sports Med.* **2006**, *36*, 279–291.
 30. Nédélec, M.; McCall, A.; Carling, C.; Legall, F.; Berthoin, S.; Dupont, G.

- Recovery in soccer: part I - post-match fatigue and time course of recovery. *Sports Med.* **2012**, *42*, 997–1015.
31. Aubry, A.; Hausswirth, C.; Louis, J.; Coutts, A.J.; LE Meur, Y. Functional overreaching: the key to peak performance during the taper? *Med. Sci. Sport. Exerc.* **2014**, *46*, 1769–1777.
 32. Stanley, J.; Peake, J.M.; Buchheit, M. Cardiac parasympathetic reactivation following exercise: implications for training prescription. *Sports Med.* **2013**, *43*, 1259–1277.
 33. Meeusen, R.; Duclos, M.; Foster, C.; Fry, A.; Gleeson, M.; Nieman, D.; Raglin, J.; Rietjens, G.; Steinacker, J.; Urhausen, A.; et al. Prevention, diagnosis, and treatment of the overtraining syndrome: Joint consensus statement of the European College of Sport Science and the American College of Sports Medicine. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2013**, *45*, 186–205.
 34. Mielgo-Ayuso, J.; Calleja-González, J.; Urdampilleta, A.; León-Guereño, P.; Córdova, A.; Caballero-García, A.; Fernandez-Lázaro, D. Effects of vitamin D supplementation on haematological values and muscle recovery in elite male traditional rowers. *Nutrients* **2018**, *10*.
 35. Hespel, P.; Eijnde, B.O.; Derave, W.; Richter, E.A. Creatine supplementation: exploring the role of the creatine kinase/phosphocreatine system in human muscle. *Can. J. Appl. Physiol.* **2001**, *26 Suppl*, S79-102.
 36. Clarkson, P.; Sayers, S. Exercise-induced muscle damage in humans. *Can. J. Appl. Physiol.* **1999**, *24*, 234–48.
 37. Brancaccio, P.; Lippi, G.; Maffulli, N. Biochemical markers of muscular damage. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2010**, *48*, 757–767.
 38. Brancaccio, P.; Maffulli, N.; Limongelli, F.M. Creatine kinase monitoring in sport medicine. *Br. Med. Bull.* **2007**, *81–82*, 209–230.
 39. Martínez, A.; Seco Calvo, J.; Tur Marí, J.; Abecia Inchaurregui, L.; Orella, E.; Biescas, A. Testosterone and cortisol changes in professional basketball players through a season competition. *J. Strength Cond. Res.* **2010**, *24*, 1102–1108.
 40. Häkkinen, K.; Pakarinen, A.; Alén, M.; Komi, P. V Serum hormones during prolonged training of neuromuscular performance. *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* **1985**, *53*, 287–293.
 41. Mielgo-Ayuso, J.; Zourdos, M.; Urdampilleta, A.; Calleja-González, J.; Seco, J.; Córdova, A. Relationship of long-term macronutrients intake on anabolic-catabolic hormones in female elite volleyball players. *Nutr. Hosp.* **2017**, *34*, 1155–62.
 42. Kim, H.H. Regulation of gonadotropin-releasing hormone gene expression. *Semin. Reprod. Med.* **2007**, *25*, 313–325.
 43. Vingren, J.L.; Kraemer, W.J.; Ratamess, N.A.; Anderson, J.M.; Volek, J.S.; Maresh, C.M. Testosterone physiology in resistance exercise and training: the up-stream regulatory elements. *Sport. Med.* **2010**, *40*, 1037–1053.
 44. Slimani, M.; Cheoura, F.; Moalla, W.; Baker, J.S. Hormonal responses to a rugby

- match: a brief review. *J. Sports Med. Phys. Fitness* **2018**, *58*, 707–713.
45. Mastorakos, G.; Pavlatou, M.; Diamanti-Kandarakis, E.; Chrousos, G.P. Exercise and the stress system. *Horm.* **2005**, *4*, 73–89.
 46. Giustina, A.; Veldhuis, J.D. Pathophysiology of the neuroregulation of growth hormone secretion in experimental animals and the human. *Endocr. Rev.* **1998**, *19*, 717–797.
 47. Nagaya, N.; Herrera, A.A. Effects of testosterone on synaptic efficacy at neuromuscular junctions in a sexually dimorphic muscle of male frogs. *J. Physiol.* **1995**, *483*, 141–153.
 48. Brooks, B.P.; Merry, D.E.; Paulson, H.L.; Lieberman, A.P.; Kolson, D.L.; Fischbeck, K.H. A cell culture model for androgen effects in motor neurons. *J. Neurochem.* **1998**, *70*, 1054–1060.
 49. Kraemer, W.J.; Ratamess, N.A. Hormonal responses and adaptations to resistance exercise and training. *Sport. Med.* **2005**, *35*, 339–361.
 50. Sapolsky, R.M.; Romero, L.M.; Munck, A.U. How do glucocorticoids influence stress responses? Integrating permissive, suppressive, stimulatory, and preparative actions. *Endocr. Rev.* **2000**, *21*, 55–89.
 51. Vedder, H. The HPA Axis and the Immune System: A Perspective. In *The hypothalamus–pituitary–adrenal axis*; Elsevier B.V.: Marburg, Germany, 2008; pp. 3–16.
 52. Greenham, G.; Buckley, J.D.; Garrett, J.; Eston, R.; Norton, K. Biomarkers of physiological responses to periods of intensified, non-resistance-based exercise training in well-trained male athletes: a systematic review and meta-analysis. *Sport. Med.* **2018**, *48*, 2517–2548.
 53. Hayes, L.D.; Grace, F.M.; Baker, J.S.; Sculthorpe, N. Exercise-induced responses in salivary testosterone, cortisol, and their ratios in men: a meta-analysis. *Sport. Med.* **2015**, *45*, 713–726.
 54. Djaoui, L.; Haddad, M.; Chamari, K.; Dellal, A. Monitoring training load and fatigue in soccer players with physiological markers. *Physiol. Behav.* **2017**, *181*, 86–94.
 55. Heidari, J.; Beckmann, J.; Bertollo, M.; Brink, M.; Kallus, K.W.; Robazza, C.; Kellmann, M. Multidimensional monitoring of recovery status and implications for performance. *Int. J. Sports Physiol. Perform.* **2019**, *14*, 2–8.
 56. Halson, S.L. Monitoring training load to understand fatigue in athletes. *Sport. Med.* **2014**, *44*, 139–147.
 57. Kellmann, M.; Bertollo, M.; Bosquet, L.; Brink, M.; Coutts, A.J.; Duf, R.; Erlacher, D.; Halson, S.L.; Hecksteden, A.; Heidari, J.; et al. Recovery and performance in sport: consensus statement. *Int. J. Sports Physiol. Perform.* **2018**, *13*, 240–245.
 58. Rodriguez NR, DiMarco NM, L.S. Position of the American Dietetic Association, Dietitians of Canada, and the American College of Sports Medicine: Nutrition and athletic performance. *J. Am. Diet. Assoc.* **2013**, *109*,

- 509–527.
59. Jeukendrup, A.E. Periodized Nutrition for Athletes. *Sport. Med.* **2017**, *47*, 51–63.
 60. Boegman, S.; Dziedzic, C. Nutrition and supplements for elite open-weight rowing. *Curr. Sports Med. Rep.* **2016**, *15*, 252–261.
 61. Thomas, D.T.; Erdman, K.A.; Burke, L.M. American College of Sports Medicine Joint Position Statement. Nutrition and Athletic Performance. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2016**, *48*, 543–568.
 62. Kreider, R.B.; Kalman, D.S.; Antonio, J.; Ziegenfuss, T.N.; Wildman, R.; Collins, R.; Candow, D.G.; Kleiner, S.M.; Almada, A.L.; Lopez, H.L. International Society of Sports Nutrition position stand: safety and efficacy of creatine supplementation in exercise, sport, and medicine. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **2017**, *14*, 18.
 63. Australian Institute of Sport Available online: <https://www.ais.gov.au/nutrition/supplements> (accessed on Mar 9, 2021).
 64. Hultman, E.; Söderlund, K.; Timmons, J.A.; Cederblad, G.; Greenhaff, P.L. Muscle creatine loading in men. *J. Appl. Physiol.* **1996**, *81*, 232–237.
 65. Buford, T.W.; Kreider, R.B.; Stout, J.R.; Greenwood, M.; Campbell, B.; Spano, M.; Ziegenfuss, T.; Lopez, H.; Landis, J.; Antonio, J. International Society of Sports Nutrition position stand: creatine supplementation and exercise. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **2007**, *4*, 6.
 66. Kreider, R.B.; Jung, Y.P. Creatine supplementation in exercise, sport, and medicine. *J. Exerc. Nutr. Biochem.* **2011**, *15*, 53–69.
 67. Paddon-Jones, D.; Børsheim, E.; Wolfe, R.R. Potential ergogenic effects of arginine and creatine supplementation. *J. Nutr.* **2004**, *134*, 2888S–2894S.
 68. Brosnan, M.E.; Brosnan, J.T. The role of dietary creatine. *Amino Acids* **2016**, *48*, 1785–1791.
 69. Balsom, P.D.; Söderlund, K.; Ekblom, B. Creatine in humans with special reference to creatine supplementation. *Sports Med.* **1994**, *18*, 268–80.
 70. Suzuki, T.; Mizuta, C.; Uda, K.; Ishida, K.; Mizuta, K.; Sona, S.; Compaan, D.M.; Ellington, W.S. Evolution and divergence of the genes for cytoplasmic, mitochondrial, and flagellar creatine kinases. *J. Mol. Evol.* **2004**, *59*, 218–226.
 71. Sahlin, K.; Harris, R.C. The creatine kinase reaction: a simple reaction with functional complexity. *Amino Acids* **2011**, *40*, 1363–1367.
 72. Bertin, M.; Pomponi, S.M.; Kokuhuta, C.; Iwasaki, N.; Suzuki, T.; Ellington, W.S. Origin of the genes for the isoforms of creatine kinase. *Gene* **2007**, *392*, 273–282.
 73. Harris, R. Creatine in health, medicine and sport: an introduction to a meeting held at Downing College, University of Cambridge, July 2010. *Amino Acids* **2011**, *40*, 1267–1270.
 74. Harris, R.C.; Söderlund, K.; Hultman, E. Elevation of creatine in resting and

- exercised muscle of normal subjects by creatine supplementation. *Clin. Sci.* **1992**, *83*, 367–374.
75. Kreider, R.B. Effects of creatine supplementation on performance and training adaptations. *Mol. Cell. Biochem.* **2003**, *244*, 89–94.
 76. Casey, A.; Constantin-Teodosiu, D.; Howell, S.; Hultman, E.; Greenhaff, P.L. Creatine ingestion favorably affects performance and muscle metabolism during maximal exercise in humans. *Am. J. Physiol.* **1996**, *271*, E31–E37.
 77. Greenhaff, P.L.; Casey, A.; Short, A.H.; Harris, R.; Soderlund, K.; Hultman, E. Influence of oral creatine supplementation of muscle torque during repeated bouts of maximal voluntary exercise in man. *Clin. Sci.* **1993**, *84*, 565–571.
 78. Chwalbinska-Moneta, J. Effect. *Int. J. Sport. Exerc. Metab.* **2003**, *13*, 173–183.
 79. Oliver, J.M.; Joubert, D.P.; Martin, S.E.; Crouse, S.F. Oral creatine supplementation's decrease of blood lactate during exhaustive, incremental cycling. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* **2013**, *23*, 252–258.
 80. Nelson, A.G.; Day, R.; Glickman-Weiss, E.L.; Hegsted, M.; Kokkonen, J.; Sampson, B. Creatine supplementation alters the response to a graded cycle ergometer test. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2000**, *83*, 89–94.
 81. Forbes, S.C.; Sletten, N.; Durrer, C.; Myette-Côté, E.; Candow, D.; Little, J.P. Creatine monohydrate supplementation does not augment fitness, performance, or body composition adaptations in response to four weeks of high-intensity Interval training in young females. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* **2017**, *27*, 285–292.
 82. Kresta, J.Y.; Oliver, J.M.; Jagim, A.R.; Fluckey, J.; Riechman, S.; Kelly, K.; Meininger, C.; Mertens-Talcott, S.U.; Rasmussen, C.; Kreider, R.B. Effects of 28 days of beta-alanine and creatine supplementation on muscle carnosine, body composition and exercise performance in recreationally active females. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **2014**, *11*, 55.
 83. Zoeller, R.F.; Stout, J.R.; O'kroy, J.A.; Torok, D.J.; Mielke, M. Effects of 28 days of beta-alanine and creatine monohydrate supplementation on aerobic power, ventilatory and lactate thresholds, and time to exhaustion. *Amino Acids* **2007**, *33*, 505–510.
 84. Reardon, T.F.; Ruell, P.A.; Fiatarone Singh, M.A.; Thompson, C.H.; Rooney, K.B. Creatine supplementation does not enhance submaximal aerobic training adaptations in healthy young men and women. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2006**, *98*, 234–241.
 85. Vandebuerie, F.; Vanden Eynde, B.; Vandenberghe, K.; Hespel, P. Effect of creatine loading on endurance capacity and sprint power in cyclists. *Int. J. Sports Med.* **1998**, *19*, 490–495.
 86. Biwer, C.J.; Jensen, R.L.; Schmidt, W.D.; Watts, P.B. The effect of creatine on treadmill running with high-intensity intervals. *J. Strength Cond. Res.* **2003**, *17*, 439–445.
 87. Bassit, R.; Pinheiro, C.; Vitzel, K.; Sproesser, A.; Silveira, L.; Curi, R. Effect of short-term creatine supplementation on markers of skeletal muscle damage after

- strenuous contractile activity. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2010**, *108*, 945–955.
88. Deminice, R.; Rosa, F.T.; Franco, G.S.; Jordao, A.A.; de Freitas, E.C. Effects of creatine supplementation on oxidative stress and inflammatory markers after repeated-sprint exercise in humans. *Nutrition* **2013**, *29*, 1127–1132.
 89. Santos, R.V.T.; Bassit, R.A.; Caperuto, E.C.; Costa Rosa, L.F.B.P. The effect of creatine supplementation upon inflammatory and muscle soreness markers after a 30km race. *Life Sci.* **2004**, *75*, 1917–1924.
 90. Volek, J.S.; Ratamess, N.A.; Rubin, M.R.; Gómez, A.L.; French, D.N.; McGuigan, M.M.; Scheett, T.P.; Sharman, M.J.; Häkkinen, K.; Kraemer, W.J. The effects of creatine supplementation on muscular performance and body composition responses to short-term resistance training overreaching. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2004**, *91*, 628–637.
 91. Van Der Merwe, J.; Brooks, N.E.; Myburgh, K.H. Three weeks of creatine monohydrate supplementation affects dihydrotestosterone to testosterone ratio in college-aged rugby players. *Clin. J. Sport Med.* **2009**, *19*, 399–404.
 92. Vatani, D.S.; Faraji, H.; Soori, R.; Mogharnasi, M. The effects of creatine supplementation on performance and hormonal response in amateur swimmers. *Sci. Sport.* **2011**, *26*, 272–277.
 93. Roberts, P.A.; Fox, J.; Peirce, N.; Jones, S.W.; Casey, A.; Greenhaff, P.L. Creatine ingestion augments dietary carbohydrate mediated muscle glycogen supercompensation during the initial 24 h of recovery following prolonged exhaustive exercise in humans. *Amino Acids* **2016**, *48*, 1831–1842.
 94. van Loon, L.J.; Murphy, R.; Oosterlaar, A.M.; Cameron-Smith, D.; Hargreaves, M.; Wagenmakers, A.J.M.; Snow, R. Creatine supplementation increases glycogen storage but not GLUT-4 expression in human skeletal muscle. *Clin. Sci.* **2004**, *106*, 99–106.
 95. Saks, V.A.; Kongas, O.; Vendelin, M.; Kay, L. Role of the creatine/phosphocreatine system in the regulation of mitochondrial respiration. *Acta Physiol. Scand.* **2000**, *168*, 635–41.
 96. Ferretti, R.; Moura, E.G.; Dos Santos, V.C.; Caldeira, E.J.; Conte, M.; Matsumura, C.Y.; Pertille, A.; Mosqueira, M. High-fat diet suppresses the positive effect of creatine supplementation on skeletal muscle function by reducing protein expression of IGF-PI3K-AKT-mTOR pathway. *PLoS One* **2018**, *13*, e0199728.
 97. Hespel, P.; Op't Eijnde, B.; Leemputte, M. Van; Ursø, B.; Greenhaff, P.L.; Labarque, V.; Dymarkowski, S.; Hecke, P. Van; Richter, E.A. Oral creatine supplementation facilitates the rehabilitation of disuse atrophy and alters the expression of muscle myogenic factors in humans. *J. Physiol.* **2001**, *536*, 625–33.
 98. Olsen, S.; Aagaard, P.; Kadi, F.; Tufekovic, G.; Verney, J.; Olesen, J.L.; Suetta, C.; Kjær, M. Creatine supplementation augments the increase in satellite cell and myonuclei number in human skeletal muscle induced by strength training. *J. Physiol.* **2006**, *573*, 525–34.

99. Knight, J.D.R.; Kothary, R. The myogenic kinome: protein kinases critical to mammalian skeletal myogenesis. *Skelet. Muscle* **2011**, *1*, 29.
100. Martin, D.T.; McLean, B.; Trewin, C.; Lee, H.; Victor, J.; Hahn, A.G. Physiological characteristics of nationally competitive female road cyclists and demands of competition. *Sport. Med.* **2001**, *31*, 469–77.
101. Stone, M.; Sanborn, K.; Smith, L.; O’Bryant, H.; Hoke, T.; Utter, A.; Johnson, R.; Boros, R.; Hruba, J.; Pierce, K.; et al. Effects of in-season (5 weeks) creatine and pyruvate supplementation on anaerobic performance and body composition in American football players. *Int. J. Sport Nutr.* **1999**, *9*, 146–65.
102. Deminice, R.; Rosa, F.T.; Pfrimer, K.; Ferrioli, E.; Jordao, A.A.; Freitas, E. Creatine Supplementation Increases Total Body Water in Soccer Players: A Deuterium Oxide Dilution Study. *Int. J. Sports Med.* **2016**, *37*, 149–53.
103. Powers, M.E.; Arnold, B.L.; Weltman, A.L.; Perrin, D.H.; Mistry, D.; Kahler, D.M.; Kraemer, W.; Volek, J. Creatine Supplementation Increases Total Body Water Without Altering Fluid Distribution. *J. Athl. Train.* **2003**, *38*, 44–50.
104. Wilson, J.M.; Fitschen, P.J.; Campbell, B.; Wilson, G.J.; Zanchi, N.; Taylor, L.; Wilborn, C.; Kalman, D.S.; Stout, J.R.; Hoffman, J.R.; et al. International Society of Sports Nutrition Position Stand: beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB). *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **2013**, *10*, 6.
105. Nissen, S.; Abumrad, N. Nutritional role of the leucine metabolite β -hydroxy β -methylbutyrate (HMB). *J. Nutr. Biochem.* **1997**, *8*, 300–311.
106. Van Koeving, M.; Nissen, S. Oxidation of leucine and alpha-ketoisocaproate to b-hydroxy-b-methylbutyrate in vivo. *Am. J. Physiol.* **1992**, *262*, E27–E31.
107. Rahimi, M.H.; Mohammadi, H.; Eshaghi, H.; Askari, G.; Miraghajani, M. The effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation on recovery following exercise-induced muscle damage: a systematic review and meta-analysis. *J. Am. Coll. Nutr.* **2018**, *37*, 640–649.
108. Arazi, H.; Taati, B.; Suzuki, K. A review of the effects of leucine metabolite (β -hydroxy- β -methylbutyrate) supplementation and resistance training on inflammatory markers: a new approach to oxidative stress and cardiovascular risk factors. *Antioxidants* **2018**, *7*, 148.
109. Ogura, J.; Sato, T.; Higuchi, K.; Bhutia, Y.D.; Babu, E.; Masuda, M.; Miyauchi, S.; Rueda, R.; Pereira, S.L.; Ganapathy, V. Transport mechanisms for the nutritional supplement β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) in mammalian cells. *Pharm. Res.* **2019**, *36*, 84.
110. Wilson, G.J.; Wilson, J.M.; Manninen, A.H. Effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) on exercise performance and body composition across varying levels of age, sex, and training experience: A review. *Nutr. Metab.* **2008**, *5*, 1–17.
111. Ehling, S.; Reddy, T.M. Investigation of the presence of b-hydroxy- b-methylbutyric acid and a-hydroxyisocaproic acid in bovine whole milk and fermented dairy products by a validated liquid chromatography–mass spectrometry method. *J. Agric. Food Chem.* **2014**, *62*, 1506–1511.

112. Szcześniak, K.A.; Ostaszewski, P.; Fuller Jr, J.C.; Ciecierska, A.; Sadkowski, T. Dietary supplementation of β -hydroxy- β -methylbutyrate in animals-a review. *J. Anim. Physiol. Anim. Nutr. (Berl)*. **2015**, *99*, 405–417.
113. Argilés, J.M.; Campos, N.; Lopez-Pedrosa, J.M.; Rueda, R.; Rodriguez-Mañas, L. Skeletal muscle regulates metabolism via interorgan crosstalk: roles in health and disease. *J. Am. Med. Dir. Assoc.* **2016**, *17*, 789–796.
114. Landi, F.; Calvani, R.; Tosato, M.; Martone, A.M.; Ortolani, E.; Saveria, G.; D'Angelo, E.; Sisto, A.; Marzetti, E. Protein intake and muscle health in old age: from biological plausibility to clinical evidence. *Nutrients* **2016**, *8*, 295.
115. Molfino, A.; Gioia, G.; Fanelli, F.R.; Muscaritoli, M. Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation in health and disease: a systematic review of randomized trials. *Amino Acids* **2013**, *45*, 1273–1292.
116. Nissen, S.; Sharp, R.; Ray, J.; Rathmacher, J.A.; Rice, D.; Fuller, J.C.; Connelly, A.S.; Abumrad, N. Effect of leucine metabolite β -hydroxy- β -methylbutyrate on muscle metabolism during resistance-exercise training. *J. Appl. Physiol.* **1996**, *81*, 2095–2104.
117. Silva, V.R.; Belozo, F.L.; Micheletti, T.O.; Conrado, M.; Stout, J.R.; Pimentel, G.D.; Gonzalez, A.M. β -hydroxy- β -methylbutyrate free acid supplementation may improve recovery and muscle adaptations after resistance training: a systematic review. *Nutr. Res.* **2017**, *45*, 1–9.
118. Vukovich, M.D.; Dreifort, G.D. Effect of beta-hydroxy beta-methylbutyrate on the onset of blood lactate accumulation and VO₂ peak in endurance-trained cyclists. *J. Strength Cond. Res.* **2001**, *15*, 491–497.
119. Lamboley, C.R.H.; Royer, D.; Dionne, I.J. Effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate on aerobic-performance components and body composition in college students. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* **2007**, *17*, 56–69.
120. Durkalec-Michalski, K.; Jeszka, J.; Podgórski, T. The effect of a 12-week beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation on highly-trained combat sports athletes: A randomised, double-blind, placebo-controlled crossover study. *Nutrients* **2017**, *9*, 753.
121. Durkalec-Michalski, K.; Jeszka, J. The effect of β -hydroxy- β -methylbutyrate on aerobic capacity and body composition in trained athletes. *J. Strength Cond. Res.* **2016**, *30*, 2617–2626.
122. Miramonti, A.A.; Stout, J.R.; Fukuda, D.H.; Robinson 4th, E.H.; Wang, R.; La Monica, M.B.; Hoffman, J.R. Effects of 4 weeks of high-intensity interval training and β -Hydroxy- β -methylbutyric free acid supplementation on the onset of neuromuscular fatigue. *J. Strength Cond. Res.* **2016**, *30*, 626–634.
123. Portal, S.; Zadik, Z.; Rabinowitz, J.; Pilz-Burstein, R.; Adler-Portal, D.; Meckel, Y.; Cooper, D.M.; Eliakim, A.; Nemet, D. The effect of HMB supplementation on body composition, fitness, hormonal and inflammatory mediators in elite adolescent volleyball players: A prospective randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2011**, *111*, 2261–2269.
124. Wilson, J.M.; Lowery, R.P.; Joy, J.M.; Walters, J.A.; Baier, S.M.; Fuller, J.C.;

- Stout, J.R.; Norton, L.E.; Sikorski, E.M.; Wilson, S.M.C.; et al. β -Hydroxy- β -methylbutyrate free acid reduces markers of exercise-induced muscle damage and improves recovery in resistance-trained men. *Br. J. Nutr.* **2013**, *110*, 538–544.
125. Knitter, A.E.; Panton, L.; Rathmacher, J.A.; Petersen, A.; Sharp, R. Effects of β -hydroxy- β -methylbutyrate on muscle damage after a prolonged run. *J. Appl. Physiol.* **2000**, *89*, 1340–1344.
126. Wilson, J.M.; Lowery, R.P.; Joy, J.M.; Andersen, J.C.; Wilson, S.M.C.; Stout, J.R.; Duncan, N.; Fuller, J.C.; Baier, S.M.; Naimo, M.A.; et al. The effects of 12 weeks of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate free acid supplementation on muscle mass, strength, and power in resistance-trained individuals: a randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2014**, *114*, 1217–1227.
127. Durkalec-Michalski, K.; Jeszka, J. The efficacy of a β -hydroxy- β -methylbutyrate supplementation on physical capacity, body composition and biochemical markers in elite rowers: a randomised, double-blind, placebo-controlled crossover study. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **2015**, *12*, 31.
128. Townsend, J.R.; Hoffman, J.R.; Gonzalez, A.M.; Jajtner, A.R.; Boone, C.H.; Robinson, E.H.; Mangine, G.T.; Wells, A.J.; Fragala, M.S.; Fukuda, D.H.; et al. Effects of β -Hydroxy- β -methylbutyrate free acid ingestion and resistance exercise on the acute endocrine response. *Int. J. Endocrinol.* **2015**, *2015*, 856708.
129. Pinheiro, C.; Gerlinger-Romero, F.; Guimarães-Ferreira, L.; de Souza, A.J.; Vitzel, K.; Nachbar, R.; Nunes, M.; Curi, R. Metabolic and functional effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation in skeletal muscle. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2012**, *112*, 2531–2537.
130. Cross, D.A.E.; Alessi, D.R.; Vandenheede, J.R.; McDowell, H.E.; Hundal, H.S.; Cohen, P. The inhibition of glycogen synthase kinase-3 by insulin or insulin-like growth factor 1 in the rat skeletal muscle cell line L6 is blocked by wortmannin, but not by rapamycin: evidence that wortmannin blocks activation of the mitogen-activated protein kin. *Biochem. J.* **1994**, *303*, 21–26.
131. He, X.; Duan, Y.; Yao, K.; Li, F.; Hou, Y.; Wu, G.; Yin, Y. β -Hydroxy- β -methylbutyrate, mitochondrial biogenesis, and skeletal muscle health. *Amino Acids* **2016**, *48*, 653–64.
132. Smith, H.J.; Wyke, S.H.; Tisdale, M.J. Role of protein kinase C and NF-kappaB in proteolysis-inducing factor-induced proteasome expression in C(2)C(12) myotubes. *Br. J. Cancer* **2004**, *90*, 1850–7.
133. Smith, H.J.; Wyke, S.M.; Tisdale, M.J. Mechanism of the attenuation of proteolysis-inducing factor stimulated protein degradation in muscle by β -hydroxy- β -methylbutyrate. *Cancer Res.* **2004**, *64*, 8731–5.
134. Gerlinger-Romero, F.; Guimarães-Ferreira, L.; Giannocco, G.; Nunes, M.T. Chronic supplementation of beta-hydroxy-beta methylbutyrate (HMB) increases the activity of the GH/IGF-I axis and induces hyperinsulinemia in rats. *Growth Horm. IGF Res.* **2011**, *21*, 57–62.
135. Glass, D.J. Skeletal muscle hypertrophy and atrophy signaling pathways. *Int. J.*

- Biochem. Cell Biol.* **2005**, *37*, 1974–84.
136. Laviola, L.; Giorgino, F.; Natalicchio, A. The IGF-1 signaling pathway. *Curr. Pharm. Des.* **2007**, *13*, 663–9.
 137. Eley, H.L.; Russell, S.T.; Baxter, J.H.; Mukerji, P.; Tisdale, M.J. Signaling pathways initiated by beta-hydroxy-beta-methylbutyrate to attenuate the depression of protein synthesis in skeletal muscle in response to cachectic stimuli. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* **2007**, *293*, E923-31.
 138. Kornasio, R.; Riederer, I.; Butler-Browne, G.; Mouly, V.; Uni, Z.; Halevy, O. β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) stimulates myogenic cell proliferation, differentiation and survival via the MAPK/ERK and PI3K/Akt pathways. *Biochim. Biophys. Acta - Mol. Cell Res.* **2009**, *1793*, 755–63.
 139. Gallagher, P.M.; Carrithers, J.A.; Godard, M.P.; Schulze, K.E.; Trappe, S.W. Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate ingestion, part II: effects on hematology, hepatic and renal function. *Med. Sci. Sport. Exerc.* **2000**, *32*, 2116–2119.
 140. Nissen, S.; Sharp, R.L.; Panton, L.; Vukovich, M.; Trappe, S.; Fuller Jr, J.C. Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation in humans Is safe and may decrease cardiovascular risk factors. *J. Nutr.* **2000**, *130*, 1937–1945.
 141. Rathmacher, J.A.; Nissen, S.; Panton, L.; Clark, R.H.; May, P.E.; Barber, A.E.; D'Olimpio, J.; Abumrad, N.N. Supplementation with a combination of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB), arginine, and glutamine is safe and could improve hematological parameter. *J. Parenter. Enter. Nutr.* **2004**, *28*, 65–75.
 142. Baxter, J.H.; Carlos, J.L.; Thurmond, J.; Rehani, R.N.; Bultman, J.; Frost, D. Dietary toxicity of calcium beta-hydroxy-beta-methyl butyrate (CaHMB). *Food Chem. Toxicol.* **2005**, *43*, 1731–1741.
 143. Kerksick, C.M.; Arent, S.; Schoenfeld, B.J.; Stout, J.R.; Campbell, B.; Wilborn, C.D.; Taylor, L.; Kalman, D.; Smith-Ryan, A.E.; Kreider, R.B.; et al. International society of sports nutrition position stand: Nutrient timing. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **2017**, *14*, 1–12.
 144. Arazi, H.; Rahmaninia, F.; Hosseini, K.; Asadi, A. Effects of short term creatine supplementation and resistance exercises on resting hormonal and cardiovascular responses. *Sci. Sport.* **2015**, *30*, 105–109.
 145. Di Camillo, B.; Eduati, F.; Nair, S.K.; Avogaro, A.; Toffolo, G.M. Leucine modulates dynamic phosphorylation events in insulin signaling pathway and enhances insulin-dependent glycogen synthesis in human skeletal muscle cells. *BMC Cell Biol.* **2014**, *15*, 1–9.
 146. Stout, J.; Cramer, J.; Mielke, M.; O'Kroy, J.; Torok, D.; Zoeller, F. Effects of twenty-eight days of beta-alanine and creatine monohydrate supplementation on the physical working capacity at neuromuscular fatigue threshold. *J. Strength Cond. Res.* **2006**, *20*, 928–931.
 147. Jówko, E.; Ostaszewski, P.; Jank, M.; Sacharuk, J.; Zieniewicz, A.; Wilczak, J.; Nissen, S. Creatine and β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) additively increase lean body mass and muscle strength during a weight-training program. *Nutrition* **2001**, *17*, 558–566.

148. Crowe, M.J.; O'Connor, D.M.; Lukins, J.E. The effects of β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) and HMB/creatine supplementation on indices of health in highly trained athletes. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* **2003**, *13*, 184–197.
149. O'Connor, D.M.; Crowe, M.J. Effects of six weeks of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) and HMB/creatine supplementation on strength, power, and anthropometry of highly trained athletes. *J. Strength Cond. Res.* **2007**, *21*, 419–423.
150. Zajac, A.; Waskiewicz, Z.; Poprzecki, S.; Cholewa, J. Effects of creatine and HMB supplementation on anaerobic power and body composition in basketball players. *J. Hum. Kinet.* **2003**, *10*, 95–108.
151. Faramarzi, M.; Nuri, R.; Banitalebi, E.; Sciences, S. The effect of short-term combination of HMB (beta-hydroxy-beta-methylbutyrate) and creatine supplementation on anaerobic performance and muscle injury markers in soccer players. **2009**, *3*, 366–375.
152. O'Connor, D.M.; Crowe, M.J. Effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate and creatine monohydrate supplementation on the aerobic and anaerobic capacity of highly trained athletes. *J. Sports Med. Phys. Fitness* **2003**, *43*, 64–8.
153. Lloyd, A.; Hodder, S.; Havenith, G. The interactive effect of cooling and hypoxia on forearm fatigue development. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2015**, *115*, 2007–2018.
154. Moher, D.; Liberati, A.; Tetzlaff, J.; Altman, D.G. Academia and clinic annals of internal medicine preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses : *Ann. Intern. Med.* **2009**, *151*, 264–9.
155. Higgins, J.; Green, S. *Cochrane handbook for systematic reviews of interventions*; John Wiley & Sons: Chichester, England, 2008;
156. Thomas, D.T.; Erdman, K.A.; Burke, L.M. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics, Dietitians of Canada, and the American College of Sports Medicine: Nutrition and Athletic Performance. *J. Acad. Nutr. Diet.* **2016**, *116*, 501–528.
157. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *J. Am. Med. Assoc.* **2013**, *310*, 2191–2194.
158. Ingham, S.; Whyte, G.; Jones, K.; Nevill, A. Determinants of 2,000 m rowing ergometer performance in elite rowers. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2002**, *88*, 243–6.
159. Izquierdo-Gabarren, M.; González De Txabarri Expósito, R.; García-Pallarés, J.; Sánchez-Medina, L.; De Villarreal, E.S.; Izquierdo, M. Concurrent endurance and strength training not to failure optimizes performance gains. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2010**, *42*, 1191–1199.
160. Mejuto, G.; Arratibel, I.; Cámara, J.; Puente, A.; Iturriaga, J.; Calleja-González, J. The effect of a 6-week individual anaerobic threshold based programme in a traditional rowing. *Biol. Sport* **2012**, *29*, 51–55.
161. De Campos Mello, F.; Bertuzzi, R.; Franchini, E.; Candau, R. Rowing ergometer with the slide is more specific to rowers' physiological evaluation. *Res. Sport. Med.* **2014**, *22*, 136–146.

162. Tanner, R.K.; Fuller, K.L.; Ross, M.L.R. Evaluation of three portable blood lactate analysers: Lactate Pro, Lactate Scout and Lactate Plus. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2010**, *109*, 551–559.
163. Bell, P.G.; Furber, M.J.W.; VAN Someren, K.A.; Antón-Solanas, A.; Swart, J. The Physiological Profile of a Multiple Tour de France Winning Cyclist. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2017**, *49*, 115–123.
164. Stewart, A.; Marfell-Jones, M.; Olds, T.; de Ridder, H. *International standards for anthropometric assessment*; 3rd ed.; ISAK: Lower Hutt, New Zealand, 2011;
165. Carter, J.E.L. Body composition of montreal olympic athletes. In *Physical structure of olympic athletes part I the montreal olympic games anthropological project*; Karger: Basel, Switzerland, 1982; pp. 107–116.
166. Lee, R.C.; Wang, Z.; Heo, M.; Ross, R.; Janssen, I.; Heymsfield, S.B. Total-body skeletal muscle mass: Development and cross-validation of anthropometric prediction models. *Am. J. Clin. Nutr.* **2000**, *72*, 796–803.
167. Mielgo-Ayuso, J.; Zourdos, M.C.; Calleja-González, J.; Urdampilleta, A.; Ostojic, S.M. Dietary intake habits and controlled training on body composition and strength in elite female volleyball players during the season. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* **2015**, *40*, 827–834.
168. Mielgo-Ayuso, J.; Collado, P.S.; Urdampilleta, A.; Martínez-Sanz, J.M.; Seco, J. Changes induced by diet and nutritional intake in the lipid profile of female professional volleyball players after 11 weeks of training. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **2013**, *10*, 55.
169. Farrán, A.; Zamora, R.; Cervera, P. *Tablas de Composición de Alimentos del Centre D'Ensenyament Superior de Nutrició i Dietètica (CESNID)*; Universitat de Barcelona: Barcelona, Spain, 2004;
170. Ferguson, C.J. An Effect Size Primer: A Guide for Clinicians and Researchers. *Prof. Psychol. Res. Pract.* **2009**, *40*, 532–538.
171. Beelen, M.; Burke, L.M.; Gibala, M.J.; van Loon L, J.C. Nutritional strategies to promote postexercise recovery. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* **2010**, *20*, 515–32.
172. Chulvi-Medrano, I.; Picon-Martinez, M.; Garcia-Jaen, M.; Manuel Cortell-Tormo, J.; Alakhdar, Y.; Laurentino, G. Neuromuscular adaptations after blood flow restriction training combined with nutritional supplementation: A preliminary study. *Montenegrin J. Sport. Sci. Med.* **2019**, *8*, 37–42.
173. Folland, J.P.; Williams, A.G. The adaptations to strength training: morphological and neurological contributions to increased strength. *Sport. Med.* **2007**, *37*, 145–68.
174. Kalman, D.S.; Antonio, J.; Ziegenfuss, T.N.; Wildman, R.; Collins, R.; Candow, D.G.; Kleiner, S.M.; Almada, A.L.; Lopez, H.L. Ifety and efficacy of creatine supplementation in exercise, sport, and medicine. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **2017**, *14*, 1–18.
175. Becque, M.; Lochmann, J.; Melrose, D. Effects of oral creatine supplementation on muscular strength and body composition. *Phys. Fit. Perform.* **2000**, *32*, 654–

8.

176. Spurway, N.; MacLaren, D. *The Physiology of Training: Advances in Sport and Exercise Science series*; Elsevier Health Sciences: Philadelphia, PA, USA, 2006;
177. Williams, C.; Rollo, I. Carbohydrate nutrition and team sport performance. *Sport. Med.* **2015**, *45*, 13–22.
178. Phillips, S.M.; Tipton, K.D.; Ferrando, A.A.; Wolfe, R.R. Resistance training reduces the acute exercise-induced increase in muscle protein turnover. *Am. J. Physiol.* **1999**, *276*, E118-24.
179. Córdova Martínez, A.; Fernández-Lázaro, D.; Mielgo-Ayuso, J.; Seco Calvo, J.; Caballero García, A. Effect of magnesium supplementation on muscular damage markers in basketball players during a full season. *Magnes. Res.* **2017**, *30*, 61–70.
180. Hughes, D.C.; Ellefsen, S.; Baar, K. Adaptations to endurance and strength training. *Cold Spring Harb. Perspect. Med.* **2018**, *8*, a029769.
181. Nissen, S.L.; Sharp, R.L. Effect of dietary supplements on lean mass and strength gains with resistance exercise: a meta-analysis. *J. Appl. Physiol.* **2003**, *94*, 651–9.
182. Smith, H.J.; Mukerji, P.; Tisdale, M.J. Attenuation of proteasome-induced proteolysis in skeletal muscle by β -hydroxy- β -methylbutyrate in cancer-induced muscle loss. *Cancer Res.* **2005**, *65*, 277–83.
183. Dehoux, M.; Van Beneden, R.; Pasko, N.; Lause, P.; Verniers, J.; Underwood, L.; Ketelslegers, J.M.; Thissen, J.P. Role of the insulin-like growth factor I decline in the induction of atrogin-1/MAFbx during fasting and diabetes. *Endocrinology* **2004**, *145*, 4806–12.
184. Gleeson, M. Biochemical and immunological markers of over-training. *J. Sport. Sci. Med.* **2002**, *1*, 31–41.
185. Tinsley, G.M.; Givan, A.H.; Graybeal, A.J.; Villarreal, M.I.; Cross, A.G. β -Hydroxy β -methylbutyrate free acid alters cortisol responses, but not myofibrillar proteolysis, during a 24-h fast. *Br. J. Nutr.* **2018**, *119*, 517–526.
186. Wu, H.; Xia, Y.; Jiang, J.; Du, H.; Guo, X.; Liu, X.; Li, C.; Huang, G.; Niu, K. Effect of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation on muscle loss in older adults: A systematic review and meta-analysis. *Arch. Gerontol. Geriatr.* **2015**, *61*, 168–75.
187. Chilibeck, P.; Kaviani, M.; Candow, D.; Zello, G.A. Effect of creatine supplementation during resistance training on lean tissue mass and muscular strength in older adults: a meta-analysis. *Open Access J. Sport. Med.* **2017**, *8*, 213–226.
188. Stallknecht, B.; Vissing, J.; Galbo, H. Lactate production and clearance in exercise. Effects of training. A mini-review. *Scand. J. Med. Sci. Sports* **1998**, *8*, 127–131.
189. Baar, K. Nutrition and the adaptation to endurance training. *Sport. Med.* **2014**, *44*, 5–12.

190. Soultanakis, H.; Mandaloufas, M.; Platanou, T. Lactate threshold and performance adaptations to 4 weeks of training in untrained swimmers: volume vs. intensity. *J. Strength Cond. Res.* **2012**, *26*, 131–7.
191. Calleja-González, J.; Terrados, N.; Martín-Acero, R.; Lago-Peñas, C.; Jukic, I.; Mielgo-Ayuso, J.; Marqués-Jiménez, D.; Delextrat, A.; Ostojic, S. Happiness vs. Wellness during the recovery process in high performance sport. *Front. Physiol.* **2018**, *9*, 1598.
192. Vervoorn, C.; Quist, A.; Vermulst, L.; Erich, W.; de Vries, W.; Thijssen, J. The behaviour of the plasma free testosterone/cortisol ratio during a season of elite rowing training. *Int. J. Sports Med.* **1991**, *12*, 257–263.
193. Urhausen, A.; Gabriel, H.; Kindermann, W. Blood hormones as markers of training stress and overtraining. *Sport. Med.* **1995**, *20*, 251–276.
194. Banfi, G.; Dolci, A. Free testosterone/cortisol ratio in soccer: usefulness of a categorization of values. *J. Sports Med. Phys. Fitness* **2006**, *46*, 611–616.
195. Calleja-González, J.; Mielgo-Ayuso, J.; Sampaio, J.; Delextrat, A.; Ostojic, S.M.; Marques-Jiménez, D.; Arratibel, I.; Sánchez-Ureña, B.; Dupont, G.; Schelling, X.; et al. Brief ideas about evidence-based recovery in team sports. *J. Exerc. Rehabil.* **2018**, *14*, 545–550.
196. Terrados, N.; Mielgo-Ayuso, J.; Delextrat, A.; Ostojic, S.M.; Calleja-Gonzalez, J. Dietetic-nutritional, physical and physiological recovery methods post-competition in team sports. *J. Sports Med. Phys. Fitness* **2019**, *59*, 415–428.
197. Mcneill, C.; Beaven, C.M.; McMaster, D.T.; Gill, N. Eccentric training interventions and team sport athletes. *J. Funct. Morphol. Kinesiol.* **2019**, *4*, 67.
198. Brownlee, K.K.; Moore, A.W.; Hackney, A.C. Relationship between circulating cortisol and testosterone: influence of physical exercise. *J. Sport. Sci. Med.* **2005**, *4*, 76–83.

8. APÉNDICES



*“Todas las batallas en la vida sirven para enseñarnos algo,
inclusive aquellas que perdemos”*

-Paulo Coelho

APÉNDICE 1

APÉNDICE 1. CUESTIONARIOS

1. Antecedentes personales

¿Es usted alérgico/a a algún medicamento?

No Sí Especificar:

¿Toma algún medicamento, incluyendo suplementos dietético y vitamínico-minerales?

No Sí Especificar:

¿Se ha sometido a alguna intervención quirúrgica (incluyendo cirugía plástica)?

No Sí Especificar:

¿Ha padecido o padece alguna de las siguientes afecciones?

- Hipertensión arterial No Sí
- Dislipemia (hipercolesterolemia, hipertrigliceridemia) No Sí
- Afecciones cardiovasculares (angina de pecho, infarto, arritmia...)
 No Sí
- Estreñimiento habitual No Sí
- Enfermedades hepáticas (hepatitis, litiasis biliar...) No Sí
- Enfermedades del aparato digestivo (gastritis, úlcera, hernia de hiato...)
 No Sí
- Enfermedades broncopulmonares (asma, bronquitis crónica...)
 No Sí
- Diabetes No Sí
- Afecciones osteoarticulares (osteoporosis, artritis, artrosis...)
 Sí No
- Afecciones cutáneas (atopia, eccema, psoriasis...) No Sí
- Cáncer o leucemia No Sí
- Trastornos del sueño (insomnio...) No Sí
- Depresión o ansiedad No Sí
- Otros (especificaar) No Sí

¿Fuma usted? No he fumado nunca Ex fumador/a Fumador

2. Cuestionario de frecuencia alimentaria

I – LÁCTEOS	Para cada alimento, marque el recuadro que indica la frecuencia de consumo por término medio durante los ÚLTIMOS 3 MESES						
	A LA SEMANA			AL DÍA			
	1-2	3-4	5-6	1	2	3-4	5 ó +
1. Leche entera (1 taza, 200 cc)							
2. Leche semidesnatada (1 taza, 200 cc)							
3. Leche descremada (1 taza, 200 cc)							
4. Leche condensada (1 cucharada)							
5. Nata o crema de leche (1/2 taza)							
6. Batidos de leche (1 vaso, 200 cc)							
7. Yogurt entero (1, 125 gr)							
8. Yogurt descremado (1, 125 gr)							
9. Petit suisse (1, 55 g)							
10. Requesón o cuajada (1/2 taza)							
11. Queso en porciones o cremoso (1, porción 25 g)							
12. Otros quesos: curados, semicurados (Manchego, Bola, Emmental...) (50 gr)							
13. Queso blanco o fresco (Burgos, cabra...) (50 gr)							
14. Natillas, flan, puding (1, 130 cc)							
15. Helados (1 cucurucho)							

II- HUEVOS, CARNES, PESCADOS (Un plato o ración de 100-150 g, excepto cuando se indique otra cosa)	A LA SEMANA			AL DÍA			
	1-2	3-4	5-6	1	2	3-4	5 ó +
16. Huevos de gallina (uno)							
17. Pollo o pavo con piel (1 ración o pieza)							
18. Pollo o pavo sin piel (1 ración o pieza)							
19. Carne de ternera o vaca (1 ración)							
20. Carne de cerdo (1 ración)							
21. Carne de cordero (1 ración)							
22. Conejo o liebre (1 ración)							
23. Hígado (ternera, cerdo, pollo) (1 ración)							
24. Otras vísceras (sesos, riñones, mollejas) (1 ración)							
25. Jamón serrano o paletilla (1 loncha, 30 g)							
26. Jamón York, jamón cocido (1 loncha, 30 g)							
27. Carnes procesadas (salchichón, chorizo, morcilla, mortadela, salchichas, butifarra, sobrasada, 50 g)							
28. Patés, foie-gras (25 g)							
29. Hamburguesa (una, 50 g), albóndigas (3 unidades)							
30. Tocino, panceta (50 g)							
31. Pescado blanco: mero, lenguado, besugo, merluza, pescadilla, (1 plato, pieza o ración)							
32. Pescado azul: sardinas, atún, bonito, caballa, salmón, (1 plato, pieza o ración 130 g)							
33. Pescados salados: bacalao, mejillones, (1 ración, 60 g en seco)							
34. Ostras, almejas, mejillones y similares (6 unidades)							
35. Calamares, pulpo, chipirones, jibia (sepia) (1 ración, 200 g)							
36. Crustáceos: gambas, langostinos, cigalas, etc. (4-5 piezas, 200 g)							
37. Pescados y mariscos enlatados al natural (sardinas, anchoas, bonito, atún) (1 lata pequeña o media lata normal, 50 g)							

38. Pescados y mariscos en aceite (sardinas, anchoas, bonito, atún) (1 lata pequeña o media lata normal, 50 g)							
	A LA SEMANA			AL DÍA			
III - VERDURAS Y HORTALIZAS (Un plato o ración de 200 g, excepto cuando se indique)	1-2	3-4	5-6	1	2	3-4	5 ó +
39. Acelgas, espinacas							
40. Col, coliflor, brócoles							
41. Lechuga, endivias, escarola (100 g)							
42. Tomate crudo (1, 150 g)							
43. Zanahoria, calabaza (100 g)							
44. Judías verdes							
45. Berenjenas, calabacines, pepinos							
46. Pimientos (150 g)							
47. Espárragos							
48. Gazpacho andaluz (1 vaso, 200 g)							
49. Otras verduras (alcachofa, puerro, cardo, apio)							
50. Cebolla (media unidad, 50 g)							
51. Ajo (1 diente)							
52. Perejil, tomillo, laurel, orégano, etc. (una pizca)							
53. Patatas fritas comerciales (1 bolsa, 50 g)							
54. Patatas fritas caseras (1 ración, 150 g)							
55. Patatas asadas o cocidas							
56. Setas, niscalos, champiñones							

	A LA SEMANA			AL DÍA			
IV – FRUTAS (una pieza o ración)	1-2	3-4	5-6	1	2	3-4	5 ó +
57. Naranja (una), pomelo (uno), mandarinas (dos)							
58. Plátano (uno)							
59. Manzana o pera (una)							
60. Fresas/fresones (6 unidades, 1 plato postre)							
61. Cerezas, picotas, ciruelas (1 plato de postre)							
62. Melocotón, albaricoque, nectarina (una)							
63. Sandía (1 tajada, 200-250 g)							
64. Melón (1 tajada, 200-250 g)							
65. Kiwi (1 unidad, 100 g)							
66. Uvas (un racimo, 1 plato postre)							
67. Aceitunas (10 unidades)							
68. Frutas en almíbar o en su jugo (2 unidades)							
69. Dátiles, higos secos, uvas-pasas, ciruelas-pasas (150 g)							
70. Almendras, cacahuetes, avellanas, pistachos, piñones (30 g)							
71. Nueces (30 g)							

	A LA SEMANA			AL DÍA			
V- LEGUMBRES Y CEREALES (1 Plato o ración 150 g)	1-2	3-4	5-6	1	2	3-4	5 ó +
73. Lentejas (1 plato, 150 g cocidas)							
74. Alubias (pintas, blancas o negras) (1 plato, 150 g cocidas)							
75. Garbanzos (1 plato, 150 g cocidos)							
76. Guisantes, habas (1 plato, 150 g cocidos)							
77. Pan blanco, pan de molde (3 rodajas, 75 g)							
78. Pan negro o integral (3 rodajas, 75 g)							
79. Cereales desayuno (30 g)							
80. Cereales integrales: muesli, copos avena, all-bran (30 g)							
81. Arroz blanco (60 g en crudo)							
82. Pasta: fideos, macarrones, espaguetis, otras (60 g en crudo)							
83. Pizza (1 ración, 200 g)							
	A LA SEMANA			AL DÍA			

VI- ACEITES Y GRASAS Una cucharada sopera o porción individual Para freír, untar, mojar en el pan, para aliñar o para ensaladas, utilizas en total:	A LA SEMANA			AL DÍA			
	1-2	3-4	5-6	1	2	3-4	5 ó +
84. Aceite de oliva (una cucharada sopera)							
87. Aceite de maíz (una cucharada sopera)							
88. Aceite de girasol (una cucharada sopera)							
89. Aceite de soja (una cucharada sopera)							
91. Margarina (porción individual, 12 g)							
92. Mantequilla (porción individual, 12 g)							
93. Manteca de cerdo (10 g)							

VII- BOLLERÍA Y PASTELERÍA	A LA SEMANA			AL DÍA			
	1-2	3-4	5-6	1	2	3-4	5 ó +
94. Galletas tipo María (4-6 unidades, 50 g)							
95. Galletas integrales o de fibra (4-6 unidades, 50 g)							
96. Galletas con chocolate (4 unidades, 50 g)							
97. Repostería y bizcochos hechos en casa (50 g)							
98. Croissant, ensaimada, pastas de té u otra bollería industrial comercial... (uno, 50 g)							
99. Donuts (uno)							
100. Magdalenas (1-2 unidades)							
101. Pasteles (uno, 50 g)							
102. Churros, porras y similares (1 ración, 100 g)							
103. Chocolates y bombones (30 g)							
104. Cacao en polvo-cacaos solubles (1 cucharada de postre)							
105. Turrón (1/8 barra, 40 g)							
106. Mantecados, mazapán (90 g)							

VIII- MISCELÁNEA	A LA SEMANA			AL DÍA			
	1-2	3-4	5-6	1	2	3-4	5 ó +
107. Croquetas, buñuelos, empanadillas, precocinados (una)							
108. Sopas y cremas de sobre (1 plato)							
109. Mostaza (una cucharadita de postre)							
110. Mayonesa comercial (1 cucharada sopera = 20 g)							
111. Salsa de tomate frito, ketchup (1 cucharadita)							
112. Picante: tabasco, pimienta, pimentón (una pizca)							
113. Sal (una pizca)							
114. Mermeladas (1 cucharadita)							
115. Azúcar (1 cucharadita)							
116. Miel (1 cucharadita)							
117. Snacks distintos de patatas fritas: gusanitos, palomitas, maíz, etc. (1 bolsa, 50 g)							
118. Otros alimentos de frecuente consumo (especificar):							

IX- BEBIDAS	A LA SEMANA			AL DÍA			
	1-2	3-4	5-6	1	2	3-4	5 ó +
119. Bebidas carbonatadas con azúcar (1 botellín, 200 cc)							
120. Bebidas carbonatadas bajas en calorías, bebidas light (1 botellín, 200 cc)							
121. Zumo de naranja natural (1 vaso, 200 cc)							
122. Zumos naturales de otras frutas (1 vaso, 200 cc)							
123. Zumos de frutas en botella o enlatados (200 cc)							
124. Café descafeinado (1 taza, 50 cc)							
125. Café (1 taza, 50 cc)							
126. Té (1 taza, 50 cc)							
127. Mosto (100 cc)							
128. Vaso de vino rosado (100 cc)							
130. Vaso de vino tinto (100 cc)							
132. Vaso de vino blanco (100 cc)							
134. Cerveza (1 jarra, 330 cc)							
135. Licores, anís o anisetes ... (1 copa, 50 cc)							
136. Destilados: whisky, vodka, ginebra, coñac (1 copa, 50 cc)							

Si durante la última semana tomaste vitaminas y/o minerales (incluyendo calcio) o productos dietéticos especiales (salvado, aceite de onagra, leche con ácidos grasos omega-3, flavonoides, etc.), proteínas, por favor indica la marca y la frecuencia con que los tomaste:

Marcas de los suplementos de vitaminas o minerales o de los productos dietéticos	A LA SEMANA				AL DÍA		
	1-3	1-2	3-4	5-6	1	2	3-4
139.							
140.							

3. Registro de 7 días de comidas

Instrucciones de relleno:

En el presente cuestionario se deben anotar todos los alimentos, bebidas, suplementos dietéticos y preparados consumidos durante el plazo de **siete días consecutivos**. Para cada día dispones de una hoja. En caso de faltar espacio puedes seguir por detrás de la hoja.

Es muy importante no cambiar el régimen habitual de comidas.

Para evitar que se olvide algún alimento, conviene **anotar todo inmediatamente después de comer**. No olvide indicar todos los ingredientes de cada receta.

Se deben registrar todos los alimentos, bebidas y preparados, sin olvidar aquellos que hayan sido tomados entre horas: cafés, cervezas, aperitivos, comprimidos, soluciones, golosinas, etc. No olvide los vasos de agua o de otras bebidas tomados en la comida o entre comidas.

Detalle todos los ingredientes de cada una de las comidas del día, aportando el máximo número de datos que sea posible. Lo ideal es poder pesar todo lo que coma, pero si esto es imposible, especifique la cantidad en medidas caseras: vasos, tazas, cucharadas... por ejemplo:

- Indique, en caso de tenerla, la marca comercial.
- Especifique si el alimento es **normal, bajo en calorías o enriquecido**. Por ejemplo, si la leche es entera, desnatada o semidesnatada o el yogurt entero, desnatado o enriquecido.
- **Tipo de queso**: en porciones, manchego, roquefort...
- **Mantequilla o margarina**.
- **Bebidas**: las cantidades se pueden expresar en vasos, tazas, copas... de no disponer de medidas de volumen.
- **Sopas, caldos o purés**: emplee tazas o platos (grande, mediado o pequeño).
- **Carnes, pescados, verduras, hortalizas y frutas**: estime la cantidad consumida teniendo en cuenta la cantidad comprada y el número de piezas o porciones que entraron en la compra. De no tener estos datos indique número y tamaño de las porciones consumidas.
- **Legumbres**: considere el tamaño del envase del que se partía y divídalo entre el número de raciones resultantes en el caso de que fueran todas iguales. O bien señale el tamaño aproximado de la ración indicando número de cucharadas servidas, cazos, tamaño del plato...
- **Indicar el tipo de aceite** (oliva, girasol...): indique el número y tipo de cucharadas (soperas, postre o café) añadidas a los guisos.
- **Salsas o azúcar**: apunte el número de cucharadas, su tamaño y si son rasas o colmadas. Especifique si se tomaron o se dejaron en el plato.
- **Pan**: Indique tipo (blanco, integral, molde), número de rebanadas o trozos y tamaño aproximado de las porciones.
- **Embutidos**: anote el número de lonchas y su grosor.
- En el caso de preparados, suplementos o dietéticos indique el número de comprimidos, sobres, cucharadas y la marca.

Cualquier duda o aclaración que quiera hacer constar al ir rellenando el cuestionario, puede anotarla en la parte posterior de las hojas del mismo.

DIA	Hora y lugar	Descripción de alimentos o preparaciones	Cantidad	Unidad de medida	Peso en gramos de la unidad de medida*
DESAYUNO					
ALMUERZO					
COMIDA					
MERIENDA					
CENA					
ENTRE HORAS					

Cantidad: Pesar o emplear medidas comunes (taza, rebanada, plato hondo...).

Descripción del alimento: pan normal o integral, verdura fresca, congelada o enlatada, carne magra o grasa, tipo de queso, fruta con o sin piel.

APÉNDICE 2

APÉNDICE 2. INFORME FAVORABLE DEL COMITÉ DE ÉTICA

APÉNDICE 3

APÉNDICE 3. CONSENTIMIENTO INFORMADO

TITULO DEL PROYECTO: EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN HMB Y/O CREATINA EN EL RENDIMIENTO DEL REMO TRADICIONAL O DE TRAINERA

ACRONIMOS: EFECT SUPL HMB Y/O CREAT RENDIM REMO TRAD O TRAIN

Yo, D....., mayor de edad,
y con D.N.I.....,

DECLARO:

Que he entendido la información que se me ha facilitado acerca del trabajo de investigación en el que voy a tomar parte voluntariamente. Este es un estudio que analiza la suplementación con β -hidroxi β -metilbutirato (HMB) y/o creatina durante 10 semanas y su repercusión en los cambios hematológicos, bioquímicos, antropométricos y de rendimiento. Las mediciones se realizarán tanto antes de empezar el estudio como al acabar las 10 semanas de suplementación, por lo que serán 2 mediciones. Estas se realizarán de 8 de la mañana a 1 de la tarde. Las intervenciones que se me van a realizar son:

1. Cuestionario con preguntas sobre hábitos, enfermedades, operaciones, lesiones, historial deportivo, entrenamiento habitual y esfuerzo realizado en la prueba.
2. Antropometría: talla, peso y medidas de los pliegues de grasa, diámetros y perímetros corporales previa competición, durante competición y post-competición.
3. Encuesta nutricional: auto-registro de ingesta de siete días (previo, durante y post competición) y anotación de suplementos dietéticos (caso de tomarlos).
4. Cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos (previo, durante y post competición).
5. Extracción de sangre de la vena antecubital tras estar 30 minutos sentados. Se efectuarán a las 8:30 de la mañana, no habiendo entrenado durante las últimas 36 horas y estando al menos 12 horas de ayuno. Las extracciones se realizarán en la sede del Club Deportivo de Remo Kaiarriba Arraun Elkarte por un médico especialista en medicina del deporte.
6. Extracción de lactato sanguíneo del lóbulo de la oreja en 6 ocasiones en cada uno de los 2 momentos de las mediciones en la sede del Club Deportivo de Remo Kaiarriba Arraun Elkarte por un doctor cualificado.
7. Realización de test incremental en ergómetro de remo para conocer el umbral anaeróbico.

He tenido la oportunidad de comentar y preguntar los detalles de dicha información.

Entiendo que puedo abandonar el estudio en cualquier momento que yo crea oportuno.

La persona investigadora me ha advertido de las posibles molestias, riesgos y consecuencias derivadas de la inclusión en este trabajo.

El instituto australiano del deporte incorpora estos suplementos deportivos en el grupo A (creatina) y grupo B (HMB) de eficacia, además de que son de las ayudas más estudiadas por separado y que incluso hay estudios que utilizan ambos suplementos juntos sin que se

haya mostrado ningún problema para la salud del deportista.

Los datos personales que nos ha facilitado para este proyecto de investigación serán tratados con absoluta confidencialidad de acuerdo con la Ley de Protección de Datos. Se incluirán en el fichero de la UPV/EHU de referencia “INA-REMO TRAINERA” y sólo se utilizarán para los fines del proyecto. Es posible ceder datos del proyecto a grupos colaboradores, pero en ningún caso figurarán datos que lo pudieran identificar.

Dado que entiendo todo lo anterior, **CONSIENTO** que se me incluya en el citado estudio de investigación.

Firma del participante en el estudio, firma del/a investigador/a

En San Sebastián a..... de..... de

En caso de necesitar más información o tener alguna duda póngase en contacto con

D. Julen Fernández de Landa Aguirre, 617173687
julen_fernandezdelanda001@ikasle.ehu.eus

INFORMACIÓN COMPLETA SOBRE TRATAMIENTO DE DATOS DE CARÁCTER PERSONAL

De acuerdo con lo dispuesto en el artículo 13 del Reglamento UE 2016/679, del Parlamento Europeo y del Consejo, de 27 de abril, relativo a la protección de las personas físicas en lo que respecta al tratamiento de datos personales y a la libre circulación de estos datos, le informamos que sus datos pasan a formar parte de un fichero responsabilidad de la UPV/EHU, así como de los siguientes extremos:

Código del tratamiento	TI0022
Nombre del Tratamiento	REMO TRAINERA
Responsable del tratamiento de datos	Identidad: Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitatea. CIF: Q4818001B. Dirección Postal: Barrio de Sarriena S/N 48940 Leioa (Bizkaia). Página web: www.ehu.eus Datos de Contacto del Delegado de Protección de Datos: dpd@ehu.eus
Finalidad del tratamiento de datos	ESTUDIO DE SUPLEMENTACIÓN CON DIFERENTES SUPLEMENTOS EN LA RESPUESTA FISIOLÓGICA Y DE RENDIMIENTO EN REMEROS DE TRAINERA DE ÉLITE
Periodo de conservación de los datos	Los datos se conservarán mientras no se solicite su supresión por la persona interesada y, en cualquier caso, siempre que estén abiertos los plazos de recurso y/o reclamación procedente o mientras sigan respondiendo a la finalidad para la que fueron obtenidos.
Legitimación del tratamiento de datos	- Consentimiento de las personas interesadas
Destinatarios de cesiones y transferencias internacionales de datos	No se cederán datos salvo previsión legal No se efectuarán transferencias internacionales
Datos de carácter personal del tratamiento	Datos especialmente protegidos - SALUD Datos de carácter identificativo: DNI / NIF, NOMBRE Y APELLIDOS, DIRECCIÓN (POSTAL, ELECTRÓNICA), TELÉFONO, FIRMA/HUELLA DIGITALIZADA Datos de características personales: DATOS DE ESTADO CIVIL, DATOS DE FAMILIA, FECHA DE NACIMIENTO, LUGAR DE NACIMIENTO, EDAD, SEXO




<p>Derechos</p>	<p>¿Cuáles son sus derechos cuando nos facilita sus datos? Cualquier persona tiene derecho a obtener confirmación sobre si en la UPV/EHU estamos tratando datos personales que les conciernan, o no. Las personas interesadas tienen derecho a acceder a sus datos personales, así como a solicitar la rectificación de los datos inexactos o, en su caso, solicitar su supresión cuando, entre otros motivos, los datos ya no sean necesarios para los fines que fueron recogidos. En determinadas circunstancias, las personas interesadas podrán solicitar la limitación del tratamiento de sus datos, en cuyo caso únicamente los conservaremos para el ejercicio o la defensa de reclamaciones. Especialmente, en determinadas circunstancias y por motivos relacionados con su situación particular, los interesados podrán oponerse al tratamiento de sus datos. La UPV/EHU dejará de tratar los datos, salvo por motivos legítimos imperiosos, o para el ejercicio o la defensa de posibles reclamaciones. Para el ejercicio de los derechos que le asisten dispone de formularios en el sitio web: www.ehu.eus/babestu Asimismo, dispone de información de la Agencia Vasca de Protección de Datos en el sitio web: http://www.avpd.euskadi.eus/s04-5213/eu http://www.avpd.euskadi.eus/s04-5213/es</p>
<p>Información adicional</p>	<p>Disponible en http://www.ehu.eus/babestu</p>

APÉNDICE 4

APÉNDICE 4. ARTÍCULO 1

Review

Effect of the Combination of Creatine Monohydrate Plus HMB Supplementation on Sports Performance, Body Composition, Markers of Muscle Damage and Hormone Status: A Systematic Review

Julen Fernández-Landa ¹, Julio Calleja-González ¹, Patxi León-Guereño ²,
Alberto Caballero-García ³, Alfredo Córdova ⁴ and Juan Mielgo-Ayuso ^{4,*}

¹ Laboratory of Human Performance, Department of Physical Education and Sport, Faculty of Education, Sport Section, University of the Basque Country, 01007 Vitoria, Spain; julenfdl@hotmail.com (J.F.-L.); julio.calleja.gonzalez@gmail.com (J.C.-G.)

² Faculty of Psychology and Education, University of Deusto, Campus of Donostia-San Sebastián, 20012 San Sebastián, Spain; patxi.leon@deusto.es

³ Department of Anatomy and Radiology, Faculty of Health Sciences, University of Valladolid. Campus de Soria, 42003 Soria, Spain; albcab@ah.uva.es

⁴ Department of Biochemistry, Molecular Biology and Physiology, Faculty of Health Sciences, University of Valladolid, 42003 Soria, Spain; a.cordova@bio.uva.es

* Correspondence: juanfrancisco.mielgo@uva.es; Tel.: +34-975-129-187

Received: 13 September 2019; Accepted: 18 October 2019; Published: 20 October 2019



Abstract: Although there are many studies showing the isolated effect of creatine monohydrate (CrM) and β -hydroxy β -methylbutyrate (HMB), it is not clear what effect they have when they are combined. The main purpose of this systematic review was to determine the efficacy of mixing CrM plus HMB in comparison with their isolated effects on sports performance, body composition, exercise induced markers of muscle damage, and anabolic-catabolic hormones. This systematic review was carried out in accordance with PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) statement guidelines and the PICOS model, for the definition of the inclusion criteria. Studies were found by searching PubMed/MEDLINE, Web of Science (WOS), and Scopus electronic databases from inception to July 3rd 2019. Methodological quality and risk of bias were assessed by two authors independently, and disagreements were resolved by third-party evaluation, in accordance with the Cochrane Collaboration Guidelines samples. The literature was examined regarding the effects of the combination of CrM plus HMB on sport performance using several outcome variables (athletic performance, body composition, markers of muscle damage, and hormone status). This systematic review included six articles that investigated the effects of CrM plus HMB on sport performance (two on strength performance, showing improvements in one of them; three on anaerobic performance, presenting enhancements in two of them; and one on aerobic performance, not presenting improvements), body composition (three on body mass, showing improvements in one of them; two on fat free mass, presenting increases in one of them; and two on fat mass, showing decreases in one of them) and markers of muscle damage and hormone status (four on markers of muscle damage and one on anabolic-catabolic hormones, not showing benefits in any of them). In summary, the combination of 3–10 g/day of CrM plus 3 g/day of HMB for 1–6 weeks could produce potential positive effects on sport performance (strength and anaerobic performance) and for 4 weeks on body composition (increasing fat free mass and decreasing fat mass). However, this combination seems to not show positive effects relating to markers of exercise-induced muscle damage and anabolic-catabolic hormones.

Keywords: sport nutrition; anaerobic; aerobic; body composition; muscle recovery

1. Introduction

Supplements and sport foods may help to prevent or treat nutrition deficiencies, and occasionally have a direct ergogenic effect [1]. However, there are few supplements supported by strong evidence that produce a significant effect on sports performance [1]. In this sense, while there are several supplements that have strong scientific evidence for use in sports-specific situations using evidence-based protocols, such as creatine monohydrate (CrM), others—although deserving of further research—require more scientific support; for example, β -hydroxy β -methylbutyrate (HMB) [2].

CrM is one of the most popular performance supplements used by athletes that may promote aerobic [3,4] and anaerobic performance [5], strength [6–9], body composition [6,8,10], reduced markers of exercise induced muscle damage, and anabolic-catabolic hormones [11,12]. The main action of CrM is to increase the muscle creatine (CR) stores to replace adenosine triphosphate (ATP) degradation during exercise [13]. Moreover, it increases the muscle glycogen pool by stimulating muscle glycogen synthesis based on the augmentation of muscle cells and muscle CR content [14,15]. Additionally, this effect could increase creatine-phosphocreatine (Cr-PCr) shuttling, improving aerobic capacity [16]. Furthermore, CR supplementation increases lean tissue mass and upper and lower body muscular strength [17].

HMB could also enhance sports performance in terms of aerobic power and capacity [18–20], anaerobic capacity [18,20], strength [21–24], body composition [18,25], markers of muscle damage [26], and hormone status [25]. The main role of HMB is to stimulate muscle protein synthesis by an up-regulation of Mammalian Target of Rapamycin kinase (mTOR) [27]. Additionally, HMB could augment muscle glycogen storage [28,29] and can increase gene expression of peroxisome proliferator-activated receptor gamma co-activator 1-alpha α (PGC-1 α), enhancing mitochondrial biogenesis, and hence oxidative function, to enhance aerobic capacity [30]. Moreover, this benefit in sports performance could be motivated by an augmented lean body mass (LBM) and/or fat free mass (FFM) [20,22,31], and reduced fat mass (FM) [18,20,31].

Given that these two supplements have different physiological pathways to improve performance [13–15,28,29,32–34], it could be assumed that the combination of both complements would improve sports performance compared to taking them alone. Therefore, some authors have considered the utilization of both supplements together (CrM plus HMB) with the aim of producing an additive or synergistic effect. To the best of the authors' knowledge, the results of the studies investigating combined supplementation are not clear. Some studies show possible improvements in performance [35–37], body composition (increases FFM and decreases FM) [36,37], markers of muscle damage [36], and hormones status [38], but others found no changes in these outcomes [38–40]. Therefore, the main purpose of this systematic review was to determine the efficacy of mixing CrM plus HMB in improving sports performance, body composition (increases FFM, LBM, and decreases FM), markers of exercise induced muscle damage, and anabolic-catabolic hormones in comparison with their isolated effects.

2. Methods

2.1. Literature Search Strategies

This systematic review was carried out in accordance with PRISMA[®] (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses) statement guidelines and the PICOS model for the definition of the inclusion criteria: P (Population): “athletes”, I (Intervention): “impact of the combination of HMB and CrM in sport”, C (Comparators): “same conditions with control, placebo, only HMB or only CrM”, O (Outcome): “sport performance, body composition, markers of muscle damage and hormone

status", and S (study design): "clinical trial" [41]. A systematic search of the current scientific literature was undertaken for studies that investigated the mixed supplementation of CrM plus HMB in sports performance and recovery. Studies were found by searching PubMed/MEDLINE, Web of Science (WOS), and Scopus from inception to July 3rd 2019, using the following Boolean search equation: ("creatine monohydrate supplementation"[All Fields] OR "creatine supplementation"[All Fields]) AND ("HMB supplementation"[All Fields] OR "beta hydroxy beta methylbutyrate supplementation"[All Fields] OR (beta-Hydroxy[All Fields] AND methylbutyrate[All Fields] AND supplementation[All Fields])) AND ("muscle damage" [All Fields] OR "hormone status"[All Fields] OR ("athletes"[MeSH Terms] OR "athletes"[All Fields]) OR ("exercise"[MeSH Terms] OR "exercise"[All Fields]) OR "sport performance"[All Fields] OR "body composition"[All Fields]). Through this equation, relevant articles in this field were obtained by applying the snowball strategy. All titles and abstracts from the search were cross-referenced to identify duplicates and any potential missing studies. The titles and abstracts were screened for a subsequent full-text review. The search for published studies was independently performed by two authors (J.F.L. and J.M.A.), and disagreements about all outcomes were resolved through discussion.

2.2. Inclusion and Exclusion Criteria

For the articles obtained in this search, the following inclusion criteria were applied to select studies: (1) a well-designed experiment that included ingestion of the combination of CrM plus HMB; (2) with an identical experimental situation related to the ingestion of a placebo, CrM only, and/or HMB only; (3) testing the effects of mixed supplementation on sports performance, body composition, markers of muscle damage, and/or hormone status; (4) clinical trial; (5) with clear information regarding the administration of ergogenic aids (dosage and timing); and (6) published in any language. The following exclusion criteria were applied to the experimental protocols of the investigation: (1) supplementation was mixed with other supplements or was a multi-ingredient compound; (2) carried out in participants with a previous condition, injury, or health problems. There were no filters applied to the athletes' level, gender, ethnicity, or age to increase the analytic power of the analysis.

Once the inclusion/exclusion criteria were applied to each study, data on study source (including authors and year of publication), study design, supplement administration (dose and timing), sample size, characteristics of the participants (level, race and gender), and final outcomes of the interventions were extracted independently by two authors (J.F.L. and J.M.A.) using a spreadsheet (Microsoft Inc, Seattle, WA, USA). Subsequently, disagreements were resolved through discussion until a consensus was reached, or by third-party adjudication (J.C.G.).

2.3. Study Selection

One reviewer (J.F.L.) searched the databases and selected the studies. A second reviewer (J.M.A.) was available to help with study eligibility. No disagreements about the appropriateness of an article were encountered.

2.4. Outcome Measures

The literature was examined regarding the effects of the combination of CrM plus HMB in sports performance using several outcome variables, such as athletic performance [35–37,39,40], body composition [36,37,40], markers of muscle damage [35–39], and hormone status [38].

2.5. Quality Assessment of the Experiments

Methodological quality and risk of bias were assessed by two authors independently (J.F.L. and J.M.A.), and disagreements were resolved by third-party evaluation (J.C.G.), in accordance with the Cochrane Collaboration Guidelines [42]. The items on the list were divided into six domains: selection bias (random sequence generation, allocation concealment); performance bias (blinding of participants and researchers); detection bias (blinding of outcome assessment); attrition bias (incomplete outcome

data); reporting bias (selective reporting); and other types of bias. For each research paper, domains were judged by consensus (J.F.L., J.M.A.), or third-party adjudication (J.C.G.). They were characterized as ‘low’ if criteria for a low risk of bias were met (plausible bias unlikely to seriously alter the results) or ‘high’ if criteria for a high risk of bias were met (plausible bias that seriously weakens confidence in the results), or it was considered ‘unclear’ (plausible bias that raises some doubt about the results), if the risk of bias was unknown. Full details are given in Figures 1 and 2.

	Random sequence generation (selection bias)	Allocation concealment (selection bias)	Blinding of participants and personnel (performance bias)	Blinding of outcome assessment (detection bias)	Incomplete outcome data (attrition bias)	Selective reporting (reporting bias)	Other bias
Crowe et al., 2003 [38]	●	?	●	●	+	+	●
Faramarzi et al., 2009 [35]	+	?	+	?	+	+	●
Jowko et al., 2001 [36]	+	?	+	+	+	+	+
O,Connor et al., 2003 [39]	●	?	●	●	+	+	●
O,Connor et al., 2007 [40]	●	?	●	●	+	+	●
Zajac et al., 2003 [37]	+	?	?	?	+	+	●

Figure 1. Risk of bias graph: review authors’ judgments about each risk of bias item presented as percentages across all studies. ● Indicates low risk of bias; ? indicates unknown risk of bias; ● indicates high risk of bias.

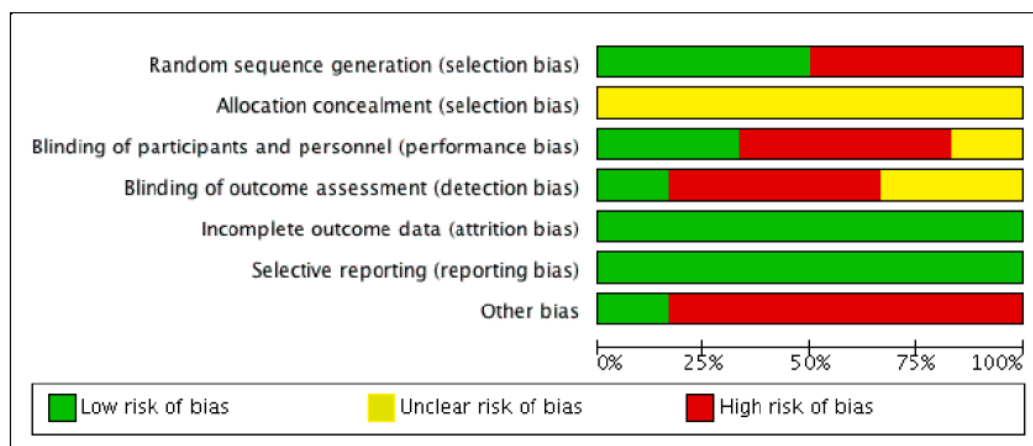


Figure 2. Risk of bias summary: review authors’ judgments about each risk of bias item for all studies.

3. Results

3.1. Main Search

A search of electronic databases revealed seventeen relevant studies, with an additional three studies found by searches in reference lists (Figure 3). After removing duplicate studies ($n = 14$) and

screening titles and abstracts ($n = 6$), eight studies were retained [35–40,43,44]. Following full-text screening, only two studies were excluded [43,44] (one was combined with a non-usual training [43] and the other one was performed with only one of the supplements [44]). Thereby, six studies were included for this systematic review [35–40].

The design of the six studies included one randomized, double-blind, placebo-controlled study [36], two randomized, placebo-controlled studies [35,37], and three controlled studies [38–40]. Five out of six studies were conducted in intermittent team sports: three in rugby [38–40], one in basketball [37], and one in soccer [35]. The last study was carried out on healthy males [36]. The sum of all study participants included in this review were 201 males, with 161 being participants in high-level sports leagues (five studies) [35,37–40] and the remaining 40 being moderately trained participants [36].

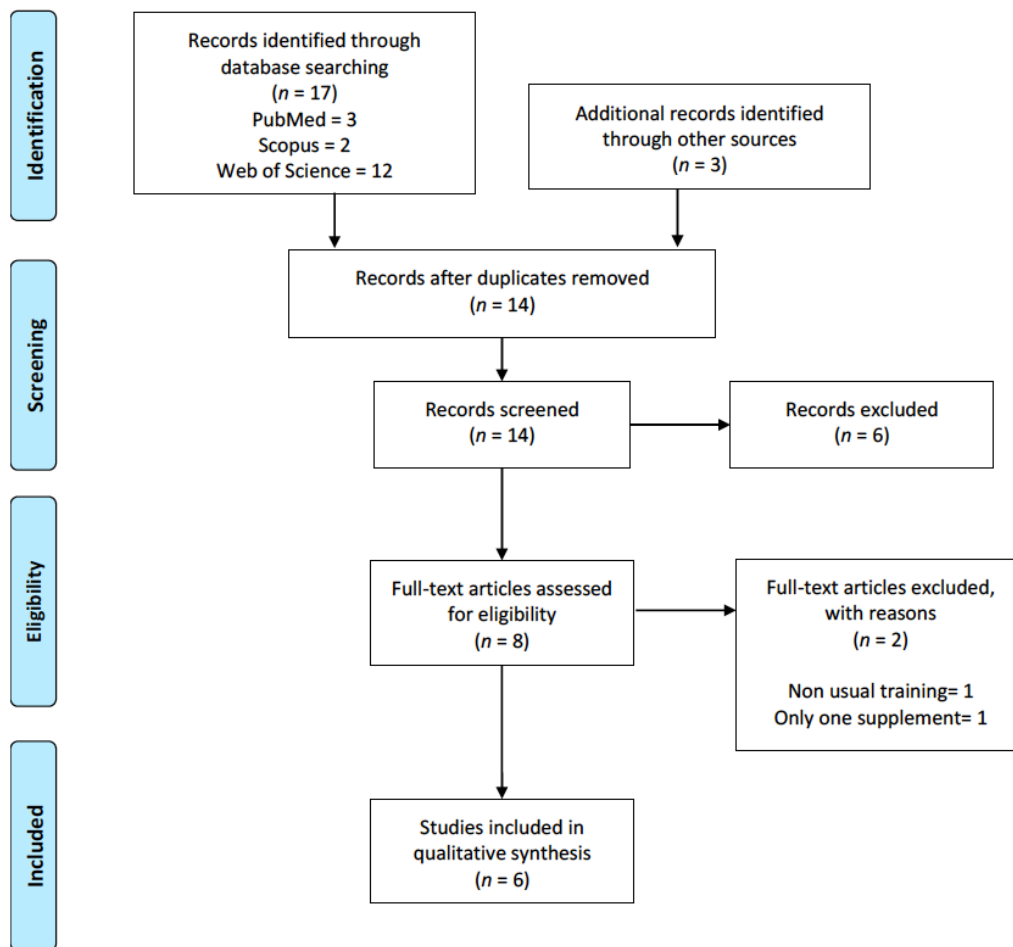


Figure 3. Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and Meta-Analyses (PRISMA) flow diagram.

Some studies divided the participants into four different supplementation groups: placebo group (PLAG) or control group (CON), creatine group (CrMG), HMB group (HMBG), and CrM plus HMB group (CrM/HMBG) [36,37]. Other studies assigned participants to three groups: PLAG or CON, HMBG, and CrM/HMBG [35,38–40].

3.2. CrM and HMB Supplementation

The duration of the interventions in the studies was between six days and six weeks (42 days). In four of the studies included in this systematic review the supplementation protocol consisted of 3 g/day of CrM and 3 g/day of HMB [35,38–40]. The exceptions were the studies by Jowko et al. [36] and Zajac et al. [37], in which the CrM supplementation consisted of 20 g/day for the first 7 days followed by 10 g/day the next 14 days, and 15 g/day the first 5 days followed by 5 g/day the next 25 days, respectively. Moreover, the training program frequency performed by the athletes was 3 or 4 days per week [36–40] or 6 days per week [35] in a resistance training program.

3.3. Sports Performance Outcomes

Table 1 presents the different tests carried out to determine the performance measured outcomes by running an anaerobic speed test (RAST) [35], one repetition maximum (1-RM) test of different strength exercises [36], multistage aerobic capacity test, cycling maximally for 60 seconds [39], muscular strength, muscular endurance, leg power tests [40], and a triple Wingate test [37].

The combination of CrM plus HMB showed improvements in strength performance in one study [36], but the other study that measured this parameter did not find performance changes among groups [40]. On the other hand, anaerobic capacity was enhanced in two investigations [36,37] when the athletes ingested CrM plus HMB, although the study by O'Connor et al. [39] did not find any improvement. The last performance variable was aerobic capacity, measured by a multistage aerobic capacity test, and it was unchanged in all groups [39].

3.4. Body Composition Outcomes

Table 2 shows the body composition measures. Zajac et al. [37] found reductions in FM (regarding CON/PLG and CrMG) in basketball players when they were supplemented with CrM plus HMB, although Jowko et al. [36] did not. On the other hand, Zajac et al. found an increase in BM and FFM (regarding CON/PLG and HMBG), contrasting to studies by Jowko et al. [36] and O'Connor et al. [40], who did not find changes in this parameter among groups when CrM plus HMB was ingested.

3.5. Markers of Muscle Damage and Hormone Status Outcomes

Table 3 displays muscular blood isoenzymes, such as creatine kinase (CK) [35,36,38], lactate dehydrogenase (LDH) [35], and blood lactate concentration (LA) [37,39], which were unchanged after supplementation with CrM plus HMB. Moreover, anabolic/catabolic blood hormones (testosterone and cortisol) did not show changes when the athletes were supplemented with CrM plus HMB [36].

Table 1. Summary of studies included in the systematic review that investigated the effect of CrM plus HMB on athletic performance abilities.

Author/s	Population	Intervention	Outcomes	Effects		
				CrM+HMB Vs CON/PLG	CrM+HMB Vs CrMG	CrM+HMB Vs HMBG
Faramarzi et al., (2009) [35]	24 soccer players (21.6 ± 0.1 years)	Randomized, placebo-controlled CrM: 3 g/day HMB: 3 g/day Duration: 6 days	<ul style="list-style-type: none"> Peak Power (RAST) Mean Power (RAST) Fatigue Index (RAST) 	<ul style="list-style-type: none"> ↑ Peak Power ↑ Mean Power ☐ Fatigue Index 	No data shown	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ Peak Power • ☐ Mean Power • ☐ Fatigue Index
Jówo et al., (2001) [36]	40 healthy males (21.0 ± 2.1 years)	Randomized, double-blind, placebo-controlled CrM: 20 g/day (first 1 week) + 10 g/day (2 weeks) HMB: 3 g/day Duration: 3 weeks	<ul style="list-style-type: none"> Accumulative strength tests (1-RM) 	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ Accumulative strength tests (1-RM) 	<ul style="list-style-type: none"> • ☐ Accumulative strength tests (1-RM) 	<ul style="list-style-type: none"> • ☐ Accumulative strength tests (1-RM)
O'Connor & Crowe (2003) [39]	27 male elite rugby players (18–32 years)	Controlled CrM: 3 g/day HMB: 3 g/day Duration: 6 weeks	<ul style="list-style-type: none"> Aerobic performance (multistage aerobic capacity test) Anaerobic performance (60 second maximal anaerobic capacity test) 	<ul style="list-style-type: none"> • ☐ Aerobic capacity • ☐ Anaerobic capacity 	No data shown	<ul style="list-style-type: none"> • ☐ Aerobic capacity • ☐ Anaerobic capacity
O'Connor & Crowe (2007) [40]	30 male elite rugby players (24.9 ± 1.5 years)	Controlled CrM: 3 g/day HMB: 3 g/day Duration: 6 weeks	<ul style="list-style-type: none"> Muscular strength (3RM test) Muscular endurance (maximum number of chin-ups to exhaustion) Peak power (Ten-second Leg Power Test) Total work (Ten-second Leg Power Test) 	<ul style="list-style-type: none"> • ☐ Bench press • ☐ Deadlift • ☐ Prone row • ☐ Muscular endurance • ☐ Peak power • ☐ Total work 	No data shown	<ul style="list-style-type: none"> • ☐ Bench press • ☐ Deadlift • ☐ Prone row • ☐ Muscular endurance • ☐ Peak power • ☐ Total work
Zajac et al., (2003) [37]	52 well trained basketball players (25.6 ± 5.6 years)	Randomized, placebo-controlled CrM: 15 g/day (first 5 days) + 5 g/day (rest of the days) HMB: 3 g/day Duration: 30 days	<ul style="list-style-type: none"> Relative maximal anaerobic power (triple Wingate test) Relative total work (triple Wingate test) 	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ Relative maximal • ↑ Relative total work 	<ul style="list-style-type: none"> • ☐ Relative maximal • ☐ Relative total work 	<ul style="list-style-type: none"> • ↑ Relative maximal • ↑ Relative total work

CrM: Creatine monohydrate supplementation, HMB: HMB supplementation, CON/PLG: Placebo or control group, HMBG: HMB supplementation group, CrMG: Creatine monohydrate supplementation group, RAST: Running Anaerobic Speed Test; ↑: Increase, ↓: Decrease, ☐: No effect.

Table 2. Summary of studies included in the systematic review that investigated the effect of CrM plus HMB on body composition.

Author/s	Population	Intervention	Outcomes	Effects		
				CrM+HMB Vs CON/PLG	CrM+HMB Vs CrMG	CrM+HMB Vs HMBG
Jóvko et al., (2001) [36]	40 healthy males (21.0 ± 2.1 years)	Randomized, double-blind, placebo-controlled CrM: 20 g/day (first 1 week) + 10 g/day (2 weeks) HMB: 3 g/day Duration: 3 weeks	<ul style="list-style-type: none"> • BM • BF • LBM 	<ul style="list-style-type: none"> • <input type="checkbox"/>BM • <input type="checkbox"/>FM • <input type="checkbox"/>LBM 	<ul style="list-style-type: none"> • <input type="checkbox"/>BM • <input type="checkbox"/>FM • <input type="checkbox"/>LBM 	<ul style="list-style-type: none"> • <input type="checkbox"/>BM • <input type="checkbox"/>FM • <input type="checkbox"/>LBM
			<ul style="list-style-type: none"> • BM • Sum of six skinfolds • Arm girth (relaxed) • Arm girth (fixed) • Chest girth • Waist girth • Hip girth • Thigh girth • Femur diameter • Humerus diameter 	<ul style="list-style-type: none"> • <input type="checkbox"/>BM • <input type="checkbox"/>Sum of six skinfolds • <input type="checkbox"/>Arm girth (relaxed) • <input type="checkbox"/>Arm girth (fixed) • <input type="checkbox"/>Chest girth • <input type="checkbox"/>Waist girth • <input type="checkbox"/>Hip girth • <input type="checkbox"/>Thigh girth • <input type="checkbox"/>Femur diameter • <input type="checkbox"/>Humerus diameter 	<ul style="list-style-type: none"> • <input type="checkbox"/>BM • <input type="checkbox"/>Sum of six skinfolds • <input type="checkbox"/>Arm girth (relaxed) • <input type="checkbox"/>Arm girth (fixed) • <input type="checkbox"/>Chest girth • <input type="checkbox"/>Waist girth • <input type="checkbox"/>Hip girth • <input type="checkbox"/>Thigh girth • <input type="checkbox"/>Femur diameter • <input type="checkbox"/>Humerus diameter 	<ul style="list-style-type: none"> • <input type="checkbox"/>BM • <input type="checkbox"/>Sum of six skinfolds • <input type="checkbox"/>Arm girth (relaxed) • <input type="checkbox"/>Arm girth (fixed) • <input type="checkbox"/>Chest girth • <input type="checkbox"/>Waist girth • <input type="checkbox"/>Hip girth • <input type="checkbox"/>Thigh girth • <input type="checkbox"/>Femur diameter • <input type="checkbox"/>Humerus diameter
O'Connor & Crowe (2007) [40]	30 male elite rugby players (24.9 ± 1.5 years)	Controlled CrM: 3 g/day HMB: 3 g/day Duration: 6 weeks	<ul style="list-style-type: none"> • BM • Sum of six skinfolds • Arm girth (relaxed) • Arm girth (fixed) • Chest girth • Waist girth • Hip girth • Thigh girth • Femur diameter • Humerus diameter 	<ul style="list-style-type: none"> • <input type="checkbox"/>BM • <input type="checkbox"/>Sum of six skinfolds • <input type="checkbox"/>Arm girth (relaxed) • <input type="checkbox"/>Arm girth (fixed) • <input type="checkbox"/>Chest girth • <input type="checkbox"/>Waist girth • <input type="checkbox"/>Hip girth • <input type="checkbox"/>Thigh girth • <input type="checkbox"/>Femur diameter • <input type="checkbox"/>Humerus diameter 	<ul style="list-style-type: none"> • <input type="checkbox"/>BM • <input type="checkbox"/>Sum of six skinfolds • <input type="checkbox"/>Arm girth (relaxed) • <input type="checkbox"/>Arm girth (fixed) • <input type="checkbox"/>Chest girth • <input type="checkbox"/>Waist girth • <input type="checkbox"/>Hip girth • <input type="checkbox"/>Thigh girth • <input type="checkbox"/>Femur diameter • <input type="checkbox"/>Humerus diameter 	<ul style="list-style-type: none"> • <input type="checkbox"/>BM • <input type="checkbox"/>Sum of six skinfolds • <input type="checkbox"/>Arm girth (relaxed) • <input type="checkbox"/>Arm girth (fixed) • <input type="checkbox"/>Chest girth • <input type="checkbox"/>Waist girth • <input type="checkbox"/>Hip girth • <input type="checkbox"/>Thigh girth • <input type="checkbox"/>Femur diameter • <input type="checkbox"/>Humerus diameter
Zajac et al., (2003) [37]	52 well trained basketball players (25.6 ± 5.6 years)	Randomized, placebo-controlled CrM: 15 g/day (first 5 days) + 5 g/day (rest of the days) HMB: 3 g/day Duration: 30 days	<ul style="list-style-type: none"> • BM • FFM • FM 	<ul style="list-style-type: none"> • <input type="checkbox"/>BM • <input type="checkbox"/>FFM • <input type="checkbox"/>FM 	<ul style="list-style-type: none"> • <input type="checkbox"/>BM • <input type="checkbox"/>FFM • <input type="checkbox"/>FM 	<ul style="list-style-type: none"> • <input type="checkbox"/>BM • <input type="checkbox"/>FFM • <input type="checkbox"/>FM

CrM: Creatine monohydrate supplementation, HMB: HMB supplementation, CON/PLG: Placebo or control group, HMBG: HMB supplementation group, CrMG: Creatine monohydrate supplementation group, LBM: Lean body mass, BM: Body mass, FM: Fat mass, FFM: Fat free mass; ↑: Increase, ↓: Decrease, : No effect

Table 3. Summary of studies included in the systematic review that investigated the effect of CrM plus HMB on markers of muscle damage and hormone status outcomes.

Author/s	Population	Intervention	Outcomes	Effects		
				CrM+HMB Vs CON/PLG	CrM+HMB Vs CrM	CrM+HMB Vs HMBG
Crowe et al., (2003) [38]	28 male elite rugby players (24.9 ± 0.7 years)	Controlled CrM: 3 g/day HMB: 3 g/day Duration: 6 weeks	<ul style="list-style-type: none"> • Testosterone • Cortisol • CK • Urea 	<ul style="list-style-type: none"> • <input type="checkbox"/> Testosterone • <input type="checkbox"/> cortisol • <input type="checkbox"/> CK • <input type="checkbox"/> Urea 	<ul style="list-style-type: none"> • <input type="checkbox"/> Testosterone • <input type="checkbox"/> cortisol • <input type="checkbox"/> CK • <input type="checkbox"/> Urea 	
Faramarzi et al., (2009) [35]	24 soccer players (21.6 ± 0.1 years)	Randomized, placebo-controlled CrM: 3 g/day HMB: 3 g/day Duration: 6 days	<ul style="list-style-type: none"> • CK • LDH 	<ul style="list-style-type: none"> • <input type="checkbox"/> CK • <input type="checkbox"/> LDH 	<ul style="list-style-type: none"> • <input type="checkbox"/> CK • <input type="checkbox"/> LDH 	
Jówo et al., (2001) [36]	40 healthy males (21.0 ± 2.1 years)	Randomized, double-blind, placebo-controlled CrM: 20 g/day (first 1 week) + 10 g/day (2 weeks) HMB: 3 g/day Duration: 3 weeks	<ul style="list-style-type: none"> • CK • Urea nitrogen 	<ul style="list-style-type: none"> • <input type="checkbox"/> CK • <input type="checkbox"/> Urea nitrogen 	<ul style="list-style-type: none"> • <input type="checkbox"/> CK • <input type="checkbox"/> Urea nitrogen 	
O'Connor & Crowe (2003) [39]	27 male elite rugby players (18–32 years)	Controlled CrM: 3 g/day HMB: 3 g/day Duration: 6 weeks	<ul style="list-style-type: none"> • LA (blood) 	<ul style="list-style-type: none"> • <input type="checkbox"/> LA 	<ul style="list-style-type: none"> • <input type="checkbox"/> LA 	
Zajac et al., (2003) [37]	52 well trained basketball players (25.6 ± 5.6 years)	Randomized, placebo-controlled CrM: 15 g/day (first 5 days) + 5 g/day (rest of the days) HMB: 3 g/day Duration: 30 days	<ul style="list-style-type: none"> • LA • CK • LDH 	<ul style="list-style-type: none"> • <input type="checkbox"/> LA • <input type="checkbox"/> CK • <input type="checkbox"/> LDH 	<ul style="list-style-type: none"> • <input type="checkbox"/> LA • <input type="checkbox"/> CK • <input type="checkbox"/> LDH 	

CrM: Creatine monohydrate supplementation, HMB: HMB supplementation, CON/PLG: placebo or control group, HMBG: HMB supplementation group, CrMG: Creatine monohydrate supplementation group, CK: creatine kinase, LA: blood lactate, LDH: Lactate dehydrogenase; ↑: Increase, ↓: Decrease, : No effect.

4. Discussion

The main purpose of this systematic review was to summarize all scientific evidence about the effect of CrM plus HMB supplementation on variables related to physical performance (strength performance [36,40], anaerobic performance [35,37,39], aerobic performance [39]), body composition (LBM, BM, FM, FFM) [36,37,40], markers of muscle damage (CK, LDH, LA) [35–37,39], and hormone status (testosterone and cortisol) [38], as measured in the six studies included in this systematic review [35–40]. The main results indicated that the combination of 3–10 g/day of CrM plus HMB 3 g/day, over 1–6 weeks, could produce more improvements than taking them in an isolated way in strength performance, anaerobic performance, and for 4 weeks in body composition (increasing FFM and decreasing FM). However, no significant results were found on aerobic performance, on markers of muscle damage, and on anabolic/catabolic hormone parameters when both supplements were combined. Due to the different measured outcomes in the studies, the following outcomes have been divided into different groups. The results could be influenced by type of sport, amount of each supplement, and duration of the intervention. Participant characteristics, such as age, gender, ethnicity, body composition, training level, differences in training, nutrition, and health status, may also influence the results.

4.1. Impact on Sport Performance

4.1.1. Strength Performance

Strength is an essential attribute in sports performance, and describes the capacity to perform any action faster when the same mass is moved [45]. Strength tests require Cr/PCr as an energy substrate [46]. Therefore, strength could be enhanced with CrM ingestion, improving muscular performance by an increase of Cr/PCr [8]. In addition, HMB supplementation can also improve strength through an increase of the muscle cross-sectional area [29]. This effect of HMB could be due to an increase of muscle-protein synthesis caused by an up-regulation of the mTOR pathway [27], or by a marked change in oxidative metabolism [29]. Although in one of the two studies analyzed, the strength performance was improved [36]; in the other [40], no changes were found. The main reason for this could be the training status of the participants [47]. However, in the study by Jowko et al., 40 healthy males were measured by 1-RM of different exercises (bench press, behind the neck press, biceps curl, back squat, triceps extension, power clean, and sum of all tests), and it was shown that CrM plus HMB supplementation caused accumulative strength increases [36]. These observations are consistent with, but do not prove, the hypothesis that CrM plus HMB acts through distinct mechanisms, as already described.

4.1.2. Anaerobic Performance

The prolonged periods of multiple sprints that occur in different sports (for example soccer, basketball, or rugby) drain muscle glycogen stores, leading to a decrease in energy production and a reduction in the overall work rate during training and/or competition [48]. Short-term CrM supplementation has been shown to up-regulate the mRNA content of some genes and proteins involved in glycogen synthesis, producing a change in cellular osmolarity [15]. Moreover, an increase of muscle PCr by CrM supplementation is essential to activities dependent on the PCr energy system [13]. In addition, the Cr/PCr shuttle acts as a buffer that reduces LA in anaerobic glycolytic actions [16]. On the other hand, the negative muscle net balance that occurs after resistance exercise must be resolved quickly [49]. To achieve this, leucine must be ingested after exercise. Supplementation with HMB (leucine is a precursor of HMB) in the 30 minutes post the exercise period could be enough stimulus to produce protein synthesis, facilitating muscle recovery [29].

In relation to this topic, three studies were analyzed [35,37,39]. Two of them showed improvements in anaerobic performance [35,37]. Concretely, Faramarzi et al. [35] found a higher anaerobic performance (peak power) in soccer players during the RAST in CR/HMBG with respect to HMBG. This result

showed an additive effect of combined CrM plus HMB supplementation [35]. Equally, Zajac et al. found, in elite basketballers, better statistical results in CRG and CR/HMBG compared to HMBG and CON in a triple Wingate test. However, although there were no statistical differences between CRG and CR/HMBG, CR/HMBG showed a better performance in a triple Wingate test [37]. On the other hand, O'Connor et al. did not find changes among supplemented groups after a 60 s maximal anaerobic capacity test [39]. These results could be related to the high-level anaerobic training status of elite rugby players, and the difficulty in improving results for such athletes [39]. Thus, the combination of CrM plus HMB could help in achieving better results in improving anaerobic performance than taking them individually, however more research is needed to affirm these findings.

4.1.3. Aerobic Performance

Aerobic performance is a key factor in long endurance sports (for example long running, cycling, or rowing events) which require maintaining a specific intensity for as long as possible [50]. CrM can improve aerobic capacity by increasing the Cr/PCr shuttle that acts like a buffer, lowering the LA concentration at the same intensity [16]. In addition, CrM improves muscle glycogen synthesis [14,15]. HMB can also affect aerobic performance by enhancing aerobic capacity through mitochondrial biogenesis, by activation of PGC-1 α [30]. In this regard, no significant differences were observed among supplemented groups in the only study where aerobic performance was measured by a multistage aerobic capacity test [39]. This result could be due to the fact that the training focused on resistance exercises. Furthermore, the participants were highly trained athletes, who would be closer to their maximum genetic potential compared to untrained subjects [47].

Therefore, these controversial results generate certain doubts about the supplementation of CrM plus HMB and the benefit to aerobic performance. However, future work should be oriented towards exploring their effects on other types of tests and among different groups of athletes.

4.2. Impact on Body Composition

To obtain maximum performance, athletes need to have an optimal body composition for the concrete sport practice, with a low-fat mass percentage and optimal skeletal muscle mass [51]. HMB could increase muscle mass [52] by augmenting protein synthesis after an intense training session [27], by activation of mTOR [53]. Equally, it can reduce protein breakdown through reducing the ubiquitin-proteasome system [54] and by increasing the GH-IGF-I axis [55]. In addition, HMB could augment fat oxidation, improving mitochondrial biogenesis by activation of PGC-1 α , and thereby, lowering the fat mass percentage [30]. On the other hand, CrM supplementation has been proposed to increase muscle mass by increasing osmotic pressure in muscle, which increases the water content of the muscle [56–58], which in turn promotes glycogen synthesis [14,15].

The mixture of CrM plus HMB could augment FFM or LBM more than taking them in an isolated way, as the study by Zajac et al. [37] demonstrated. However, in the study by Jowko et al. [36], no changes were found. FM had also can be reduced [37] or unchanged [36]. In this sense, Zajac et al. [37] obtained an interesting result, given that mixed supplementation combined with three full-body resistance training sessions per week appeared to help to increase BM and decrease FM. HMBG decreased BF in comparison to CRG and CONG, and CRG increased BM (without increasing FM) in contrast to HMBG and CONG, showing an accumulative effect in terms of enhancing body composition when they were ingested together. Moreover, in the investigation by O'Connor et al. [40], body composition parameters measured (BM, sum of six skinfolds, arm girth (relaxed), arm girth (fixed), chest girth, waist girth, hip girth, and thigh girth) were not changed when combined with three full body resistance training sessions and one speed/power session per week. These results might be explained by the high training level of the participants. Therefore, the combination of CrM plus HMB could have an additive effect due to the performance of different energetic pathways.

4.3. Impact on markers of Muscle Damage and Hormone Status

4.3.1. Markers of Exercise-Induced Muscle Damage

The markers of exercise-induced muscle damage markers that were measured, LDH, CK, and LA, could be predictors of training intensity. Therefore, the activity of these markers is potentially useful, not as a marker of impending overtraining, but as a means of identifying a state of recent muscle damage or temporary over-reaching [59]. When CrM and HMB are taken in an isolated manner CrM can reduce LA [60], LDH [12], and CK [12] levels, and HMB can also decrease LA [20], CK [61], and LDH [61] levels after training. On the other hand, when the supplements are taken together, they do not show positive effects on CK [35,36,38], LDH [35], and LA [37,39] levels. Concretely, in the study by Jowko et al. [36], CK levels remained elevated following three weeks of CrM/HMBG supplementation. This could explain a decrease of protein degradation via HMB [62], an increase of LBM and improvements in strength achieved by this supplementation. This study [36] did not show an additive effect of HMB and CrM; quite the opposite, with CrM impairing HMB's results. In summary, the results of the studies showed no better effect from combining both supplements on markers of muscle damage markers compared to individual intake.

4.3.2. Anabolic/Catabolic Hormones

Monitoring testosterone and cortisol could provide insight into an athlete's recovery/readiness, and could be a tool to program daily volume/intensity of training [63]. While testosterone is an anabolic and anticatabolic hormone that indicates the degree of endogenous regeneration, cortisol indicates accumulated stress [63].

HMB ingestion can reduce blood cortisol levels [64] and CrM can increase testosterone levels [32,33] when they are taken individually. There was only one study that analyzed hormone status when the mixed supplements were ingested [38], and it showed no differences in cortisol or testosterone levels after six weeks of supplementation. It is difficult to obtain changes in this parameter in few time (6 weeks) [65], however, and more studies are needed to understand the effect of CrM and HMB in combination on anabolic/catabolic hormone responses.

4.4. Strengths, Limitations and Future Research

In this systematic review, we analyzed six studies [35–40] considering different sport modalities (rugby, basketball, and soccer), outcomes, and supplementation duration. Moreover, the tests used to measure strength, anaerobic performance, and aerobic performance were completely different. These differences resulted in difficulties in comparing the different outcomes of the studies. Furthermore, not all the studies analyzed the effect of the supplementation mixture on different groups. Therefore, the results of this systematic review should be treated with caution due to the small number of research works available to include that are relevant to this area. Accordingly, more studies with similar measurement methodologies are needed in order to determine the efficacy of mixing CrM plus HMB for improving sports performance, and in order to understand the potential additive effect of this combination.

5. Conclusions

In summary, the main results of this systematic review seem to indicate that the combination of 3–10 g/day of CrM plus 3 g/day HMB for 1–6 weeks could produce improvements in strength performance, anaerobic performance, and for 4 weeks in body composition (increasing FFM and decreasing FM), that may exceed the effects of taking them in an isolated way. However, no significant results relating to markers of exercise-induced muscle damage and anabolic/catabolic hormone status were found when both supplements were combined.

Author Contributions: J.F.-L. and J.M.-A. conceived and designed the review, analyzed and interpreted the data, drafted the paper, and approved the final version submitted for publication. J.C.-G. analyzed and interpreted the data, critically reviewed the paper, and approved the final version submitted for publication. A.C., A.C.-G., and P.L.-G. critically reviewed the paper and approved the final version submitted for publication.

Funding: Funding information is not applicable/no funding was received.

Acknowledgments: The authors thank the Foundation Institute of Studies of Health Sciences of Castilla y León (IECSCYL) for their collaboration on infrastructure and computer support.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Thomas, D.T.; Erdman, K.A.; Burke, L.M. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics, Dietitians of Canada, and the American College of Sports Medicine: Nutrition and Athletic Performance. *J. Acad. Nutr. Diet.* **2016**, *116*, 501–528. [CrossRef] [PubMed]
2. Australian Institute of Sport. Available online: https://www.sportaus.gov.au/_data/assets/pdf_file/0004/698557/AIS_Sports_Supplement_Framework_2019.pdf (accessed on 19 March 2019).
3. Maganaris, C.N.; Maughan, R.J. Creatine supplementation enhances maximum voluntary isometric force and endurance capacity in resistance trained men. *Acta Physiol. Scand.* **1998**, *163*, 279–287. [CrossRef] [PubMed]
4. Chwalbinska-Moneta, J. Effect of creatine supplementation on aerobic performance and anaerobic capacity in elite rowers in the course of endurance training. *Int. J. Sport Exerc. Metab.* **2003**, *13*, 173–183. [CrossRef]
5. Bazzucchi, I.; Felici, F.; Sacchetti, M. Effect of short-term creatine supplementation on neuromuscular function. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* **2009**, *41*, 1934–1941. [CrossRef] [PubMed]
6. Kreider, R.B.; Ferreira, M.; Wilson, M.; Grindstaff, P.; Plisk, S.; Reinardy, J.; Cantler, E.; Almada, A.L. Effects of creatine supplementation on body composition, strength, and sprint performance. *Med. Sci. Sports Exerc.* **1998**, *30*, 73–82. [CrossRef] [PubMed]
7. Urbanski, R.L.; Vincent, W.J.; Yaspelkis, B.B. Creatine supplementation differentially affects maximal isometric strength and time to fatigue in large and small muscle groups. *Int. J. Sport Nutr.* **1999**, *9*, 136–145. [CrossRef] [PubMed]
8. Becque, M.; Lochmann, J.; Melrose, D. Effects of oral creatine supplementation on muscular strength and body composition. *Phys. Fit. Perform.* **2000**, *32*, 654–658. [CrossRef] [PubMed]
9. Warber, J.P.; Tharion, W.J.; Patton, J.F.; Champagne, C.M.; Mitotti, P.; Lieberman, H.R. The effect of creatine monohydrate supplementation on obstacle course and multiple bench press performance. *J. Strength Cond. Res.* **2002**, *16*, 500–508.
10. Kutz, M.R.; Gunter, M.J. Creatine Monohydrate Supplementation on Body Weight and Percent Body Fat. *J. Strength Cond. Res.* **2003**, *17*, 817–821.
11. Cooke, M.B.; Rybalka, E.; Williams, A.D.; Cribb, P.J.; Hayes, A. Creatine supplementation enhances muscle force recovery after eccentrically-induced muscle damage in healthy individuals. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **2009**, *6*, 13. [CrossRef]
12. Bassit, R.; Pinheiro, C.; Vitzel, K.; Sproesser, A.; Silveira, L.; Curi, R. Effect of short-term creatine supplementation on markers of skeletal muscle damage after strenuous contractile activity. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2010**, *108*, 945–955. [CrossRef] [PubMed]
13. Kerkisick, C.M.; Arent, S.; Schoenfeld, B.J.; Stout, J.R.; Campbell, B.; Wilborn, C.D.; Taylor, L.; Kalman, D.; Smith-Ryan, A.E.; Kreider, R.B.; et al. International society of sports nutrition position stand: Nutrient timing. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **2017**, *14*, 1–12. [CrossRef] [PubMed]
14. Roberts, P.A.; Fox, J.; Peirce, N.; Jones, S.W.; Casey, A.; Greenhaff, P.L. Creatine ingestion augments dietary carbohydrate mediated muscle glycogen supercompensation during the initial 24 h of recovery following prolonged exhaustive exercise in humans. *Amino Acids* **2016**, *48*, 1831–1842. [CrossRef] [PubMed]
15. Van Loon, L.J.; Murphy, R.; Oosterlaar, A.M.; Cameron-Smith, D.; Hargreaves, M.; Wagenmakers, A.J.M.; Snow, R. Creatine supplementation increases glycogen storage but not GLUT-4 expression in human skeletal muscle. *Clin. Sci.* **2004**, *106*, 99–106. [CrossRef] [PubMed]
16. Saks, V.A.; Kongas, O.; Vendelin, M.; Kay, L. Role of the creatine/phosphocreatine system in the regulation of mitochondrial respiration. *Acta Physiol. Scand.* **2000**, *168*, 635–641. [CrossRef]

17. Chilibeck, P.; Kaviani, M.; Candow, D.; Zello, G.A. Effect of creatine supplementation during resistance training on lean tissue mass and muscular strength in older adults: a meta-analysis. *Open Access J. Sport Med.* **2017**, *8*, 213–226. [[CrossRef](#)]
18. Durkalec-Michalski, K.; Jeszka, J. The efficacy of a β -hydroxy- β -methylbutyrate supplementation on physical capacity, body composition and biochemical markers in elite rowers: A randomised, double-blind, placebo-controlled crossover study. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **2015**, *12*, 31. [[CrossRef](#)]
19. Vukovich, M.D.; Dreifort, G.D. Effect of beta-hydroxy beta-methylbutyrate on the onset of blood lactate accumulation and VO₂ peak in endurance-trained cyclists. *J. Strength Cond. Res.* **2001**, *15*, 491–497.
20. Durkalec-Michalski, K.; Jeszka, J.; Podgórski, T. The effect of a 12-week beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation on highly-trained combat sports athletes: A randomised, double-blind, placebo-controlled crossover study. *Nutrients* **2017**, *9*, 753. [[CrossRef](#)]
21. Asadi, A.; Arazi, H.; Suzuki, K. Effects of β -hydroxy- β -methylbutyrate-free acid supplementation on strength, power and hormonal adaptations following resistance training. *Nutrients* **2017**, *9*, 1316. [[CrossRef](#)]
22. Meckel, Y.; Cooper, D.M.; Eliakim, A.; Nemet, D. The effect of HMB supplementation on body composition, fitness, hormonal and inflammatory mediators in elite adolescent volleyball players: A prospective randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2011**, *111*, 2261–2269.
23. Wilson, J.M.; Lowery, R.P.; Joy, J.M.; Andersen, J.C.; Wilson, S.M.C.; Stout, J.R.; Duncan, N.; Fuller, J.C.; Baier, S.M.; Naimo, M.A.; et al. The effects of 12 weeks of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate free acid supplementation on muscle mass, strength, and power in resistance-trained individuals: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2014**, *114*, 1217–1227. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Thomson, J.; Watson, P.; Rowlands, D. Effects of nine weeks of b-hydroxy-b-methylbutyrate supplementation on strength and body composition in resistance trained men. *J. Strength Cond. Res.* **2009**, *23*, 827–835. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Durkalec-Michalski, K.; Jeszka, J. The effect of β -hydroxy- β -methylbutyrate on aerobic capacity and body composition in trained athletes. *J. Strength Cond. Res.* **2016**, *30*, 2617–2626. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Ferreira, H.; Gill, P.; Fernandes Filho, J.; Fernandes, L. Effects of 12-weeks of supplementation with β -hydroxy- β -methylbutyrate-Ca (HMB-Ca) on athletic performance. *J. Exerc. Physiol.* **2015**, *18*, 84–94.
27. Wilson, J.M.; Fitchen, P.J.; Campbell, B.; Wilson, G.J.; Zanchi, N.; Taylor, L.; Wilborn, C.; Kalman, D.S.; Stout, J.R.; Hoffman, J.R.; et al. International Society of Sports Nutrition Position Stand: Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB). *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **2013**, *10*, 6. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Di Camillo, B.; Eduati, F.; Nair, S.K.; Avogaro, A.; Toffolo, G.M. Leucine modulates dynamic phosphorylation events in insulin signaling pathway and enhances insulin-dependent glycogen synthesis in human skeletal muscle cells. *BMC Cell Biol.* **2014**, *15*, 1–9. [[CrossRef](#)]
29. Pinheiro, C.; Gerlinger-Romero, F.; Guimaraes-Ferreira, L.; de Souza, A.J.; Vitzel, K.; Nachbar, R.; Nunes, M.; Curi, R. Metabolic and functional effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation in skeletal muscle. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2012**, *112*, 2531–2537. [[CrossRef](#)]
30. He, X.; Duan, Y.; Yao, K.; Li, F.; Hou, Y.; Wu, G.; Yin, Y. β -Hydroxy- β -methylbutyrate, mitochondrial biogenesis, and skeletal muscle health. *Amino Acids* **2016**, *48*, 653–664. [[CrossRef](#)]
31. Park, B.S.; Henning, P.C.; Grant, S.C.; Lee, W.J.; Lee, S.R.; Arjmandi, B.H.; Kim, J.S. HMB attenuates muscle loss during sustained energy deficit induced by calorie restriction and endurance exercise. *Metabolism* **2013**, *62*, 1718–1729. [[CrossRef](#)]
32. Vatani, D.S.; Faraji, H.; Soori, R.; Mogharnasi, M. The effects of creatine supplementation on performance and hormonal response in amateur swimmers. *Sci. Sport* **2011**, *26*, 272–277. [[CrossRef](#)]
33. Arazi, H.; Rahmaninia, F.; Hosseini, K.; Asadi, A. Effects of short term creatine supplementation and resistance exercises on resting hormonal and cardiovascular responses. *Sci. Sport* **2015**, *30*, 105–109. [[CrossRef](#)]
34. Wilson, G.J.; Wilson, J.M.; Manninen, A.H. Effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) on exercise performance and body composition across varying levels of age, sex, and training experience: A review. *Nutr. Metab.* **2008**, *5*, 1–17. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Faramarzi, M.; Nuri, R.; Banitalebi, E.; Sciences, S. The effect of short-term combination of HMB (beta-hydroxy-beta-methylbutyrate) and creatine supplementation on anaerobic performance and muscle injury markers in soccer players. *Braz. J. Biomotricity* **2009**, *3*, 366–375.

36. Jówko, E.; Ostaszewski, P.; Jank, M.; Sacharuk, J.; Zieniewicz, A.; Wilczak, J.; Nissen, S. Creatine and β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) additively increase lean body mass and muscle strength during a weight-training program. *Nutrition* **2001**, *17*, 558–566. [[CrossRef](#)]
37. Zajac, A.; Waskiewicz, Z.; Poprzecki, S.; Cholewa, J. Effects of creatine and HMB supplementation on anaerobic power and body composition in basketball players. *J. Hum. Kinet.* **2003**, *10*, 95–108.
38. Crowe, M.J.; O'Connor, D.M.; Lukins, J.E. The effects of β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) and HMB/creatine supplementation on indices of health in highly trained athletes. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* **2003**, *13*, 184–197. [[CrossRef](#)]
39. O'Connor, D.M.; Crowe, M.J. Effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate and creatine monohydrate supplementation on the aerobic and anaerobic capacity of highly trained athletes. *J. Sports Med. Phys. Fitness* **2003**, *43*, 64–68.
40. O'Connor, D.M.; Crowe, M.J. Effects of six weeks of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) and HMB/creatine supplementation on strength, power, and anthropometry of highly trained athletes. *J. Strength Cond. Res.* **2007**, *21*, 419–423. [[CrossRef](#)]
41. Moher, D.; Liberati, A.; Tetzlaff, J.; Altman, D.G. Academia and clinic annals of internal medicine preferred reporting items for systematic reviews and meta-analyses. *Ann. Intern. Med.* **2009**, *151*, 264–269.
42. Higgins, J.; Green, S. *Cochrane Handbook for Systematic Reviews of Interventions*; John Wiley & Sons: Chichester, UK, 2008.
43. Chulvi-Medrano, I.; Picon-Martinez, M.; Garcia-Jaen, M.; Manuel Cortell-Tormo, J.; Alakhdar, Y.; Laurentino, G. Neuromuscular adaptations after blood flow restriction training combined with nutritional supplementation: A preliminary study. *Montenegrin J. Sport Sci. Med.* **2019**, *8*, 37–42. [[CrossRef](#)]
44. Miramonti, A.; Stout, J.; Fukuda, D.; Robinson, E.; Wang, R.; La Monica, M.; Hoffman, J. The effects off four weeks of high intensity interval training and β -hydroxy- β -methylbutyric free acid on the onset of neuromuscular fatigue. *J. Strength Cond. Res.* **2015**, *30*, 626–634. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Folland, J.P.; Williams, A.G. The adaptations to strength training: Morphological and neurological contributions to increased strength. *Sport Med.* **2007**, *37*, 145–168. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
46. Kreider, R.B.; Kalman, D.S.; Antonio, J.; Ziegenfuss, T.N.; Wildman, R.; Collins, R.; Candow, D.G.; Kleiner, S.M.; Almada, A.L.; Lopez, H.L. International Society of Sports Nutrition position stand: Safety and efficacy of creatine supplementation in exercise, sport, and medicine. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **2017**, *14*, 1–18. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
47. Spurway, N.; MacLaren, D. *The Physiology of Training: Advances in Sport and Exercise Science Series*; Elsevier Health Sciences: Philadelphia, PA, USA, 2006.
48. Williams, C.; Rollo, I. Carbohydrate nutrition and team sport performance. *Sport.Med.* **2015**, *45*, 13–22. [[CrossRef](#)]
49. Phillips, S.M.; Tipton, K.D.; Ferrando, A.A.; Wolfe, R.R. Resistance training reduces the acute exercise-induced increase in muscle protein turnover. *Am. J. Physiol.* **1999**, *276*, E118–E124. [[CrossRef](#)]
50. Córdova Martínez, A.; Fernández-Lázaro, D.; Mielgo-Ayuso, J.; Seco Calvo, J.; Caballero García, A. Effect of magnesium supplementation on muscular damage markers in basketball players during a full season. *Magnes. Res.* **2017**, *30*, 61–70. [[CrossRef](#)]
51. Martin, D.T.; McLean, B.; Trewin, C.; Lee, H.; Victor, J.; Hahn, A.G. Physiological characteristics of nationally competitive female road cyclists and demands of competition. *Sport Med.* **2001**, *31*, 469–477. [[CrossRef](#)]
52. Nissen, S.L.; Sharp, R.L. Effect of dietary supplements on lean mass and strength gains with resistance exercise: A meta-analysis. *J. Appl. Physiol.* **2003**, *94*, 651–659. [[CrossRef](#)]
53. Kornasio, R.; Riederer, I.; Butler-Browne, G.; Mouly, V.; Uni, Z.; Halevy, O. β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) stimulates myogenic cell proliferation, differentiation and survival via the MAPK/ERK and PI3K/Akt pathways. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res.* **2009**, *1793*, 755–763. [[CrossRef](#)]
54. Smith, H.J.; Mukerji, P.; Tisdale, M.J. Attenuation of proteasome-induced proteolysis in skeletal muscle by β -hydroxy- β -methylbutyrate in cancer-induced muscle loss. *Cancer Res.* **2005**, *65*, 277–283. [[PubMed](#)]
55. Dehoux, M.; Van Beneden, R.; Pasko, N.; Lause, P.; Verniers, J.; Underwood, L.; Ketelslegers, J.M.; Thissen, J.P. Role of the insulin-like growth factor I decline in the induction of atrogen-1/MAFbx during fasting and diabetes. *Endocrinology* **2004**, *145*, 4806–4812. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

56. Stone, M.; Sanborn, K.; Smith, L.; O'Bryant, H.; Hoke, T.; Utter, A.; Johnson, R.; Boros, R.; Hrubby, J.; Pierce, K.; et al. Effects of in-season (5 weeks) creatine and pyruvate supplementation on anaerobic performance and body composition in American football players. *Int. J. Sport Nutr.* **1999**, *9*, 146–165. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
57. Deminice, R.; Rosa, F.T.; Pfrimer, K.; Ferrioli, E.; Jordao, A.A.; Freitas, E. Creatine Supplementation Increases Total Body Water in Soccer Players: A Deuterium Oxide Dilution Study. *Int. J. Sports Med.* **2016**, *37*, 149–153. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
58. Powers, M.E.; Arnold, B.L.; Weltman, A.L.; Perrin, D.H.; Mistry, D.; Kahler, D.M.; Kraemer, W.; Volek, J. Creatine Supplementation Increases Total Body Water Without Altering Fluid Distribution. *J. Athl. Train.* **2003**, *38*, 44–50. [[PubMed](#)]
59. Gleeson, M. Biochemical and immunological markers of over-training. *J. Sport Sci. Med.* **2002**, *1*, 31–41.
60. Oliver, J.; Joubert, D.; Martin, S.; Crouse, S. Oral creatine supplementation's decrease of blood lactate during exhaustive, incremental cycling. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* **2013**, *23*, 252–258. [[CrossRef](#)]
61. Knitter, A.E.; Panton, L.; Rathmacher, J.A.; Petersen, A.; Sharp, R. Effects of β -hydroxy- β -methylbutyrate on muscle damage after a prolonged run. *J. Appl. Physiol.* **2000**, *89*, 1340–1344. [[CrossRef](#)]
62. Nissen, S.; Sharp, R.; Ray, J.; Rathmacher, J.A.; Rice, D.; Fuller, J.C.; Connelly, A.S.; Abumrad, N. Effect of leucine metabolite β -hydroxy- β -methylbutyrate on muscle metabolism during resistance-exercise training. *J. Appl. Physiol.* **1996**, *81*, 2095–2104. [[CrossRef](#)]
63. Mielgo-Ayuso, J.; Zourdos, M.; Urdampilleta, A.; Calleja-González, J.; Seco, J.; Córdova, A. Relationship of long-term macronutrients intake on anabolic-catabolic hormones in female elite volleyball players. *Nutr. Hosp.* **2017**, *34*, 1155–1162. [[CrossRef](#)]
64. Tinsley, G.M.; Givan, A.H.; Graybeal, A.J.; Villarreal, M.I.; Cross, A.G. β -Hydroxy β -methylbutyrate free acid alters cortisol responses, but not myofibrillar proteolysis, during a 24-h fast. *Br. J. Nutr.* **2018**, *119*, 517–526. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
65. Häkkinen, K.; Pakarinen, A.; Alén, M.; Komi, P.V. Serum hormones during prolonged training of neuromuscular performance. *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* **1985**, *53*, 287–293. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]








© 2019 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

APÉNDICE 5

APÉNDICE 5. ARTÍCULO 2

Article

Effect of Ten Weeks of Creatine Monohydrate Plus HMB Supplementation on Athletic Performance Tests in Elite Male Endurance Athletes

Julen Fernández-Landa ¹, Diego Fernández-Lázaro ², Julio Calleja-González ¹, Alberto Caballero-García ³, Alfredo Córdova Martínez ⁴, Patxi León-Guereño ⁵ and Juan Mielgo-Ayuso ^{4,*}

¹ Laboratory of Human Performance, Department of Physical Education and Sport, Faculty of Education, Sport Section, University of the Basque Country, 01007 Vitoria, Spain; julenfdl@hotmail.com (J.F.-L.); julio.calleja.gonzalez@gmail.com (J.C.-G.)

² Department of Cellular Biology, Histology and Pharmacology, Faculty of Health Sciences, University of Valladolid, Campus de Soria, 42003 Soria, Spain; diego.fernandez.lazaro@uva.es

³ Department of Anatomy and Radiology, Faculty of Health Sciences, University of Valladolid, Campus de Soria, 42003 Soria, Spain; albcab@ah.uva.es

⁴ Department of Biochemistry, Molecular Biology and Physiology, Faculty of Health Sciences, University of Valladolid, Campus de Soria, 42003 Soria, Spain; a.cordova@bio.uva.es

⁵ Faculty of Psychology and Education, University of Deusto, Campus of Donostia-San Sebastián, 20012 San Sebastián, Guipúzcoa, Spain; patxi.leon@deusto.es

* Correspondence: juanfrancisco.mielgo@uva.es; Tel.: +34-975-129-187

Received: 12 December 2019; Accepted: 8 January 2020; Published: 10 January 2020



Abstract: Creatine monohydrate (CrM) and β -hydroxy β -methylbutyrate (HMB) are common ergogenic aids in the field of sports and are frequently used in an isolated way. However, there are a few studies that have investigated the effect of combining both supplements on different variables related to performance, with controversial results. Therefore, the main purpose of this study was to determine the efficacy and the degree of potentiation of 10 weeks of CrM plus HMB supplementation on sports performance, which was measured by an incremental test to exhaustion in elite male traditional rowers. In this placebo-controlled, double-blind trial, 10-week study, participants ($n = 28$) were randomized to a placebo group (PLG; $n = 7$), CrM group (0.04 g/kg/day of CrM; $n = 7$), HMB group (3 g/day of HMB; $n = 7$) and CrM-HMB group (0.04 g/kg/day of CrM plus 3 g/day of HMB; $n = 7$). Before and after 10 weeks of different treatments, an incremental test was performed on a rowing ergometer to calculate the power that each rower obtained at the anaerobic threshold (WAT), and at 4 mmol (W4) and 8 mmol (W8) of blood lactate concentration. There were no significant differences in WAT and W4 among groups or in body composition. However, it was observed that the aerobic power achieved at W8 was significantly higher in the CrM-HMB group than in the PLG, CrM and HMB groups ($p < 0.001$; $\eta^2 p = 0.766$). Likewise, a synergistic effect of combined supplementation was found for the sum of the two supplements separately at WAT (CrM-HMBG = 403.19% vs. CrMG+HMBG = 337.52%), W4 (CrM-HMBG = 2736.17% vs. CrMG+HMBG = 1705.32%) and W8 (CrM-HMBG = 1293.4% vs. CrMG+HMBG = 877.56%). In summary, CrM plus HMB supplementation over 10 weeks showed a synergistic effect on aerobic power (measured as WAT, W4, and W8) during an incremental test but had no influence muscle mass.

Keywords: muscle recovery; lactate threshold; muscle mass; body composition; aerobic power; sport nutrition; supplementation

1. Introduction

Adequate training and a diet adapted to a specific sporting discipline play a key role in athletes reaching maximum performance [1]. In addition, acceptable supplementation could increase performance by helping athletes to recover from previous efforts [2] or by developing substrates or pathways of specific energy use for the actual sport capacities [3,4]. There are several supplements used to promote muscle recovery [5] through the replacement of energy substrates, such as creatine monohydrate (CrM) [6] or β -hydroxy β -methylbutyrate (HMB) [7,8], among others [9].

CrM is one of the most well-known and studied supplements related to physical performance and health [6]. Some authors have shown improvements in endurance capacity (expressed by the individual lactate threshold) regardless of the effect of intensive training [10], however, the results of studies on aerobic capacity are quite inconsistent [11]. CrM improves aerobic capacity mainly by increasing the creatine-phosphocreatine (Cr-PCr) shuttle, which leads to a higher yield of myocellular ATPases, an increase in PCr re-synthesis, the accumulation of inorganic phosphorus, Ca^{2+} , H^+ and ADP, greater availability of amino acids, inhibition of glycolysis and a possible increase in neuromuscular performance. [12]. Equally, muscle glycogen levels can be positively affected by CrM through the inhibition and/or activation of certain glycogen synthase regulatory proteins, highlighting the IGF-I/Akt-PKB/GSK3 pathway, the possible inhibition of AMPK and cell swelling [13] which are essential in glycolytic sports. Moreover, CrM improves recovery stimulating muscle protein synthesis by the activation of signaling cascades and an increase in the expression of proteins involved in these processes and inactivation and/or reduction in the expression of proteins with ergolytic functions [14], increasing testosterone levels [15] and/or reducing the post-training lactate (LA) concentration [16], lactate dehydrogenase (LDH) [17] and creatine kinase (CK) [17], which are essential to achieve the desired training adaptation and hence, the opportunity to train more.

HMB, a metabolite from leucine, which is one of the three essential branched-chain amino acids, is another supplement that has been widely studied [7,8]. This ergogenic aid improves endurance capacity [18–20], enhances mitochondrial biogenesis by activation of gamma co-activator 1-alpha α (PGC-1 α), thus promoting higher fat oxidation [21]. Furthermore, HMB may improve muscle glycogen synthesis indirectly by enhancing the insulin effect and amplifying phosphorylation [22]. In addition, HMB may be applied to enhance the muscle mass and strength of skeletal muscles in physically active individuals who exercise [23], increasing muscle protein synthesis [24] by upregulation of mammalian target of rapamycin (mTOR) [7]. Besides, HMB may also reduce blood cortisol levels [25] and decrease the LA concentration [18], CK [26] and LDH [26].

These two supplements have been investigated individually; however, the combination of both is a common strategy in various sports fields. However, to the best of our knowledge, only a few studies have shown the degree of potentiation of this combination, but they have not identified whether their effects are synergistic or additive. For example, some authors have used beta-alanine plus CrM supplementation and have shown a synergistic effect on the physical working capacity at the neuromuscular fatigue threshold [27,28]. Although there are a few studies examining the action produced by the combination of CrM plus HMB, the results obtained are controversial with regard to sport performance [29–34]. While some of studies did not show changes in muscular strength, endurance and aerobic and anaerobic ability, others found improvements in muscular strength and in aerobic power [35]. Nevertheless, according to the authors' knowledge, there are no previous studies that have quantified the degree of potentiation of CrM plus HMB on sport performance.

Thus, we hypothesized that the combination of CrM plus HMB would enhance performance more than CrM or HMB separately. The main purpose of this study was to determinate the efficacy and the degree of potentiation of 10 weeks of supplementation with a mix of 0.04 g/kg/day (\approx 3 g/day) of CrM plus 3 g/day of HMB on aerobic power measured by an incremental test to exhaustion in elite male traditional rowers.

2. Material and Methods

2.1. Participants

Twenty-eight elite male traditional rowers (30.43 ± 4.65 years; 23.92 ± 1.85 kg/m² and $8.3 \pm 1.15\%$ of fat mass) who belonged to a top rowing club from the First Trainer League in Spain (ACT), with more than 5 years of high level traditional rowing experience participated in this double-blind and placebo-controlled trial. All rowers performed the same team-monitored practice sessions for 6 days/week. The sessions were 1.5 h/day, (including rowing practice, preventive and strength individual training and recovery protocols) and ran for 10 weeks during the rowing season (competitive period with two official rounds of rowing per week). Further, the registered dietitian-nutritionist of the club developed a personalized diet for each rower. The diets were proposed using previously established energy and macronutrient guidelines for adequate athletic performance, and were based on training load, personal characteristics and intolerances of each participant [36].

A medical examination was performed before the study began in order to verify that the participants did not have any disease or previous injury. No participants had any diseases, and none of them smoked, drank alcohol or took medications, which would alter hormone response. Likewise, to avoid the possible interference of other nutritional supplements on the different variables measured in this investigation, a 2-week washout period was introduced. During the investigation period, the athletes only took the assigned supplement and the recovery shake consisting of carbohydrates and proteins.

All of the participants received a physical examination, were fully informed of all aspects of the study, and signed a statement of informed consent. This research was designed in accordance with the Declaration of Helsinki (2008), with the Fortaleza update (2013) [37] and approved by the Human Research Ethics Committee at the Basque Country University, Vitoria, Spain with the number M10/2017/247.

2.2. Experimental Protocol and Evaluation Plan

This study was designed as a randomized and placebo-controlled, double-blind trial in order to analyze the effects of 10 weeks of oral supplementation of 0.04 g/kg/day of CrM; 3 g/day HMB; 0.04 g/kg/day of CrM plus 3 g/day HMB or placebo on sports performance measured by an incremental test to exhaustion [38]. The proposed doses were chosen based on the safety and efficacy of creatine and HMB supplementation in exercise, sport, and medicine [6,7].

The participants were randomly assigned by SPSS software to four different groups using a stratified block design. An independent statistician generated the randomization sequence: (1) Placebo group (PLG; $n = 7$; height: 184.9 ± 2.4 cm and body mass: 81.9 ± 6.3 kg), (2) Group treated with 0.04 g/kg/day of CrM (CrMG; $n = 7$; height: 183.4 ± 7.8 cm and body mass: 81.2 ± 5.0 kg), (3) Group treated with 3 g/day of HMB (HMBG; $n = 7$; height: 185.5 ± 10.1 cm and body mass: 79.9 ± 12.2 kg) and (4) Group treated with 0.04 g/kg/day of CrM plus 3 g/day of HMB (CrM-HMBG; $n = 7$; height: 181.6 ± 4.3 cm and body mass: 78.0 ± 4.7 kg). All participants attended the laboratory (at 8:30 a.m.) for blood collection at two specific points during the study: (1) at baseline (T1), and (2) post-treatment (T2—the day after 10 weeks of treatment).

The four groups took supplementation or placebo during the 6 days of weekly training together with a chocolate recovery shake (1 g/kg of CHO + 0.3 g/kg protein) in the half hour after finishing the exercise [39]. No substance was added to the PL, but the athletes were unaware of this situation. On the off days, the rowers took the same dose of supplements 30 min before going to bed. None of the participants used any pre-workout substances. An independent nutritionist from outside the club made the shakes with the individual supplementation, so each rower and researcher did not know which supplementation was being taken. Moreover, each day the same nutritionist verified that all rowers had complied with the protocol for taking the supplements. The CrM was obtained from

Creapure® powder, while the HMB was obtained from HMB-Ca FullGas® (Fullgas Sport, S.L., 20115 Astigarraga, Guipúzcoa (Spain)).

2.3. Incremental Power Tests

To evaluate the athletes' performance, an incremental test was carried out at T1 and T2. The two test sessions were carried out at 6:30 p.m. in a covered sports hall with standard conditions (temperature: 21 °C and humidity: 60%) to keep the constants equal in both tests. The tests were performed after a standardized 15-min warm-up. The warm-up included 10 min of constant rowing with two 1-min accelerations (at 3 min and 5 min of the warm-up) and 5 min of accelerations and injury prevention drills consisting of general movements, dynamic/static stretching and core stability. All rowers consumed 3 g/kg of CHO 1–4 h before both tests [36].

The incremental test [38] was performed on an indoor rowing ergometer (Concept II system, Model D, Morrisville, VT, USA), on which the seat was fixed to remain static during the test [40]. The test was performed with stages of 3 min of progressive intensity until fatigue with rest intervals of 30 s between stages in order to obtain samples of LA in the lobe of the ear. The initial workload was 100 W. Once the test started and at each stage, the rower was asked to maintain the constant intensity (W) and constant strokes [41]. The intensity was increased by 40 W in each subsequent stage until exhaustion. Exhaustion was defined as the rower's inability to sustain three consecutive strokes at the stipulated power. All tests were valid maximum stress tests using the standard criteria for rowers [42].

2.4. Blood Lactate Concentrations

The LA samples were obtained by samples (5 µL) from the earlobe of each rower before beginning the test and at the end of each 3-min stage. The LA was determined by a Lactate Scout analyzer (EKF Diagnostics®, Penarth, Cardiff, UK) following the manufacturer's instructions [43]. To avoid inter-analyzer variability, the same analyzer was used for both tests in all participants. The validity of the analyzer was guaranteed by verifying the measured values with the lactate standards according to the manufacturer's instructions [43].

2.5. Determination of Thresholds

After obtaining the different LA values at each stage of the incremental protocol, they were represented graphically as a continuous function against time. Then, the power that each rower achieved at the anaerobic threshold (WAT), at 4 mmol (W4) and 8 mmol (W8) was extrapolated. For the WAT calculation, the D-max method was used [44,45].

2.6. Anthropometry

Anthropometric measurements were taken following the protocol of the International Society for the Advancement of Kinanthropometry (ISAK) [46]. Additionally, the same internationally certified anthropometrist (ISAK level 3) took the measurements for all participants. All measurements were taken in duplicate to establish within-day retest reliability. If the difference between the duplicate measures exceeded 5% for an individual skinfold, a third measurement was taken. The mean of duplicate or the median of triplicate anthropometric measurements were used for all analyses. Height (cm) was measured using a SECA® measuring rod, with a precision of 1 mm, while BM (kg) was assessed by a SECA® model scale, with a precision of 0.1 kg. Body mass index (BMI) was calculated using the equation $BM/height^2$ (kg/m²). Six skinfolds (mm) from the triceps, subscapular, suprailiac, abdominal, front thigh and medial calf were measured with a Harpenden® skinfold caliper with a precision of 0.2 mm, and the sum of these was calculated. The girth (cm) of the relaxed arm, mid-thigh and calf were measured with a narrow, metallic and inextensible Lufkin® model W606PM measuring tape with a precision of 1 mm. Fat mass (FM) was calculated using the Carter equation [47] and the muscle mass (MM) was calculated by the Lee equation [48].

2.7. Dietary Assessment

All participants were informed about proper food tracking by the same trained nutritionist-dietitians. They instructed the athletes on two validated methods of dietary recall [49]. The first method was to complete a food frequency questionnaire (FFQ) at T2, which has been previously utilized for sport populations [50]. This FFQ, which asked the participants to recall their average intake based on certain “frequency” categories over the previous 10 weeks, included 139 different foods and drinks, arranged by food type and meal pattern. Frequency categories were based on the number of times an item was consumed per day, per week or per month. Daily consumption of energy (kcal) and each macronutrient in grams was determined by dividing the reported intake by the frequency in days.

The second method was a 7-day dietary recall at T1 and T2 of the 7 days before the test, which was used to examine whether the results of this recall were similar to that of the FFQ. If the participants had weighed food, then that data was used for the recall; however, if the weighing of food was not possible, serving sizes consumed were estimated from the standard weight of food items or by determining portion size by looking at a book with 500 photographs of foods. Food values were then converted into intake of total energy, macronutrients and micronutrients by a validated software package (Easy diet[®], online version 2019). This software package was developed by the Spanish Centre for Higher Studies in Nutrition and Dietetics (CESNID), which is based on Spanish tables of food composition [51]. Likewise, total energy and macronutrients intake in relation to each kg of BM was calculated for each athlete.

2.8. Statistical Analysis

All variables are presented as the mean \pm SD. The percentage change between the T1 and post-treatment T2 tests of the variables was calculated as Δ (%): $((T2 - T1)/T1 \times 100)$ for each study group.

The Shapiro–Wilk test was used to determine the normality of the data ($n < 50$) for all continuous variables, therefore, we used parametric formulas. Besides, Levene’s test was applied to measure the homoscedasticity of the variances. Mean levels of Δ (%), dietary intake and power output from incremental tests at T1 and T2 were compared across supplementation consumption categories using one-way analysis of covariance with the supplementation category as the fixed factor. A Bonferroni post-hoc test was applied for pairwise comparisons among groups. Likewise, differences from T1 to T2 in each group were assessed by a parametric dependent *t*-test. Moreover, a two-way repeated measure of analysis of variance (ANOVA) test was used to examine interaction effects (time \times supplementation group) among the supplementation groups (PLG, CrMG, HMBG and CrM-HMBG) for power output by incremental testing.

Effect size among participants were calculated using a partial eta square (η^2p). Since this measure is likely to overestimate the effect size, the values were interpreted according to Ferguson [52], which indicates no effect if $0 \leq \eta^2p < 0.05$, a minimum effect if $0.05 \leq \eta^2p < 0.26$, a moderate effect if $0.26 \leq \eta^2p < 0.64$, and a strong effect if $\eta^2p \geq 0.64$.

The following calculation was used to express the variables in the CrMG, HMBG and CrM-HMBG as a percentage change from the PLG condition [53].

Normalized change (%) = (Treatment (CrMG, HMBG or CrM-HMBG)/Control (PLG) – 1) \times 100.

Using the additive model, stressor (in fact all variable) interactions are categorized as either synergistic or antagonistic. Significant interactions suggest the effect size of one variable has been reduced (antagonistic) or accentuated (synergistic) by the presence (or effect) of the other whereas additive effects are shown during net stressor independence, i.e., no interaction [53]. Interactions are best illustrated using variables A and B: (1) Additive: A and B combined = A + B individually; (2) Synergistic: A and B combined > A + B individually; (3) Antagonistic: A and B combined < A + B individually; (4) Nullifying: A and B combined = A or B individually; (5) Multiplicative: A and B combined = A \times B individually.

The analyses were performed using SPSS software version 24.0 (SPSS, Inc., Chicago, IL, USA) and Microsoft Excel (Microsoft Excel Software version 19). Statistical significance was indicated when $p < 0.05$.

3. Results

During the study, the athletes did not show significant statistical differences ($p > 0.05$) in energy and macronutrient intake among groups (Table 1). The energy intake was approximately 45 kcal/kg in each study group. In the same way, the intake of proteins, fats and CHO was ≈ 1.9 g/kg; 1.5 g/kg and 6.0 g/kg, respectively, in each study group.

Table 1. Energy and macronutrient intake in the four study groups during 10 weeks of study.

	PLG	CrMG	HMBG	CrM-HMBG
Energy (kcal)	3340 \pm 350	3358 \pm 358	3290 \pm 410	3375 \pm 395
Energy (kcal/kg)	44 \pm 6	45 \pm 6	45 \pm 6	45 \pm 7
Protein (g)	143 \pm 24	145 \pm 26	141 \pm 29	143 \pm 26
Protein (%)	17 \pm 3	18 \pm 3	18 \pm 3	17 \pm 3
Protein (g/kg)	2 \pm 0	2 \pm 1	2 \pm 1	2 \pm 0
Animal protein (g)	84 \pm 23	86 \pm 25	81 \pm 19	86 \pm 25
Vegetal protein (g)	60 \pm 11	58 \pm 15	62 \pm 19	59 \pm 17
Fat (g)	101 \pm 20	103 \pm 21	99 \pm 21	101 \pm 22
Fat (%)	27 \pm 4	28 \pm 4	27 \pm 5	28 \pm 5
Fat (g/kg)	2 \pm 0	2 \pm 1	2 \pm 1	2 \pm 1
Total carbohydrates (g)	450 \pm 55	460 \pm 60	459 \pm 58	453 \pm 61
Carbohydrates (%)	54 \pm 5	55 \pm 5	55 \pm 6	54 \pm 5
Carbohydrates (g/kg)	6 \pm 1	6 \pm 1	6 \pm 1	6 \pm 1
Fe (mg)	24 \pm 7	24 \pm 7	24 \pm 7	23 \pm 8

Data are expressed as mean \pm standard deviation. PLG: Placebo group; CrMG: Creatine monohydrate supplemented group; HMBG: HMB supplemented group; CrM-HMBG: Creatine monohydrate plus HMB supplemented group.

Table 2 displays the anthropometry and body composition data at both T1 and T2 in each of the study groups. There were no significant differences in the group-by-time in body mass, the sum of six skinfolds, fat mass (kg) and muscle mass (kg) ($p > 0.05$). Regarding body mass and fat mass, a significant decrement was found in all groups during the study ($p < 0.05$). However, a significant decrement was found in muscle mass in the PLG between the two study moments (T1: 33.3 \pm 4.3 vs. T2: 32.7 \pm 4.1 kg; $p < 0.05$; $\eta^2 p = 0.160$).

Table 3 shows the values for the power obtained at different intensities during the incremental test at both T1 and T2. Significant differences ($p < 0.05$) can be seen in the group-by-time for W8 ($p < 0.001$; $\eta^2 p = 0.766$). However, there were no significant differences in the group-by-time for WAT and W4.

In addition, significant increases ($p < 0.05$) between study points were observed for WAT in the HMBG (T1: 238 \pm 40 vs. T2: 253 \pm 35 W; $\eta^2 p = 0.168$) and the CrM-HMBG (T1: 238 \pm 22.73 vs. T2: 264 \pm 19 W; $\eta^2 p = 0.168$), for W4 in CrM-HMBG (T1: 236 \pm 29 vs. T2: 263 \pm 19 W; $\eta^2 p = 0.181$) and for W8 in the CrMG (T1: 300 \pm 20 vs. T2: 314 \pm 21 W; $\eta^2 p = 0.766$), HMBG (T1: 295 \pm 45 vs. T2: 314 \pm 49 W; $\eta^2 p = 0.766$) and CrM-HMBG (T1: 288 \pm 21 vs. T2: 331 \pm 35 W; $\eta^2 p = 0.766$).

Despite there being no group differences in terms of the mean for absolute power output at T1 and T2, the ANOVA did detect significant interactions regarding percentage change (Figure 1). Specifically, there were significantly greater increases in favor of the CrMG (+5 \pm 2%); HMBG (+6 \pm 3%) and CrM-HMBG (+15 \pm 5%) compared to the PLG (−1 \pm 3%) at T1 to T2 for W8. In addition, there were significantly greater increases in favor of the CrM-HMBG compared to the CrMG and HMBG ($p < 0.01$).

Table 2. Anthropometry and body composition data in the four study groups at the baseline (T1) and after 10 weeks (T2).

Group	T1	T2	P (TxG)	η^2p
Body mass (Kg)				
PLG	81.9 ± 6.3	80.0 ± 5.3 *	0.883	0.028
CrMG	81.2 ± 5.0	78.6 ± 5.4 *		
HMBG	79.9 ± 12.2	77.6 ± 11.1 *		
CrM-HMBG	78.0 ± 4.7	75.5 ± 4.5 *		
6 Skinfolds (mm)				
PLG	51.6 ± 18.9	48.8 ± 16.3	0.790	0.050
CrMG	57.0 ± 6.5	54.7 ± 14.1		
HMBG	54.2 ± 11.4	52.0 ± 13.0		
CrM-HMBG	50.4 ± 7.1	47.4 ± 4.9		
Fat mass (kg)				
PLG	7.3 ± 2.7	6.4 ± 2.3 *	0.207	0.255
CrMG	6.1 ± 0.7	5.8 ± 0.7 *		
HMBG	6.8 ± 1.3	6.3 ± 1.1 *		
CrM-HMBG	6.4 ± 0.8	6.2 ± 0.4 *		
Muscle mass (kg)				
PLG	33.3 ± 4.3	32.7 ± 4.1 *	0.442	0.160
CrMG	31.5 ± 1.9	31.2 ± 2.3		
HMBG	32.8 ± 1.5	32.2 ± 1.1		
CrM-HMBG	34.6 ± 1.3	34.6 ± 1.1		

Data are expressed as mean ± standard deviation. P (TxG): group-by-time interaction ($p < 0.05$). Two-factor repeated-measures ANOVA. *: Significant difference between study points (T1 vs. T2). $p < 0.05$. PLG: Placebo group; CrMG: Creatine monohydrate supplemented group; HMBG: HMB supplemented group; CrM-HMBG: Creatine monohydrate plus HMB supplemented group.

Table 3. Power output at the anaerobic threshold (WAT), 4 (W4) and 8 mmol (W8) in the four study groups at the baseline (T1) and after 10 weeks (T2).

Group	T1	T2	P (TxG)	η^2p
WAT (W)				
PLG	254 ± 34	259 ± 20	0.228	0.168
CrMG	242 ± 21	253 ± 12		
HMBG	238 ± 40	253 ± 35 *		
CrM-HMBG	238 ± 22	264 ± 19 *		
W4 (W)				
PLG	242 ± 16	241 ± 31	0.196	0.181
CrMG	243 ± 20	247 ± 21		
HMBG	238 ± 45	251 ± 36		
CrM-HMBG	236 ± 29	262 ± 19 *		
W8 (W)				
PLG	317 ± 19	314 ± 24	<0.001	0.766
CrMG	300 ± 20	314 ± 21 *		
HMBG	295 ± 45	31 ± 48 *		
CrM-HMBG	288 ± 21	331 ± 35 *		

Data are expressed as mean ± standard deviation. P (TxG): group-by-time interaction ($p < 0.05$). All such occurrences). Two-factor repeated-measures ANOVA. *: Significantly different between study points (T1 vs. T2) $p < 0.05$. PLG: Placebo group; CrMG: Creatine monohydrate supplemented group; HMBG: HMB supplemented group; CrM-HMBG: Creatine monohydrate plus HMB supplemented group.

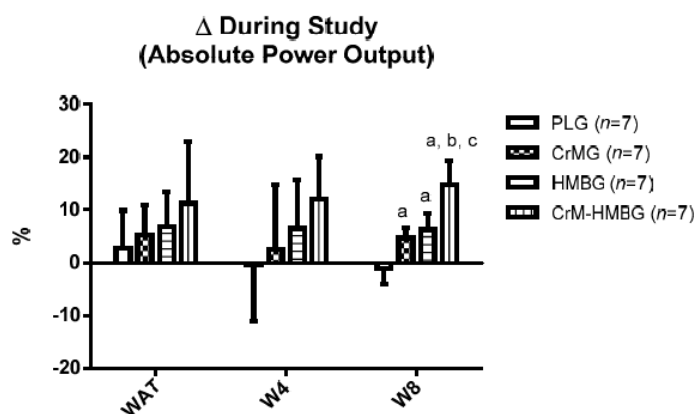


Figure 1. Percentage changes during study on absolute power output of the anaerobic threshold (WAT), 4 mmol/L (W4) and 8 mmol/L (W8) in the four study groups. Data are expressed as means ± standard error. PLG: Placebo group; CrMG: Creatine monohydrate supplemented group; HMBG: HMB supplemented group; CrM-HMBG: Creatine monohydrate plus HMB supplemented group. Δ: ((T2 – T1)/T1) × 100; differences among groups in each test by ANOVA test (*p* < 0.05): a: regarding PLG; b: regarding CrMG; c: regarding HMBG.

The results in Table 4 showed the changes in WAT, W4, and W8 in the all groups supplemented with respect to PLG, after 10 weeks. A synergistic effect of combined supplementation was found for the sum of the two supplements on WAT (CrM-HMBG = 403% vs. CrMG+HMBG = 338%), W4 (CrM-HMBG = 2736% vs. CrMG+HMBG = 1705%) and W8 (CrM-HMBG = 1293% vs. CrMG+HMBG = 878%) using the equation: Synergistic = A and B combined >A + B individually [51].

Also, when comparing the synergism found in the combination CrM-HMBG, it was observed (Table 4) that the most synergistic effect (CrM-HMBG–(CrM+HMBG)) was found on W4.

Table 4. Determining the effect of the combination of supplements.

Group	CrMG (A)	HMBG (B)	A + B	CrM-HMBG	CrM-HMBG – (A + B)
WAT	134%	203%	338%	403%	66%
W4	397%	1309%	1705%	2736%	1031%
W8	364%	514%	878%	1293%	364%

Data are expressed with respect to change to the placebo group (%) = (Treatment group/placebo (PLG) – 1) × 100 [51]. A + B = Sum of the effects of CrMG (A) and HMBG (B) when participants are supplemented independently.

4. Discussion

To the authors’ knowledge, there are only a few studies that examine the combined supplementation of CrM plus HMB [29–34]. Five of these were carried out on intermittent team sports (three in rugby [30,31,34], one in basketball [32] and one in soccer [33]), sports that are characterized by the combination of short, high intensity actions with low intensity actions. The results regarding athletic performance are controversial [29,31–34]. Two of the studies did not find significant differences in aerobic performance (multistage aerobic capacity test) [34], anaerobic performance (60 s maximal anaerobic capacity test) [34], muscular strength (3RM test) [31], muscular endurance (maximum number of chin-ups to exhaustion) [31], peak power (10-s leg power test) [31] and total work (10-s leg power test) [31]. However, three of them showed improvements in peak power and mean power (running anaerobic speed test) [33], in the accumulative strength tests (1-RM) [29] and in the relative maximal and total anaerobic power (triple Wingate test) [32]. These results cannot be compared with those obtained in this study, because this study is the only one that measures aerobic performance in an incremental test (the traditional rowing incremental test), which is a good predictor of aerobic

performance [54]. Moreover, although they are not clear, some authors have indicated that an increase in muscle mass is a benefit of both these supplements [55,56]. However, the present study indicates that supplementation with CrM plus HMB did not show differences in the body composition (muscle mass and fat mass) of athletes. These results might be explained by the high training level of the participants and the strict nutritional control during the study.

The LA is produced in muscle cells during exercise when glucose is oxidized as a process of anaerobic glycolysis [57]. When the intensity of exercise is increased, LA is associated with the impossibility of continuing exercise [57]. Interestingly, the LA decrease when the same intensities are performed, enhances endurance capacity [57]. The supplementation of CrM plus HMB for 10 weeks showed that at the same LA level (8 mmol/L), a significantly greater work power was realized when supplements were taken individually. In the same vein, Zajac et al. [32] and Faramarzi et al. [33] observed a significant increase in relative maximal and total aerobic power as measured by a triple Wingate test, and in peak power measured by a running anaerobic speed test (RAST). However, in contrast with these studies, the most important finding of our research was the synergistic effect of combined supplementation found in all of the performance tests (WAT, W4, W8). Therefore, the two supplements could use different effect pathways, and as a result, improve performance (expressed as power indices).

Besides, CrM ingestion increased muscle total creatine, and therefore influences the Cr-PCr shuttle, which may lower the LA reduction by lowering glycolysis (saving glycogen) at the same intensity, improving anaerobic capacity [6]. This process consists of resynthesizing phosphocreatine (PCr) through free Cr in mitochondria, which results in a higher energy availability during exercise. Free Cr reacts with the mitochondrial isoenzyme of the creatine kinase (mi-CK), burning an adenosine triphosphate (ATP), in the intermembrane space of mitochondria. The resynthesizing processes PCr, which is used by the myofibril to produce ATP after the reaction with the muscular isoenzyme of the creatine kinase (MM-CK). The ATP used to create the PCr is transformed into ADP that crosses the mitochondrial intermembrane through adenine nucleotide translocase (ANT) to enter into the mitochondrial inner membrane-matrix space, where it reacts with the ATP synthase consuming protons (H^+), reproducing ATP. That metabolite passes through ANT to the intermembrane space to react with another Cr molecule, starting the cycle again [12]. HMB can increase the gene expression of peroxisome proliferator-activated receptor PGC-1 α , changing the fiber transformation type (driving fast-to-slow fiber switch) and improving mitochondrial biogenesis, and hence oxidative function to enhance the aerobic capacity [21]. This process consists of augmenting the density and quantity of the muscle cell mitochondria, angiogenesis, and hence increases fat oxidation, which enhances aerobic capacity [58]. These adaptations could save glycogen, which is a limiting factor during endurance exercise, increasing oxidative capacity and reducing LA production by glycolysis [57].

One of the long-term adaptations to endurance training is the capacity to lower the LA levels [59]. Adaptations are promoted after an adequate recovery period, and there are strategies to accelerate the recovery. These supplements could influence recovery by increasing protein synthesis, decreasing protein degradation, muscle glycogen, and improving membrane repair [6]. In particular, protein synthesis may be augmented by HMB and CrM. HMB can increase this parameter through the stimulation of mTOR phosphorylation by some downstream targets such as p70S6k, eIF4E and eIF2B [60], and by increasing the growth hormone–insulin-like growth factor-1 (GH-IGF-1) axis [61]. Protein degradation can be lowered by HMB, decreasing the catalytic activity of the proteasome [62] and also by increasing the GH-IGF-1 axis [61]. Glycogen storage may be increased by both supplements. HMB can enhance glycogen synthesis [22], probably by accelerating the tricarboxylic acid cycle to provide a carbon skeleton for glycogen synthesis. CrM can also enhance muscle glycogen storage by increasing AMP-activated protein kinase (AMPK) phosphorylation, and hence GLUT4 translocation [13]. Sarcolemma can be repaired by HMB and it is converted in HMG-CoA for cholesterol synthesis, and hence it lowers blood muscular damage marker levels, such as CK and LDH [63,64]. CrM can also

augment protein synthesis, enhancing the myogenic transcription factor MRF-4 [65] and accordingly, differentiating the satellite cells into myonuclei [66].

4.1. Limitations, Strengths and Future Research

The study has limitations, including the small sample size per group ($n = 7$), in total 28 participants; however, it is very difficult to obtain larger samples in elite sports. Moreover, the study was carried out in a controlled environment (randomized, double-blind, nutrition, training), which could be considered a strength of this study. In addition, the diet ingested by the athletes was controlled throughout the intervention process, so that these parameters did not influence the final results and the effects of CrM plus HMB.

For future research, there is a need for more studies on the combination of CrM plus HMB supplementation in endurance-based ~20-min all-out exercise in order to have stronger evidence of the effectiveness of this mix of ergogenic aids on anaerobic lactic performance. Another potential method could be the analysis of the effect of these supplements in women athletes.

4.2. Practical Application

The knowledge gained from this study could have practical application for athletes and practitioners who are interested in improving their endurance capacity, given that the intake over 10 weeks of a combination of HMB (3 g/day) and CrM (0.04 g/kg/day) could improve sport endurance capacity.

In the context of post-exercise recovery, this would result in the improvement of anaerobic performance, i.e., both supplements could have the same effect through different mechanisms of action, which fully justifies their combined use. However, our results are mixed (the improvements in WAT, W4, and W8 were not the same) and are strongly influenced by the state of participants' training, sample size and the specific type of protocol or exercise measurement used. Therefore, more studies are needed to determine the overall efficacy of HMB-CrM supplementation as an ergogenic aid, given the controversy surrounding the studies investigating the effect of HMB-CrM supplementation on anaerobic response-induced muscular performance.

5. Conclusions

In summary, oral supplementation with a combination of 0.04 g/kg/day (≈ 3 g/day) of CrM plus 3 g/day of HMB over 10 weeks of training showed a synergistic effect on aerobic power (measured as WAT, W4, and W8) during an incremental test (related to individual lactate threshold). Although both supplements showed a possible improvement in the incremental test separately, a synergic effect was shown when CrM plus HMB are mixed, likely due to their different physiological mechanisms.

Author Contributions: J.F.-L. and J.M.-A.: conceived and designed the research, analyzed and interpreted the data, drafted the paper, and approved the final version submitted for publication. J.C.-G. and D.F.-L.: analyzed and interpreted the data, critically reviewed the paper and approved the final version submitted for publication. A.C.M., A.C.-G. and P.L.-G.: critically reviewed the paper. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: The authors declare no funding sources.

Acknowledgments: The authors thank the rowers and research assistants involved in this investigation for their participation, enthusiasm, and cooperation. In addition, the authors also want to thank the Foundation Institute of Studies of Health Sciences of Castilla y León (IECSCYL) for their collaboration on infrastructure and computer support.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

1. Thomas, D.T.; Erdman, K.A.; Burke, L.M. American College of Sports Medicine Joint Position Statement. Nutrition and Athletic Performance. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2016**, *48*, 543–568. [PubMed]

2. Calleja-González, J.; Mielgo-Ayuso, J.; Sampaio, J.; Delextrat, A.; Ostojic, S.M.; Marques-Jiménez, D.; Arratibel, I.; Sánchez-Ureña, B.; Dupont, G.; Schelling, X.; et al. Brief ideas about evidence-based recovery in team sports. *J. Exerc. Rehabil.* **2018**, *14*, 545–550. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Rodriguez, N.R.; DiMarco, N.M.; Langley, S. Position of the American Dietetic Association, Dietitians of Canada, and the American College of Sports Medicine: Nutrition and athletic performance. *J. Am. Diet. Assoc.* **2013**, *109*, 509–527.
4. Jeukendrup, A.E. Periodized Nutrition for Athletes. *Sports Med.* **2017**, *47*, 51–63. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Terrados, N.; Mielgo-Ayuso, J.; Delextrat, A.; Ostojic, S.M.; Calleja-Gonzalez, J. Dietetic-nutritional, physical and physiological recovery methods post-competition in team sports. A review. *J. Sports Med. Phys. Fit.* **2018**. epub ahead of print.
6. Kreider, R.B.; Kalman, D.S.; Antonio, J.; Ziegenfuss, T.N.; Wildman, R.; Collins, R.; Candow, D.G.; Kleiner, S.M.; Almada, A.L.; Lopez, H.L. International Society of Sports Nutrition position stand: Safety and efficacy of creatine supplementation in exercise, sport, and medicine. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **2017**, *14*, 18. [[CrossRef](#)]
7. Wilson, J.M.; Fitschen, P.J.; Campbell, B.; Wilson, G.J.; Zanchi, N.; Taylor, L.; Wilborn, C.; Kalman, D.S.; Stout, J.R.; Hoffman, J.R.; et al. International Society of Sports Nutrition Position Stand: Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB). *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **2013**, *10*, 6. [[CrossRef](#)]
8. Silva, V.R.; Belozo, F.L.; Micheletti, T.O.; Conrado, M.; Stout, J.R.; Pimentel, G.D.; Gonzalez, A.M. β -Hydroxy- β -Methylbutyrate Free Acid Supplementation May Improve Recovery and Muscle Adaptations After Resistance Training: A Systematic Review. *Nutr. Res.* **2017**, *45*, 1–9. [[CrossRef](#)]
9. Stecker, R.A.; Harty, P.S.; Jagim, A.R.; Candow, D.G.; Kerksick, C.M. Timing of ergogenic aids and micronutrients on muscle and exercise performance. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **2019**, *16*, 37. [[CrossRef](#)]
10. Chwalbinska-Moneta, J. Effect of creatine supplementation on aerobic performance and anaerobic capacity in elite rowers in the course of endurance training. *Int. J. Sport. Exerc. Metab.* **2003**, *13*, 173–183. [[CrossRef](#)]
11. Mielgo-Ayuso, J.; Calleja-Gonzalez, J.; Marques-Jiménez, D.; Caballero-García, A.; Córdova, A.; Fernández-Lázaro, D. Effects of creatine supplementation on athletic performance in soccer players: A systematic review and meta-analysis. *Nutrients* **2019**, *11*, 757. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
12. Saks, V.A.; Kongas, O.; Vendelin, M.; Kay, L. Role of the creatine/phosphocreatine system in the regulation of mitochondrial respiration. *Acta Physiol. Scand.* **2000**, *168*, 635–641. [[CrossRef](#)]
13. Roberts, P.A.; Fox, J.; Peirce, N.; Jones, S.W.; Casey, A.; Greenhaff, P.L. Creatine ingestion augments dietary carbohydrate mediated muscle glycogen supercompensation during the initial 24 h of recovery following prolonged exhaustive exercise in humans. *Amino Acids* **2016**, *48*, 1831–1842. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Young, J.F.; Bertram, H.C.; Theil, P.K.; Petersen, A.G.D.; Poulsen, K.A.; Rasmussen, M.; Malmendal, A.; Nielsen, N.C.; Vestergaard, M.; Oksbjerg, N. In vitro and in vivo studies of creatine monohydrate supplementation to Duroc and Landrace pigs. *Meat Sci.* **2007**, *76*, 342–351. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Arazi, H.; Rahmaninia, F.; Hosseini, K.; Asadi, A. Effects of short term creatine supplementation and resistance exercises on resting hormonal and cardiovascular responses. *Sci. Sports* **2015**, *30*, 105–109. [[CrossRef](#)]
16. Oliver, J.M.; Joubert, D.P.; Martin, S.E.; Crouse, S.F. Oral creatine supplementation's decrease of blood lactate during exhaustive, incremental cycling. *Int. J. Sport Exerc. Metab.* **2013**, *23*, 252–258. [[CrossRef](#)]
17. Bassit, R.; Pinheiro, C.; Vitzel, K.; Sproesser, A.; Silveira, L.; Curi, R. Effect of short-term creatine supplementation on markers of skeletal muscle damage after strenuous contractile activity. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2010**, *108*, 945–955. [[CrossRef](#)]
18. Durkalec-Michalski, K.; Jeszka, J.; Podgórski, T. The effect of a 12-week beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation on highly-trained combat sports athletes: A randomised, double-blind, placebo-controlled crossover study. *Nutrients* **2017**, *9*, 753. [[CrossRef](#)]
19. Durkalec-Michalski, K.; Jeszka, J. The efficacy of a β -hydroxy- β -methylbutyrate supplementation on physical capacity, body composition and biochemical markers in elite rowers: A randomised, double-blind, placebo-controlled crossover study. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **2015**, *12*, 31. [[CrossRef](#)]
20. Lambole, C.R.H.; Royer, D.; Dionne, I.J. Effects of β -hydroxy-beta-methylbutyrate on aerobic-performance components and body composition in college students. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* **2007**, *17*, 56–69. [[CrossRef](#)]
21. He, X.; Duan, Y.; Yao, K.; Li, F.; Hou, Y.; Wu, G.; Yin, Y. β -Hydroxy- β -methylbutyrate, mitochondrial biogenesis, and skeletal muscle health. *Amino Acids* **2016**, *48*, 653–664. [[CrossRef](#)]

22. Pinheiro, C.; Gerlinger-Romero, F.; Guimarães-Ferreira, L.; de Souza, A.J.; Vitzel, K.; Nachbar, R.; Nunes, M.; Curi, R. Metabolic and functional effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation in skeletal muscle. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2012**, *112*, 2531–2537. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Holeček, M. Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation and skeletal muscle in healthy and muscle-wasting conditions. *J. Cachexia Sarcopenia Muscle* **2017**, *8*, 529–541. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Wilson, G.J.; Wilson, J.M.; Manninen, A.H. Effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) on exercise performance and body composition across varying levels of age, sex, and training experience: A review. *Nutr. Metab.* **2008**, *5*, 1. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Tinsley, G.M.; Givan, A.H.; Graybeal, A.J.; Villarreal, M.I.; Cross, A.G. β -Hydroxy β -methylbutyrate free acid alters cortisol responses, but not myofibrillar proteolysis, during a 24-h fast. *Br. J. Nutr.* **2018**, *119*, 517–526. [[CrossRef](#)]
26. Knitter, A.E.; Panton, L.; Rathmacher, J.A.; Petersen, A.; Sharp, R. Effects of β -hydroxy- β -methylbutyrate on muscle damage after a prolonged run. *J. Appl. Physiol.* **2000**, *89*, 1340–1344. [[CrossRef](#)]
27. Kresta, J.Y.; Oliver, J.M.; Jagim, A.R.; Fluckey, J.; Riechman, S.; Kelly, K.; Meininger, C.; Mertens-Talcott, S.U.; Rasmussen, C.; Kreider, R.B. Effects of 28 days of beta-alanine and creatine supplementation on muscle carnosine, body composition and exercise performance in recreationally active females. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **2014**, *11*, 55. [[CrossRef](#)]
28. Stout, J.; Cramer, J.; Mielke, M.; O’Kroy, J.; Torok, D.; Zoeller, F. Effects of twenty-eight days of beta-alanine and creatine monohydrate supplementation on the physical working capacity at neuromuscular fatigue threshold. *J. Strength Cond. Res.* **2006**, *20*, 928–931.
29. Jówko, E.; Ostaszewski, P.; Jank, M.; Sacharuk, J.; Zieniewicz, A.; Wilczak, J.; Nissen, S. Creatine and β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) additively increase lean body mass and muscle strength during a weight-training program. *Nutrition* **2001**, *17*, 558–566. [[CrossRef](#)]
30. Crowe, M.J.; O’Connor, D.M.; Lukins, J.E. The effects of β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) and HMB/creatine supplementation on indices of health in highly trained athletes. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* **2003**, *13*, 184–197. [[CrossRef](#)]
31. O’Connor, D.M.; Crowe, M.J. Effects of six weeks of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) and HMB/creatine supplementation on strength, power, and anthropometry of highly trained athletes. *J. Strength Cond. Res.* **2007**, *21*, 419–423. [[CrossRef](#)]
32. Zajac, A.; Waskiewicz, Z.; Poprzecki, S.; Cholewa, J. Effects of creatine and HMB supplementation on anaerobic power and body composition in basketball players. *J. Hum. Kinet.* **2003**, *10*, 95–108.
33. Faramarzi, M.; Nuri, R.; Banitalebi, E.; Sciences, S. The effect of short-term combination of HMB (beta-hydroxy-beta-methylbutyrate) and creatine supplementation on anaerobic performance and muscle injury markers in soccer players. *Braz. J. Biomotricity* **2009**, *3*, 366–375.
34. O’Connor, D.M.; Crowe, M.J. Effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate and creatine monohydrate supplementation on the aerobic and anaerobic capacity of highly trained athletes. *J. Sports Med. Phys. Fit.* **2003**, *43*, 64–68.
35. Fernández-Landa, J.; Calleja-González, J.; León-Guereño, P.; Caballero-García, A.; Córdova, A.; Mielgo-Ayuso, J. Effect of the combination of creatine monohydrate plus HMB supplementation on sports performance, body composition, markers of muscle damage and hormone status: A systematic review. *Nutrients* **2019**, *11*, 2528. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Thomas, D.T.; Erdman, K.A.; Burke, L.M. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics, Dietitians of Canada, and the American College of Sports Medicine: Nutrition and Athletic Performance. *J. Acad. Nutr. Diet.* **2016**, *116*, 501–528. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. World Medical Association. World Medical Association Declaration of Helsinki: Ethical principles for medical research involving human subjects. *J. Am. Med. Assoc.* **2013**, *310*, 2191–2194. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
38. Ingham, S.; Whyte, G.; Jones, K.; Nevill, A. Determinants of 2000 m rowing ergometer performance in elite rowers. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2002**, *88*, 243–246.
39. Beelen, M.; Burke, L.M.; Gibala, M.J.; van Loon, L.J. Nutritional strategies to promote postexercise recovery. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* **2010**, *20*, 515–532. [[CrossRef](#)]
40. Izquierdo-Gabarron, M.; De Txabarri Expósito, R.G.; Garcia-Pallarís, J.; Sánchez-Medina, L.; De Villarreal, E.S.S.; Izquierdo, M. Concurrent endurance and strength training not to failure optimizes performance gains. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2010**, *42*, 1191–1199. [[CrossRef](#)]

41. Mejuto, G.; Arratibel, I.; Cámara, J.; Puente, A.; Iturriaga, J.; Calleja-González, J. The effect of a 6-week individual anaerobic threshold based programme in a traditional rowing crew. *Biol. Sport* **2012**, *29*, 297–301. [[CrossRef](#)]
42. De Campos Mello, F.; Bertuzzi, R.; Franchini, E.; Candau, R. Rowing ergometer with the slide is more specific to rowers' physiological evaluation. *Res. Sports Med.* **2014**, *22*, 136–146. [[CrossRef](#)]
43. Tanner, R.K.; Fuller, K.L.; Ross, M.L.R. Evaluation of three portable blood lactate analysers: Lactate Pro, Lactate Scout and Lactate Plus. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2010**, *109*, 551–559. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Bell, P.G.; Furber, M.J.W.; Van Someren, K.A.; Antón-Solanas, A.; Swart, J. The Physiological Profile of a Multiple Tour de France Winning Cyclist. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2017**, *49*, 115–123. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
45. Zhou, S.; Weston, S.B. Reliability of using the D-max method to define physiological responses to incremental exercise testing. *Physiol. Meas.* **1997**, *18*, 145–154. [[CrossRef](#)]
46. Stewart, A.; Marfell-Jones, M.; Olds, T.; de Ridder, H. *International Standards for Anthropometric Assessment*, 3rd ed.; ISAK: Lower Hutt, New Zealand, 2011.
47. Carter, J.E.L. Body composition of montreal olympic athletes. In *Physical Structure of Olympic Athletes Part I the Montreal Olympic Games Anthropological Project*; Karger: Basel, Switzerland, 1982; pp. 107–116.
48. Lee, R.C.; Wang, Z.; Heo, M.; Ross, R.; Janssen, I.; Heymsfield, S.B. Total-body skeletal muscle mass: Development and cross-validation of anthropometric prediction models. *Am. J. Clin. Nutr.* **2000**, *72*, 796–803. [[CrossRef](#)]
49. Mielgo-Ayuso, J.; Zourdos, M.C.; Calleja-González, J.; Urdampilleta, A.; Ostojic, S.M. Dietary intake habits and controlled training on body composition and strength in elite female volleyball players during the season. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* **2015**, *40*, 827–834. [[CrossRef](#)]
50. Mielgo-Ayuso, J.; Collado, P.S.; Urdampilleta, A.; Martínez-Sanz, J.M.; Seco, J. Changes induced by diet and nutritional intake in the lipid profile of female professional volleyball players after 11 weeks of training. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **2013**, *10*, 55. [[CrossRef](#)]
51. Farrán, A.; Zamora, R.; Cervera, P. *Tablas de Composición de Alimentos del Centre D'Ensenyament Superior de Nutrició i Dietètica (CESNID)*; Universitat de Barcelona: Barcelona, Spain, 2004.
52. Ferguson, C.J. An Effect Size Primer. A Guide for Clinicians and Researchers. *Prof. Psychol. Res. Pract.* **2009**, *40*, 532–538. [[CrossRef](#)]
53. Lloyd, A.; Hodder, S.; Havenith, G. The interactive effect of cooling and hypoxia on forearm fatigue development. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2015**, *115*, 2007–2018. [[CrossRef](#)]
54. Izquierdo-Gabarrén, M.; Expósito, R.G.; de Villarreal, E.S.; Izquierdo, M. Physiological factors to predict on traditional rowing performance. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2010**, *108*, 83–92. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Wu, H.; Xia, Y.; Jiang, J.; Du, H.; Guo, X.; Liu, X.; Li, C.; Huang, G.; Niu, K. Effect of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation on muscle loss in older adults: A systematic review and meta-analysis. *Arch. Gerontol. Geriatr.* **2015**, *61*, 168–175. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
56. Chilibeck, P.; Kaviani, M.; Candow, D.; Zello, G.A. Effect of creatine supplementation during resistance training on lean tissue mass and muscular strength in older adults: A meta-analysis. *Open Access J. Sports Med.* **2017**, *8*, 213–226. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
57. Stallknecht, B.; Vissing, J.; Galbo, H. Lactate production and clearance in exercise. Effects of training. A mini-review. *Scand. J. Med. Sci. Sports* **1998**, *8*, 127–131. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
58. Baar, K. Nutrition and the adaptation to endurance training. *Sports Med.* **2014**, *44*, 5–12. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
59. Soultanakis, H.; Mandaloufas, M.; Platanou, T. Lactate threshold and performance adaptations to 4 weeks of training in untrained swimmers: Volume vs. intensity. *J. Strength Cond. Res.* **2012**, *26*, 131–137. [[CrossRef](#)]
60. Kornasio, R.; Riederer, I.; Butler-Browne, G.; Mouly, V.; Uni, Z.; Halevy, O. β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) stimulates myogenic cell proliferation, differentiation and survival via the MAPK/ERK and PI3K/Akt pathways. *Biochim. Biophys. Acta Mol. Cell Res.* **2009**, *1793*, 755–763. [[CrossRef](#)]
61. Gerlinger-Romero, F.; Guimarães-Ferreira, L.; Giannocco, G.; Nunes, M.T. Chronic supplementation of beta-hydroxy-beta methylbutyrate (HMB) increases the activity of the GH/IGF-I axis and induces hyperinsulinemia in rats. *Growth Horm. IGF Res.* **2011**, *21*, 57–62. [[CrossRef](#)]
62. Smith, H.J.; Mukerji, P.; Tisdale, M.J. Attenuation of proteasome-induced proteolysis in skeletal muscle by β -hydroxy- β -methylbutyrate in cancer-induced muscle loss. *Cancer Res.* **2005**, *65*, 277–283.

63. Nissen, S.; Sharp, R.; Ray, J.; Rathmacher, J.A.; Rice, D.; Fuller, J.C.; Connelly, A.S.; Abumrad, N. Effect of leucine metabolite β -hydroxy- β -methylbutyrate on muscle metabolism during resistance-exercise training. *J. Appl. Physiol.* **1996**, *81*, 2095–2104. [[CrossRef](#)]
64. Nissen, S.; Abumrad, N. Nutritional role of the leucine metabolite β -hydroxy β -methylbutyrate (HMB). *J. Nutr. Biochem.* **1997**, *8*, 300–311. [[CrossRef](#)]
65. Hespel, P.; Op't Eijnde, B.; Van Leemputte, M.; Ursø, B.; Greenhaff, P.L.; Labarque, V.; Dymarkowski, S.; Van Hecke, P.; Richter, E.A. Oral creatine supplementation facilitates the rehabilitation of disuse atrophy and alters the expression of muscle myogenic factors in humans. *J. Physiol.* **2001**, *536*, 625–633. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
66. Olsen, S.; Aagaard, P.; Kadi, F.; Tufekovic, G.; Verney, J.; Olesen, J.L.; Suetta, C.; Kjær, M. Creatine supplementation augments the increase in satellite cell and myonuclei number in human skeletal muscle induced by strength training. *J. Physiol.* **2006**, *573*, 525–534. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]







© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

APÉNDICE 6

APÉNDICE 6. ARTÍCULO 3

Article

Long-Term Effect of Combination of Creatine Monohydrate Plus β -Hydroxy β -Methylbutyrate (HMB) on Exercise-Induced Muscle Damage and Anabolic/Catabolic Hormones in Elite Male Endurance Athletes

Julen Fernández-Landa ¹, Diego Fernández-Lázaro ², Julio Calleja-González ¹, Alberto Caballero-García ³, Alfredo Córdova ⁴, Patxi León-Guereño ⁵ and Juan Mielgo-Ayuso ^{4,*}

¹ Laboratory of Human Performance, Department of Physical Education and Sport, Faculty of Education, Sport Section, University of the Basque Country, 01007 Vitoria, Spain; julenfdl@hotmail.com (J.F.-L.); julio.calleja.gonzalez@gmail.com (J.C.-G.)

² Department of Cellular Biology, Histology and Pharmacology. Faculty of Health Sciences, University of Valladolid. Campus de Soria, 42003 Soria, Spain; diego.fernandez.lazaro@uva.es

³ Department of Anatomy and Radiology. Faculty of Health Sciences, University of Valladolid, Campus de Soria, 42003 Soria, Spain; albcab@ah.uva.es

⁴ Department of Biochemistry, Molecular Biology and Physiology, Faculty of Health Sciences, Campus de Soria, University of Valladolid, 42003 Soria, Spain; a.cordova@bio.uva.es

⁵ Faculty of Psychology and Education, University of Deusto, Campus of Donostia-San Sebastián, 20012 San Sebastián, Guipúzcoa, Spain; patxi.leon@deusto.es

* Correspondence: juanfrancisco.mielgo@uva.es; Tel.: +34-9-7512-9187

Received: 13 December 2019; Accepted: 13 January 2020; Published: 15 January 2020



Abstract: Creatine monohydrate (CrM) and β -hydroxy β -methylbutyrate (HMB) are widely studied ergogenic aids. However, both supplements are usually studied in an isolated manner. The few studies that have investigated the effect of combining both supplements on exercise-induced muscle damage (EIMD) and hormone status have reported controversial results. Therefore, the main purpose of this study was to determine the effect and degree of potentiation of 10 weeks of CrM plus HMB supplementation on EIMD and anabolic/catabolic hormones. This study was a double-blind, placebo-controlled trial where participants ($n = 28$) were randomized into four different groups: placebo group (PLG; $n = 7$), CrM group (CrMG; 0.04 g/kg/day of CrM; $n = 7$), HMB group (HMBG; 3 g/day of HMB; $n = 7$), and CrM-HMB group (CrM-HMBG; 0.04 g/kg/day of CrM plus 3 g/day of HMB; $n = 7$). Before (baseline, T1) and after 10 weeks of supplementation (T2), blood samples were collected from all rowers. There were no significant differences in the EIMD markers (aspartate aminotransferase, lactate dehydrogenase, and creatine kinase) among groups. However, we observed significant differences in CrM-HMBG with respect to PLG, CrMG, and HMBG on testosterone ($p = 0.006$; $\eta^2p = 0.454$) and the testosterone/cortisol ratio (T/C; $p = 0.032$; $\eta^2p = 0.349$). Moreover, we found a synergistic effect of combined supplementation on testosterone (CrM-HMBG = -63.85% vs. CrMG + HMBG = -37.89%) and T/C (CrM-HMBG = 680% vs. CrMG + HMBG = 57.68%) and an antagonistic effect on cortisol (CrM-HMBG = 131.55% vs. CrMG + HMBG = 389.99%). In summary, the combination of CrM plus HMB showed an increase in testosterone and T/C compared with the other groups after 10 weeks of supplementation. Moreover, this combination presented a synergistic effect on testosterone and T/C and an antagonistic effect on cortisol compared with the sum of individual or isolated supplementation.

Keywords: muscle recovery; exercise-induced muscle damage; lactate dehydrogenase; creatine kinase; testosterone; cortisol; sport nutrition; supplementation

1. Introduction

Elite sports are immensely demanding at the physical and psychological level, and an adequate balance between training load and recovery is needed to achieve maximum performance [1]. Prolonged and excessive training and/or insufficient recovery can result in nonfunctional overreaching or an overtraining syndrome due to increased stress and fatigue and, consequently, impairment or stagnation of performance [1–3]. Therefore, recovery processes are determinants in sport performance [4]. In that way, there are different markers to determine stress and fatigue levels due to the imbalance between training load and recovery, among which biochemical markers of exercise-induced muscle damage (EIMD) and anabolic/catabolic hormones are often used [5].

In particular, an increase in EIMD markers produced by sarcomeric degeneration from Z-disk fragmentation [6,7], such as creatine kinase (CK) and lactate dehydrogenase (LDH), may provide information about elevated muscular and/or metabolic stress [1,8]. Further, the peak of CK, which presents the breakpoint between 300 IU/L and 500 IU/L, can increase until 24–96 h after exercise (up to four-fold rest values) [6,9]. Likewise, LDH can increase until 3–5 days (up to two-fold rest values) [6] depending on different types of exercise/sport [6]. Despite the increase in EIMD being dependent on the training level of athletes, the intensity and duration of the exercise and the density and type of sport are also important [6]. In particular, eccentric and impact activities produce more significant EIMD than concentric and nonimpact activities [6].

On the other hand, testosterone and cortisol hormones, such as anabolic and catabolic hormones, are highly useful for monitoring training adaptation [10]. However, chronic hormone concentrations, not acute, are most suggestive of long-term performance changes [11,12]. Testosterone is an androgenic and anabolic hormone secreted by the hypothalamus–pituitary–testicular axis, and an increase indicates an anabolic state [10,13,14]. Likewise, cortisol is a steroid hormone considered to be an indicative factor of accumulated stress intensity, which is secreted by the hypothalamus–pituitary–adrenal axis, and an increase of it indicates stress accumulation (catabolic state) [10,13,14]. Therefore, an increase in testosterone and a decrease in the resting plasma testosterone/cortisol ratio (T/C) has been proposed as an indicator of adaptation to training, indicating that an increase in T/C shows better adaptation [15,16].

In order to reduce EIMD and modify testosterone and T/C, as indicators of better recovery status [1,17,18], different ergogenic aids, such as creatine monohydrate (CrM) and β -hydroxy β -methylbutyrate (HMB), have been proposed [19,20]. In this sense, CrM has been shown to potentially reduce CK [21–23], LDH [21,23], and cortisol [24] levels and increase testosterone levels [24,25]. The pathway by which CrM may prevent or delay fatigue, reduce EIMD, and improve anabolic/catabolic hormones is that CrM supplementation increases muscle phosphocreatine (PCr) storage [26], and therefore, fatigue-produced muscle degeneration can be prevented or delayed by the CK/PCr system. Likewise, CrM can enhance skeletal muscle glycogen storage [27,28], although the main reason for this increase is unclear [27]. On the other hand, HMB has presented decreases in CK [29–32], LDH [31], and cortisol [32–34] levels and increases in testosterone [35]. The pathway by which HMB could influence the delay of fatigue could be through an enhancement of glycogen synthesis [36] by the inhibition of glycogen synthase kinase-3 (GSK3), which negatively regulates glycogen synthesis [37]. Moreover, HMB can increase protein synthesis by the stimulation of insulin-like growth factor-1 (IGF-1), which stimulates the phosphatidylinositol 3-kinase pathway (PI3K/Akt) pathway that activates mammalian target of rapamycin (mTOR) phosphorylation [38].

Although the effects of supplements are usually investigated in isolation, it is very common to combine different ergogenic aids in the sports field in order to achieve maximum performance [39–41]. In this sense, it could be considered that the effect of this combination might be better than individual

intake. This hypothesis could be supported given that CrM and HMB (both supplements) have shown that they may act in common and in different physiological pathways related to EIMD and anabolic/catabolic hormones status [26,42]. However, it is not clear what the interaction effect (synergistic, multiplicative, antagonistic or nullifying) of multiple treatments given to athletes are [43]. Concretely, CrM plus HMB supplementation has not shown better results than isolated supplementation (CrM alone or HMB alone) on EIMD markers [44–47] or on anabolic/catabolic hormone status [45]. These results could have been influenced by blood sampling timing [46,47] when the main aim was to determine the long-term effect of CrM plus HMB supplementation and there being insufficient time to avoid prior training effects. Likewise, these controversial results could have been predisposed by short-term treatment (from six days to six weeks) [44–46] to achieve particularly an exercise-induced increase in hormone status [11,12].

Thus, the main purpose of this study was to determine the effect and degree of potentiation of long-term (10 weeks) mixing of 3 g/day of HMB plus 0.04 g/kg/day of CrM on EIMD markers (aspartate aminotransferase (AST), LDH, and CK) and anabolic/catabolic hormone status (testosterone, cortisol, and T/C) in elite male traditional rowers during the competitive period. We hypothesized that the mixture of HMB plus CrM could reduce EIMD and enhance endogenous recovery and exercise adaptations more than CRM or HMB separately.

2. Material and Methods

2.1. Participants

Twenty-eight elite male traditional rowers (30.43 ± 4.65 years and 59.92 mL/min/kg of $VO_{2\max}$) belonging to one of the 12 teams that make up the rowing First Trainer League in Spain (ACT) participated in this study (22 rowers from the first team and 6 from the reserve team). Although some rowers had minor injuries and missed some training sessions, all of them completed the entire study rigorously without any drop-out. These rowers performed the same loads and number of training sessions with a daily duration of 1.5 h/day, 6 days/week for 10 weeks during the in-season period (competitive period). Thus, a personal diet was developed for each participant by the certified nutritionist of the rowing club. The diets for adequate athletic performance were suggested using energy and macronutrient guidelines [48] considering the training volume, training load, and individual characteristics of each rower.

All athletes completed a medical history questionnaire and electrocardiographic and cardiopulmonary examinations. No participants had any diseases and they did not smoke, drink alcohol, or take other medications, which would alter the hormone response. Likewise, to avoid the possible interference of other nutritional supplements on the different variables measured in this investigation, a 2-week washout period was introduced.

All rowers were fully informed of all procedures of the study and signed a statement of informed consent. This research was designed in accordance with the Declaration of Helsinki (2008) and the Fortaleza update (2013) and was approved by the Human Research Ethics Committee at the Basque Country University, Vitoria (M10/2017/247).

2.2. Experimental Protocol and Evaluation Plan

This study was designed as a randomized, double-blind, and placebo-controlled study to evaluate the influence of 10-week oral supplementation of CrM plus HMB on EIMD markers and anabolic/catabolic hormones in this sport population.

The participants were randomly assigned to four groups (placebo group (PLG), CrM group (CrMG), HMB group (HMBG), and CrM-HMB group (CrM-HMBG)) by an independent statistician using a stratified block design: PLG ($n = 7$; height: 184.9 ± 2.4 cm and body mass: 81.9 ± 6.3 kg), CrMG ($n = 7$; 0.04 g/kg/day of CrM; height: 183.4 ± 7.8 cm and body mass: 81.2 ± 5.0 kg), HMBG ($n = 7$; 3 g/day of HMB; height: 185.5 ± 10.1 cm and body mass: 79.9 ± 12.2 kg), and CrM-HMBG ($n = 7$; 0.04

g/kg/day of CrM plus 3 g/day of HMB; height: 181.6 ± 4.3 cm and body mass: 78.0 ± 4.7 kg). The CrM and HMB supplementation dosages were selected in accordance with a supplementation standard for athletic performance [34,35] and elite rowers [41]. All participants attended the laboratory at 8:30 a.m. for blood collection at two different times during the intervention period: (1) at baseline (T1) and (2) post-treatment after 10 weeks of supplementation (T2).

All rowers performed six exercise sessions per week during the 10 study weeks (which were exactly the same for all participants), with a duration of 1.5 h/day (distributed as 60% aerobic work on a traditional boat, 30% resistance training in a gym, and 10% complementary training: injury prevention, core stability, and articular mobility). These exercise sessions included two rowing official races or equivalent training per week. To homogenize the competition load, rowers who did not participate in the competitions held a training session with the same load as a competition. The athletes completed a total of 96.6 h of exercise during the study.

All participants took either the placebo or supplements during the 6 days of weekly training mixed with a chocolate recovery shake (1 g/kg of carbohydrates and 0.3 g/kg protein) within half an hour of finishing the exercise [49]. No masking substance was added to the PLG, given that athletes were unaware of the recovery shake content. On the off day, all rowers ingested the same dose of supplements 30 min before going to bed in a chocolate shake provided by an independent nutritionist. The athletes and researchers did not know the supplementation (double-blind) that they were taking because an independent nutritionist from the rowing club made the recovery shakes with the individual supplementation and verified that all rowers complied with the protocol of ingesting the supplements. The CrM was acquired from Creapure® powder and the HMB from HMB-Ca FullGas® (Fullgas Sport, S.L, 20115 Astigarraga, Guipúzcoa, Spain).

2.3. Blood Collection

For the evaluation of muscle damage markers and hormonal parameters in T1 and T2, antecubital venous blood samples were collected from all athletes. All samples were taken in basal conditions after, at least, 12 h of fasting and 36 h without exercise. To standardize blood samples in T1 and T2, the rowers performed the same training session in the last training session prior to blood sample collection. This training session consisted predominantly of concentric activity (lower muscle damage) and was of short duration (30 min) during the “regeneration microcycle”. The “regeneration microcycle” is designed to remove fatigue, not only physical, but also mental, and to restore energy that has been used during previous microcycle [50]. On T1 and T2, the rowers arrived at the laboratory at 8:30 a.m. and the blood samples were collected after being at rest for 30 min.

Biochemical EIMD serum markers (AST, CK, and LDH) were measured using Hitachi 917 automatic autoanalyzer (Hitachi Ltd., Tokyo, Japan).

Hormone status was measured in this study (testosterone and cortisol) through different methods. Serum testosterone was measured by commercially available enzyme immunosorbent assay kits (DRG testosterone ELISA kit®, DRG Instruments GmbH, Marburg/Lahn, Germany). The intra-assay coefficient of variation (CV) was 4.3% and the CV between the trials was 9.2%. Otherwise, for serum cortisol measurement, an enzyme-linked fluorescent assay with the aid of a multiparametric analyzer (Minividas®, Biomerieux, Marcy l’Etoile, France) was used. The substrate 4-methylumbelliferone was used and fluorescence emission was performed at 450 nm, and after stimulation, at 370 nm. The intra-assay CV was 5.7% and the CV of the intermediate assay was 6.2%.

Finally, the T/C was calculated from the results of testosterone and cortisol by dividing testosterone by cortisol.

2.4. Anthropometry and Body Composition

The International Society for the Advancement of Kinanthropometry (ISAK) protocol [51] was used for anthropometrical measures and all participants were measured by the same internationally certified anthropometrist (ISAK Level 3) at both T1 and T2.

All measurements were taken twice and if the difference between both measures exceeded 5% for an individual skinfold, a third measurement was taken. For the analysis, when the measurement was taken twice, the mean was chosen, and when three measurements were taken, the median was chosen. Height (cm) was measured using a SECA[®] measuring rod (Mod. 220; SECA Medical, Bradford, MA, USA), with 1 mm precision, while body mass (BM) (kg) was assessed by a SECA[®] model scale (Mod. 220; SECA Medical, Bradford, MA, USA), with 0.1 kg precision. Body mass index (BMI) was calculated using the equation $BM/height^2$ (kg/m²). Girths (cm) (flexed arm, mid-thigh, and calf girth) were measured with a metallic Lufkin[®] W606PM measuring tape (Cooper Tools, Apex, NC, USA), with a precision of 1 mm. Finally, the sum of six skinfolds (mm) (triceps, subscapular, suprailiac, abdominal, front thigh, and medial calf) was determined by a Harpenden[®] skinfold caliper (Harpenden Skinfold Caliber, British Indicators Ltd., London, UK), with 0.2 mm precision. Fat mass and muscle mass percentages were predicted using the Carter [52] and Lee [53] equations, respectively.

2.5. Dietary Assessment

The team nutritionist informed all rowers about proper food tracking and instructed them on two different validated methods of dietary recall [54]. The first method consisted of completing a food frequency questionnaire (FFQ) at T2, which has been used previously in other athlete populations [55]. The FFQ, which includes 139 different foods and drinks arranged by food type and meal pattern, asked the participants to recall their food intake based on certain “frequency” categories over the previous 10 weeks. Frequency categories consist of how many times an item was consumed per day, week, or month. Daily energy (kcal) and macronutrient (g) consumption was determined by dividing the reported intake by the frequency in days.

The second method was to complete a seven-day dietary recall before T1 and T2 to check if the results of this recall were similar to the FFQ. When rowers weighed the food, the data were used for the recall; however, if it was not possible to weigh the food, serving sizes consumed were estimated through the standard weight of food items or by determining the portion size by looking at a book containing 500 photographs of food.

Food intake was converted to total energy, macronutrient, and micronutrient values by a validated software package (Easy diet[®], online version). Easy diet[®] is based on Spanish tables of food composition [56] and was developed by the Spanish Center for Higher Studies in Nutrition and Dietetics (CESNID). Thus, the total energy and macronutrient intake of each participant was calculated per kilogram of individual body mass.

2.6. Statistical Analysis

The data are presented as means and standard deviations. Statistical significance was indicated when $p < 0.05$. Differences from T1 to T2 in each group were assessed by paired t tests after the normality of the data was established with the Shapiro–Wilk test ($n < 50$) based on parametric or nonparametric data. A two-way repeated measures analysis of variance (ANOVA) test was used to examine interaction effects (time \times supplementation group) among supplementation groups (PLG, CrMG, HMBG, and CrM-HMBG) for power output. A Bonferroni post-hoc test was applied for pairwise comparisons among groups. The percentage changes of the variables studied in each study group between the baseline (T1) and post-treatment (T2) tests were calculated as Δ (%): $((T2 - T1)/T1) \times 100$.

Effect sizes among participants were calculated using partial eta squared (η^2_p). Since this measure is likely to overestimate the effect sizes, the values were interpreted according to Ferguson [57], which is indicated as having no effect if $0 \leq \eta^2_p < 0.05$, a minimum effect if $0.05 \leq \eta^2_p < 0.26$, a moderate effect if $0.26 \leq \eta^2_p < 0.64$, and a strong effect if $\eta^2_p \geq 0.64$ [57].

The following calculation was used to express the variables in conditions CrMG, HMBG, and CrM-HMBG as a percentage change from condition PLG [43]:

Normalized change (%) = (treatment (CrMG, HMBG, or CrM-HMBG)/control (PLG) – 1) × 100.

Using the additive model, stressor (in fact, all variables) interactions were categorized as either synergistic or antagonistic. Significant interactions suggest that the effect size of one variable has been reduced (antagonistic) or accentuated (synergistic) by the presence (or effect) of the other, whereas additive effects are shown during net stressor independence (i.e., no interaction) [43]. Interactions are best illustrated using variables A and B: (1) additive = A and B combined = A + B individually; (2) synergistic = A and B combined > A + B individually; (3) antagonistic = A and B combined < A + B individually; (4) nullifying = A and B combined = A or B individually; (5) multiplicative = A and B combined = A × B individually.

The analyses were performed using SPSS® software version 24.0 (SPSS, Inc., Chicago, Illinois, USA) and Microsoft Excel® version 19 (Microsoft Corporation, Redmond, WA, USA).

3. Results

During the study, the athletes did not show significant statistical differences ($p > 0.05$) in energy and macronutrient intake values among groups (Table 1).

Table 1. Energy and macronutrient intake in each study group during 10 weeks of study.

	PLG	CrMG	HMBG	CrM-HMBG
Energy (kcal/kg)	44.8 ± 6.2	45.0 ± 6.6	44.7 ± 6.3	45.1 ± 7.0
Protein (g/kg)	1.9 ± 0.4	2.0 ± 0.6	1.9 ± 0.7	1.9 ± 0.4
Fat (g/kg)	1.5 ± 0.4	1.6 ± 0.5	1.5 ± 0.6	1.6 ± 0.6
Carbohydrates (g/kg)	6.0 ± 0.9	6.1 ± 1.1	6.1 ± 1.3	6.0 ± 1.2

Data are expressed as mean ± standard deviation. PLG: placebo group, CrMG: creatine monohydrate group, HMBG: β-hydroxy β-methylbutyrate group.

Body mass, BMI, muscle mass percentage, and fat mass percentage did not show significant differences ($p > 0.05$) in the group-by-time interaction (Table 2). However, significant decrements ($p < 0.05$) were found between the two study moments for body mass in PLG, CrMG, HMBG, and CrM-HMBG and for BMI in HMBG and CrM-HMBG (Table 2).

Table 2. Anthropometry and body composition of participants.

Group	T1	T2	P (T × G)	η ² p
Body mass (kg)				
PLG	81.9 ± 6.3	80.0 ± 5.3 *	0.883	0.028
CrMG	81.2 ± 5.0	78.6 ± 5.4 *		
HMBG	79.9 ± 12.2	77.6 ± 11.1 *		
CrM-HMBG	78.0 ± 4.7	75.5 ± 4.5 *		
BMI (kg/m ²)				
PLG	24.1 ± 2.4	23.6 ± 2.0	0.951	0.016
CrMG	24.1 ± 1.5	23.4 ± 1.6 *		
HMBG	24.1 ± 1.8	23.3 ± 1.8 *		
CrM-HMBG	23.7 ± 1.6	22.9 ± 1.4 *		
Muscle mass (%)				
PLG	40.3 ± 2.5	41.0 ± 2.3	0.789	0.104
CrMG	40.6 ± 2.4	41.7 ± 2.7		
HMBG	41.1 ± 2.0	41.7 ± 2.2		
CrM-HMBG	41.2 ± 2.4	42.1 ± 2.3		

Table 2. Cont.

Group	T1	T2	P (T × G)	η^2p
Fat mass (%)				
PLG	8.9 ± 1.5	8.7 ± 1.4	0.884	0.030
CrMG	8.6 ± 1.7	8.4 ± 1.8		
HMBG	8.7 ± 1.5	8.4 ± 1.1		
CrM-HMBG	8.5 ± 1.6	8.2 ± 1.4		

Data are expressed as mean ± standard deviation. P (T × G): group-by-time interaction ($p < 0.05$, all such occurrences). Two-factor repeated-measures ANOVA. * Significantly different between phases (T1 vs. T2); $p < 0.05$. BMI: body mass index.

Table 3 shows significant differences in the group-by-time interaction for testosterone ($p = 0.006$; $\eta^2p = 0.454$) and T/C ($p = 0.32$; $\eta^2p = 0.349$). Moreover, significant increases between T1 and T2 ($p < 0.05$) were observed for cortisol in PLG, CrM, HMBG, and CrM-HMBG, for testosterone in CrM-HMBG, and for T/C in CrM and HMBG (Table 3).

Table 3. Participant's testosterone and cortisol hormone status.

Group	T1	T2	P (T × G)	η^2p
Testosterone (ng/dL)				
PLG	5.22 ± 0.56	4.56 ± 0.84	0.006	0.454
CrMG	4.27 ± 0.73	4.20 ± 1.12		
HMBG	4.90 ± 0.95	5.60 ± 1.56		
CrM-HMBG	4.91 ± 0.87	5.97 ± 1.23 *		
Cortisol (µg/dL)				
PLG	15.87 ± 2.99	17.93 ± 2.08 *	0.451	0.121
CrMG	15.75 ± 2.78	20.80 ± 6.13 *		
HMBG	16.32 ± 1.29	23.30 ± 2.97 *		
CrM-HMBG	18.18 ± 1.13	22.95 ± 1.89 *		
Testosterone/cortisol ratio				
PLG	33.77 ± 12.03	25.97 ± 6.58 *	0.032	0.349
CrMG	28.04 ± 7.49	22.17 ± 9.90 *		
HMBG	30.19 ± 6.33	23.94 ± 4.98 *		
CrM-HMBG	27.07 ± 5.12	26.07 ± 5.29		

Data are expressed as mean ± standard deviation. P (T × G): group-by-time interaction ($p < 0.05$, all such occurrences). Two-way repeated-measures ANOVA. * Significantly different between two phases (T1 vs. T2), $p < 0.05$.

Figure 1 shows significant differences in testosterone percentage change ($p = 0.006$; $\eta^2p = 0.457$) among PLG and CrMG, HMBG, and CrM-HMBG and among CrM-HMBG and CrMG and HMBG ($p > 0.05$). In addition, T/C percentage change showed statistical differences ($p = 0.029$; $\eta^2p = 0.399$) among CrM-HMBG and PLG as well as CrMG and HMBG. However, there were no significant differences among groups in cortisol percentage change ($p = 0.568$; $\eta^2p = 0.094$).

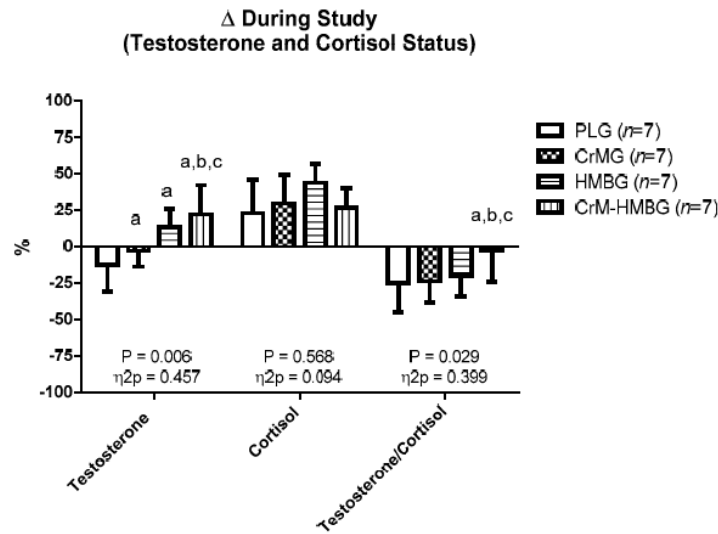


Figure 1. Percentage changes during the study in cortisol and testosterone hormone status and testosterone/cortisol ratio in the four study groups. Data are expressed as mean ± standard error. Δ: ((T2 – T1)/T1) × 100; differences among groups in each test by ANOVA test (*p* < 0.05): a: regarding PLG; b: regarding CrMG; c: regarding HMBG.

EIMD markers (AST, LDH, and CK) did not present statistically significant differences in the group-by-time interaction between T1 and T2 (Table 4). However, significant increases between T1 and T2 were observed for AST in PLG (T1: 17.83 ± 2.79 vs. T2: 22.00 ± 1.55).

Table 4. Exercise-induced muscle damage markers in the four study groups at baseline (T1) and after 10 weeks (T2).

Group	T1	T2	P (T × G)	η^2_p
AST (U/L)				
PLG	17.83 ± 2.79	22.00 ± 1.55*	0.648	0.077
CrMG	22.33 ± 9.65	23.50 ± 8.89		
HMBG	18.00 ± 3.29	19.00 ± 6.96		
CrM-HMBG	21.33 ± 4.68	24.67 ± 7.30		
CK (U/L)				
PLG	190.50 ± 94.79	216.83 ± 97.35	0.641	0.079
CrMG	277.00 ± 171.40	256.33 ± 130.38		
HMBG	147.50 ± 63.91	243.33 ± 286.42		
CrM-HMBG	201.67 ± 105.64	260.50 ± 159.28		
LDH (U/L)				
PLG	293.17 ± 36.23	310.17 ± 22.98	0.792	0.049
CrMG	337.00 ± 47.69	337.33 ± 39.20		
HMBG	340.17 ± 27.64	342.17 ± 45.35		
CrM-HMBG	339.17 ± 24.77	337.83 ± 60.72		

Data are expressed as mean ± standard deviation. P (T × G): group-by-time interaction (*p* < 0.05, all such occurrences). Two-way repeated-measures ANOVA. * Significantly different between two phases (T1 vs. T2), *p* < 0.05. AST: aspartate aminotransferase, CK: creatine kinase, LDH: lactate dehydrogenase.

Figure 2 shows that there were no significant differences in the percentage change of any EIMD markers between T1 and T2 (*p* > 0.05).

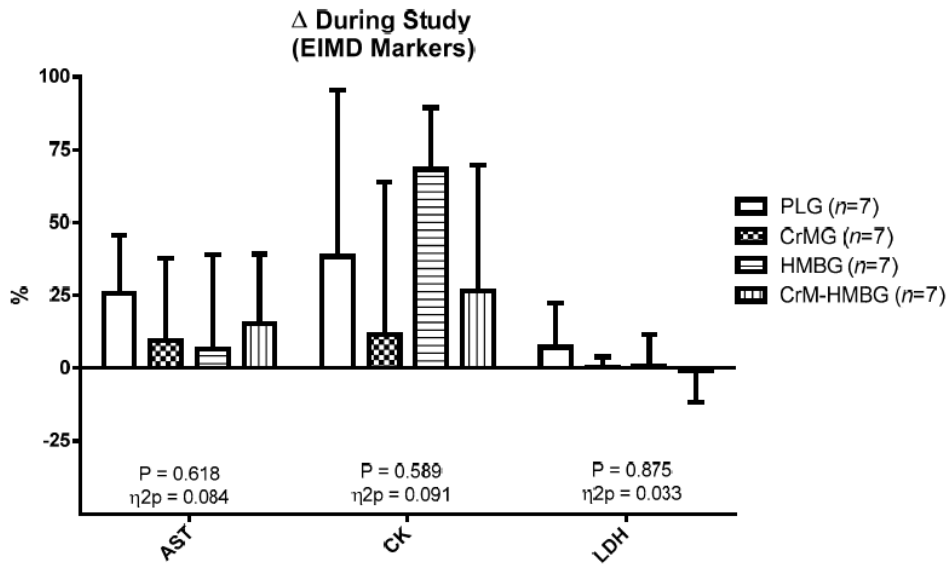


Figure 2. Percentage changes in exercise-induced muscle damage (EIMD). Data are expressed as mean ± standard error. Δ: $((T2 - T1)/T1) \times 100$; differences among groups in each test by ANOVA test.

Table 5 shows that an antagonistic effect of combined supplementation was found in comparison with the sum of both supplements isolated on cortisol (CrM-HMBG = 131.55% vs. CrMG + HMBG = 389.99%). Likewise, a synergistic effect of combined supplementation was found with respect to the sum of the two supplements separately on testosterone (CrM-HMBG = -63.85% vs. CrMG + HMBG = -37.89%) and on T/C (CrM-HMBG = 680% vs. CrMG + HMBG = 57.68%).

Table 5. Determination of the effect of the combination of supplements.

Group	% Change to Placebo	Effect
Cortisol		
CrMG	145.15%	Antagonistic 131.55 < 389.99
HMBG	238.84%	
CrMG + HMBG	389.99%	
CrM-HMBG	131.55%	
Testosterone		
CrMG	4.21%	Synergistic -63.85 > -37.85
HMBG	-42.1%	
CrMG + HMBG	-37.89%	
CrM-HMBG	-63.85%	
Testosterone/cortisol ratio		
CrMG	32.88%	Synergistic 680 > 57.68
HMBG	24.80%	
CrMG + HMBG	57.68%	
CrM-HMBG	680%	

4. Discussion

This study was carried out to determine the effect and degree of potentiation of long-term (10 weeks) combination of 3 g/day of HMB plus 0.04 g/kg/day of CrM supplementation on EIMD markers and testosterone and cortisol status in elite male traditional rowers. The main result revealed an increase in testosterone and a better post-treatment T/C ratio in CrM-HMBG compared with PLG, CrMG, and

HMBG after 10 weeks of supplementation. Moreover, the combination of CrM plus HMB presented a synergistic effect on testosterone and T/C and an antagonistic effect on cortisol compared with the sum of individual or isolated supplementation (CrM + HMB). However, the results did not display any differences in EIMD markers (AST, CK, and LDH) among the different supplemented groups.

Maximum performance requires an adequate balance between training loads and recovery that allows improving muscle recovery and avoiding fatigue [58]. To control this balance in order to recover and/or avoid fatigue, there are several variables utilized, such as markers of EIMD and anabolic/catabolic hormones [1,6,17,18]. Although there is an acute increase in EIMD markers after exercise, especially with an eccentric component [6], the maintenance of high EIMD values long term could be indicative of an imbalance between load and recovery, which could reflect chronic fatigue or overtraining [1]. In particular, to better understand this balance, several authors have proposed that anabolic/catabolic hormone status is changed after exercise due to an acute effect [13]. However, in the long term, an increase in testosterone level would indicate better endogenous recovery [59], and an increase in cortisol would indicate increased stress and/or fatigue [10]. Therefore, some authors have indicated that the T/C ratio is an objective indicator of the fatigue status of an athlete [15]. Thus, a decrease in this ratio in the long term would indicate greater stress, while an increase would indicate better recovery [14].

In order to recover faster and delay or avoid fatigue, some supplements have been proposed, such as CrM or HMB [19,20]. Given that CrM increases muscle creatine stores, the creatine-phosphocreatine Cr-PCr shuttle is positively affected. One of the main roles of the Cr-PCr system is the cellular energy transport system (the Cr-PCr shuttle). This shuttle presents a higher energy availability during exercise through free Cr speeding up PCr resynthesis in the mitochondria. In the mitochondria outer membrane, Cr reacts with the mitochondrial isoenzyme of creatine kinase (mi-CK) using adenosine triphosphate (ATP) and turning it in adenosine diphosphate (ADP). The ADP is resynthesized into ATP inside the mitochondrial inner membrane/matrix space after reacting with ATP synthase (consuming protons (H^+)). Therefore, the ATP is reused again in the mi-CK and Cr reaction, restarting the shuttle [60]. On the other hand, HMB can augment mitochondrial biogenesis by an increase in the gene expression of peroxisome proliferator-activated receptor (PGC-1 α), which contributes to better oxidative function and hence enhances the aerobic capacity [61]. Mitochondrial biogenesis consists of increasing the quantity and density of muscle cell mitochondria, angiogenesis, and fat oxidation [62]. Therefore, these adaptations could help save glycogen when same training intensities are performed, making them one of the most important limiting factors during exercise [63].

Despite the promising results, the effect on EIMD and hormonal status, and the different metabolic pathways of action of CrM and HMB supplementation, the combination of these supplements has presented controversial results for EIMD and hormone status [64]. These studies did not find differences in CK [44–47] and LDH [44,47] levels among supplemented groups. In fact, in the study by Jowko et al. (20 g/day for the first seven days and 10 g/day for the rest of the days of CrM and 3 g/day of HMB) [46], CK levels remained elevated following three weeks of CrM/HMBG supplementation, suggesting that CrM antagonized the CK-lowering effect of HMB. However, the results obtained in this study on EIMD did not show an antagonistic effect on EIMD markers. Moreover, there were no differences between T1 and T2 in any of the study groups that could indicate an adequate balance between training loads and recovery [4,20]. These differences could be influenced by blood sampling timing when the objective is to determine the long-term effect of CrM plus HMB supplementation and insufficient time is provided to avoid EIMD acute increases post-exercise [45]. Likewise, these differences might be due to the fact that this type of sport entails short (approximately 20 min) cyclic activity, in contrast to endurance and team sports (high eccentric activity with heavy weights) [44–47,65] that produce a higher rate of muscle damage [31,66].

Regarding anabolic/catabolic hormones, to our knowledge, only one study has analyzed the anabolic/catabolic hormone status when mixed supplements were ingested. Crowe and O'Connor did not show significant differences in cortisol or testosterone levels after six weeks of CrM plus

HMB supplementation despite receiving identical supplementation dosages (3 g/day of CrM and 3 g/day of HMB) [45]. In the present study, although a significant increase in cortisol levels was observed in all study groups between T1 and T2, only a significant increase in testosterone levels was observed in CrM-HMBG. These changes resulted in a significant decrease of the T/C ratio in PLG, CrMG, and HMBG, which indicates greater accumulated stress/fatigue [67]. The differences in testosterone levels could be due to the duration of the intervention (six weeks in Crowe and O'Connor's study [45] vs. 10 weeks in the present study), given that testosterone requires long-term intervention to produce significant changes [11,12]. Moreover, the results presented on testosterone and T/C could mean better training adaptation/recovery mediated by the combination of CrM and HMB. This result might have facilitated a better aerobic power in CrM-HMBG during an incremental test (related to individual lactate threshold) [68]. These results were corroborated by a synergistic effect of combined supplementation (CrM plus HMB) on testosterone and T/C and an antagonistic effect on cortisol. However, after reviewing the literature, to the best of our knowledge, the mechanisms by which the combination of CrM plus HMB increase testosterone and the T/C ratio are unclear; hence, further investigation is needed.

4.1. Limitations, Strengths, and Future Research

The results of this experimental study should be treated with caution due to the small sample size in total ($n = 28$) and in each study group ($n = 7$), which is common in elite sports because it is very difficult to obtain larger samples in this population. However, the methodology of a study is its most important strength. Given that this study was a double-blind, placebo-controlled trial with nutrition control, it was able to avoid possible factors that could influence the CrM plus HMB combination effect. Moreover, as another strength of this study, the diet ingested by the athletes was controlled as well as the body composition throughout the intervention process, so that these parameters did not influence the final results.

Future research should analyze the cellular signal/gene mechanism by which both combined supplements are synergistic on testosterone level. Moreover, it should analyze how this combination affects the female population or anaerobic sports, given that this study only focused on males and measured aerobic performance.

4.2. Practical Application

This study could be interesting for nutritionists and physicians who want to provide better post-training or post-competition recovery for their athletes. Taking into account that 0.04 g/kg/day of CrM plus 3 g/day of HMB for 10 weeks could improve muscle and endogenous recovery, supplementation phases could be considered in the training phases in which there is a greater load.

5. Conclusions

In summary, the combination of 3 g/day of CrM plus 0.04 g/kg/day of HMB for 10 weeks showed an increase in testosterone and T/C compared with placebo or isolated supplementation. Moreover, this combined supplementation revealed a synergistic effect on testosterone and T/C and an antagonistic effect on cortisol, which are positive results for athletes' recovery. However, this combination did not present any differences in EIMD. Therefore, the combined use of these two ergogenic supplements could promote faster muscle recovery from high-intensity activity but without preventing muscle damage.

Author Contributions: J.M.-A. and J.F.-L.: conception and design, analysis and interpretation of the data, drafting of the paper, critical review, and approval of the final version submitted for publication. D.F.-L., J.C.-G. and P.L.-G.: analysis and interpretation of the data, drafting of the paper, critical review, and approval of the final version submitted for publication. A.C.-G. and A.C.: conception and design, drafting of the paper, critical review, and approval of the final version submitted for publication. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: The authors declare no funding sources.

Acknowledgments: The authors thank the rowers, coaches, and research assistants involved in this investigation for their participation, enthusiasm, and cooperation. In addition, the authors also want to thank the Foundation Institute of Studies of Health Sciences of Castilla y León (IECSCYL) for their collaboration on infrastructures and computer support.

Conflicts of Interest: The authors declare no conflict of interest.

References

- Meeusen, R.; Duclos, M.; Foster, C.; Fry, A.; Gleeson, M.; Nieman, D.; Raglin, J.; Rietjens, G.; Steinacker, J.; Urhausen, A.; et al. Prevention, diagnosis, and treatment of the overtraining syndrome: Joint consensus statement of the European College of Sport Science and the American College of Sports Medicine. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2013**, *45*, 186–205. [[CrossRef](#)]
- Mielgo-Ayuso, J.; Calleja-González, J.; Urdampilleta, A.; León-Guereño, P.; Córdova, A.; Caballero-García, A.; Fernandez-Lázaro, D. Effects of vitamin D supplementation on haematological values and muscle recovery in elite male traditional rowers. *Nutrients* **2018**, *10*, 1968. [[CrossRef](#)]
- Córdova, A.; Mielgo-Ayuso, J.; Fernandez-Lázaro, C.I.; Caballero-García, A.; Roche, E.; Fernández-Lázaro, D. Effect of iron supplementation on the modulation of iron metabolism, muscle damage biomarkers and cortisol in professional cyclists. *Nutrients* **2019**, *11*, 500. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Terrados, N.; Mielgo-Ayuso, J.; Delextrat, A.; Ostojic, S.M.; Calleja-González, J. Dietetic-nutritional, physical and physiological recovery methods post-competition in team sports. *J. Sports Med. Phys. Fitness* **2019**, *59*, 415–428. [[CrossRef](#)]
- Djaoui, L.; Haddad, M.; Chamari, K.; Dellal, A. Monitoring training load and fatigue in soccer players with physiological markers. *Physiol. Behav.* **2017**, *181*, 86–94. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Brancaccio, P.; Lippi, G.; Maffulli, N. Biochemical markers of muscular damage. *Clin. Chem. Lab. Med.* **2010**, *48*, 757–767. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Orfanos, Z.; Gödderz, M.P.O.; Soroka, E.; Gödderz, T.; Rumyantseva, A.; van der Ven, P.F.M.; Hawke, T.J.; Fürst, D.O. Breaking sarcomeres by in vitro exercise. *Sci. Rep.* **2016**, *6*, 19614. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Urhausen, A.; Gabriel, H.; Kindermann, W. Impaired pituitary hormonal response to exhaustive exercise in overtrained endurance athletes. *Med. Sci. Sports Exerc.* **1998**, *30*, 407–414. [[CrossRef](#)]
- Brancaccio, P.; Maffulli, N.; Limongelli, F.M. Creatine kinase monitoring in sport medicine. *Br. Med. Bull.* **2007**, *81–82*, 209–230. [[CrossRef](#)]
- Martínez, A.; Seco Calvo, J.; Tur Marí, J.; Abecia Inchaurregui, L.; Orella, E.; Biescas, A. Testosterone and cortisol changes in professional basketball players through a season competition. *J. Strength Cond. Res.* **2010**, *24*, 1102–1108. [[CrossRef](#)]
- Häkkinen, K.; Pakarinen, A.; Alén, M.; Komi, P.V. Serum hormones during prolonged training of neuromuscular performance. *Eur. J. Appl. Physiol. Occup. Physiol.* **1985**, *53*, 287–293. [[CrossRef](#)]
- Mielgo-Ayuso, J.; Zourdos, M.; Urdampilleta, A.; Calleja-González, J.; Seco, J.; Córdova, A. Relationship of long-term macronutrients intake on anabolic-catabolic hormones in female elite volleyball players. *Nutr. Hosp.* **2017**, *34*, 1155–1162. [[CrossRef](#)]
- Slimani, M.; Cheoura, F.; Moalla, W.; Baker, J.S. Hormonal responses to a rugby match: A brief review. *J. Sports Med. Phys. Fitness* **2018**, *58*, 707–713.
- Mastorakos, G.; Pavlatou, M.; Diamanti-Kandarakis, E.; Chrousos, G.P. Exercise and the stress system. *Hormones (Athens)* **2005**, *4*, 73–89.
- Greenham, G.; Buckley, J.D.; Garrett, J.; Eston, R.; Norton, K. Biomarkers of physiological responses to periods of intensified, non-resistance-based exercise training in well-trained male athletes: A systematic review and meta-analysis. *Sport. Med.* **2018**, *48*, 2517–2548. [[CrossRef](#)]
- Hayes, L.D.; Grace, F.M.; Baker, J.S.; Sculthorpe, N. Exercise-induced responses in salivary testosterone, cortisol, and their ratios in men: A meta-analysis. *Sport. Med.* **2015**, *45*, 713–726. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Vervoorn, C.; Quist, A.; Vermulst, L.; Erich, W.; de Vries, W.; Thijssen, J. The behaviour of the plasma free testosterone/cortisol ratio during a season of elite rowing training. *Int. J. Sports Med.* **1991**, *12*, 257–263. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Urhausen, A.; Gabriel, H.; Kindermann, W. Blood hormones as markers of training stress and overtraining. *Sport. Med.* **1995**, *20*, 251–276. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

19. Thomas, D.T.; Erdman, K.A.; Burke, L.M. American College of Sports Medicine Joint Position Statement. Nutrition and Athletic Performance. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2016**, *48*, 543–568.
20. Calleja-González, J.; Mielgo-Ayuso, J.; Sampaio, J.; Delextrat, A.; Ostojic, S.M.; Marques-Jiménez, D.; Arratibel, I.; Sánchez-Ureña, B.; Dupont, G.; Schelling, X.; et al. Brief ideas about evidence-based recovery in team sports. *J. Exerc. Rehabil.* **2018**, *14*, 545–550. [[CrossRef](#)]
21. Cooke, M.B.; Rybalka, E.; Williams, A.D.; Cribb, P.J.; Hayes, A. Creatine supplementation enhances muscle force recovery after eccentrically-induced muscle damage in healthy individuals. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **2009**, *6*, 13. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Veggi, K.F.T.; Machado, M.; Koch, A.J.; Santana, S.C.; Oliveira, S.S.; Stec, M.J. Oral creatine supplementation augments the repeated bout effect. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* **2013**, *23*, 378–387. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Bassit, R.; Pinheiro, C.; Vitzel, K.; Sproesser, A.; Silveira, L.; Curi, R. Effect of short-term creatine supplementation on markers of skeletal muscle damage after strenuous contractile activity. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2010**, *108*, 945–955. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Arazi, H.; Rahmaninia, F.; Hosseini, K.; Asadi, A. Effects of short term creatine supplementation and resistance exercises on resting hormonal and cardiovascular responses. *Sci. Sport.* **2015**, *30*, 105–109. [[CrossRef](#)]
25. Vatani, D.S.; Faraji, H.; Soori, R.; Mogharnasi, M. The effects of creatine supplementation on performance and hormonal response in amateur swimmers. *Sci. Sport.* **2011**, *26*, 272–277. [[CrossRef](#)]
26. Kreider, R.B.; Kalman, D.S.; Antonio, J.; Ziegenfuss, T.N.; Wildman, R.; Collins, R.; Candow, D.G.; Kleiner, S.M.; Almada, A.L.; Lopez, H.L. International Society of Sports Nutrition position stand: Safety and efficacy of creatine supplementation in exercise, sport, and medicine. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **2017**, *14*, 18. [[CrossRef](#)]
27. Roberts, P.A.; Fox, J.; Peirce, N.; Jones, S.W.; Casey, A.; Greenhaff, P.L. Creatine ingestion augments dietary carbohydrate mediated muscle glycogen supercompensation during the initial 24 h of recovery following prolonged exhaustive exercise in humans. *Amino Acids* **2016**, *48*, 1831–1842. [[CrossRef](#)]
28. van Loon, L.J.; Murphy, R.; Oosterlaar, A.M.; Cameron-Smith, D.; Hargreaves, M.; Wagenmakers, A.J.M.; Snow, R. Creatine supplementation increases glycogen storage but not GLUT-4 expression in human skeletal muscle. *Clin. Sci.* **2004**, *106*, 99–106. [[CrossRef](#)]
29. Wilson, J.M.; Lowery, R.P.; Joy, J.M.; Walters, J.A.; Baier, S.M.; Fuller, J.C.; Stout, J.R.; Norton, L.E.; Sikorski, E.M.; Wilson, S.M.C.; et al. β -Hydroxy- β -methylbutyrate free acid reduces markers of exercise-induced muscle damage and improves recovery in resistance-trained men. *Br. J. Nutr.* **2013**, *110*, 538–544. [[CrossRef](#)]
30. Panton, L.B.; Rathmacher, J.A.; Baier, S.; Nissen, S. Nutritional supplementation of the leucine metabolite beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (hmb) during resistance training. *Nutrition* **2000**, *16*, 734–739. [[CrossRef](#)]
31. Knitter, A.E.; Panton, L.; Rathmacher, J.A.; Petersen, A.; Sharp, R. Effects of β -hydroxy- β -methylbutyrate on muscle damage after a prolonged run. *J. Appl. Physiol.* **2000**, *89*, 1340–1344. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Wilson, J.M.; Lowery, R.P.; Joy, J.M.; Andersen, J.C.; Wilson, S.M.C.; Stout, J.R.; Duncan, N.; Fuller, J.C.; Baier, S.M.; Naimo, M.A.; et al. The effects of 12 weeks of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate free acid supplementation on muscle mass, strength, and power in resistance-trained individuals: A randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2014**, *114*, 1217–1227. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Asadi, A.; Arazi, H.; Suzuki, K. Effects of β -hydroxy- β -methylbutyrate-free acid supplementation on strength, power and hormonal adaptations following resistance training. *Nutrients* **2017**, *9*, 1316. [[CrossRef](#)]
34. Tinsley, G.M.; Givan, A.H.; Graybeal, A.J.; Villarreal, M.L.; Cross, A.G. β -Hydroxy β -methylbutyrate free acid alters cortisol responses, but not myofibrillar proteolysis, during a 24-h fast. *Br. J. Nutr.* **2018**, *119*, 517–526. [[CrossRef](#)]
35. Durkalec-Michalski, K.; Jeszka, J. The effect of β -hydroxy- β -methylbutyrate on aerobic capacity and body composition in trained athletes. *J. Strength Cond. Res.* **2016**, *30*, 2617–2626. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Pinheiro, C.; Gerlinger-Romero, F.; Guimaraes-Ferreira, L.; de Souza, A.J.; Vitzel, K.; Nachbar, R.; Nunes, M.; Curi, R. Metabolic and functional effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation in skeletal muscle. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2012**, *112*, 2531–2537. [[CrossRef](#)]
37. Cross, D.A.E.; Alessi, D.R.; Vandenheede, J.R.; McDowell, H.E.; Hundal, H.S.; Cohen, P. The inhibition of glycogen synthase kinase-3 by insulin or insulin-like growth factor 1 in the rat skeletal muscle cell line L6 is blocked by wortmannin, but not by rapamycin: Evidence that wortmannin blocks activation of the mitogen-activated protein kin. *Biochem. J.* **1994**, *303*, 21–26. [[CrossRef](#)]

38. Gerlinger-Romero, F.; Guimarães-Ferreira, L.; Giannocco, G.; Nunes, M.T. Chronic supplementation of beta-hydroxy-beta methylbutyrate (HMB) increases the activity of the GH/IGF-I axis and induces hyperinsulinemia in rats. *Growth Horm. IGF Res.* **2011**, *21*, 57–62. [[CrossRef](#)]
39. Kresta, J.Y.; Oliver, J.M.; Jagim, A.R.; Fluckey, J.; Riechman, S.; Kelly, K.; Meininger, C.; Mertens-Talcott, S.U.; Rasmussen, C.; Kreider, R.B. Effects of 28 days of beta-alanine and creatine supplementation on muscle carnosine, body composition and exercise performance in recreationally active females. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **2014**, *11*, 55. [[CrossRef](#)]
40. Stout, J.; Cramer, J.; Mielke, M.; O’Kroy, J.; Torok, D.; Zoeller, F. Effects of twenty-eight days of beta-alanine and creatine monohydrate supplementation on the physical working capacity at neuromuscular fatigue threshold. *J. Strength Cond. Res.* **2006**, *20*, 928–931.
41. Boegman, S.; Dziedzic, C. Nutrition and supplements for elite open-weight rowing. *Curr. Sports Med. Rep.* **2016**, *15*, 252–261. [[PubMed](#)]
42. Wilson, J.M.; Fitschen, P.J.; Campbell, B.; Wilson, G.J.; Zanchi, N.; Taylor, L.; Wilborn, C.; Kalman, D.S.; Stout, J.R.; Hoffman, J.R.; et al. International Society of Sports Nutrition Position Stand: Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB). *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **2013**, *10*, 6. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Lloyd, A.; Hodder, S.; Havenith, G. The interactive effect of cooling and hypoxia on forearm fatigue development. *Eur. J. Appl. Physiol.* **2015**, *115*, 2007–2018. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Faramarzi, M.; Nuri, R.; Banitalebi, E.; Sciences, S. The effect of short-term combination of HMB (beta-hydroxy-beta-methylbutyrate) and creatine supplementation on anaerobic performance and muscle injury markers in soccer players. *Braz. J. Biomotricity* **2009**, *3*, 366–375.
45. Crowe, M.J.; O’Connor, D.M.; Lukins, J.E. The effects of β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) and HMB/creatine supplementation on indices of health in highly trained athletes. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* **2003**, *13*, 184–197. [[CrossRef](#)]
46. Jówko, E.; Ostaszewski, P.; Jank, M.; Sacharuk, J.; Zieniewicz, A.; Wilczak, J.; Nissen, S. Creatine and β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) additively increase lean body mass and muscle strength during a weight-training program. *Nutrition* **2001**, *17*, 558–566. [[CrossRef](#)]
47. Zajac, A.; Waskiewicz, Z.; Poprzecki, S.; Cholewa, J. Effects of creatine and HMB supplementation on anaerobic power and body composition in basketball players. *J. Hum. Kinet.* **2003**, *10*, 95–108.
48. Thomas, D.T.; Erdman, K.A.; Burke, L.M. Position of the Academy of Nutrition and Dietetics, Dietitians of Canada, and the American College of Sports Medicine: Nutrition and Athletic Performance. *J. Acad. Nutr. Diet.* **2016**, *116*, 501–528. [[CrossRef](#)]
49. Beelen, M.; Burke, L.M.; Gibala, M.J.; van Loon L, J.C. Nutritional strategies to promote postexercise recovery. *Int. J. Sport Nutr. Exerc. Metab.* **2010**, *20*, 515–532. [[CrossRef](#)]
50. Bosquet, L.; Montpetit, J.; Arvisais, D.; Mujika, I. Effects of tapering on performance: A meta-analysis. *Med. Sci. Sports Exerc.* **2007**, *39*, 1358–1365. [[CrossRef](#)]
51. Stewart, A.; Marfell-Jones, M.; Olds, T.; de Ridder, H. *International Standards for Anthropometric Assessment*, 3rd ed.; ISAK: Lower Hutt, New Zealand, 2011.
52. Carter, J.E.L. Body composition of Montreal Olympic athletes. In *Physical Structure of Olympic Athletes. Part I the Montreal Olympic Games Anthropological Project*; Karger: Basel, Switzerland, 1982; pp. 107–116.
53. Lee, R.; Wang, Z.; Heo, M.; Ross, R.; Janssen, L.; Heymsfield, S. Total-body skeletal muscle mass: Development and cross-validation of anthropometric prediction models. *Am. J. Clin. Nutr.* **2000**, *72*, 796–803. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
54. Mielgo-Ayuso, J.; Zourdos, M.C.; Calleja-González, J.; Urdampilleta, A.; Ostojic, S.M. Dietary intake habits and controlled training on body composition and strength in elite female volleyball players during the season. *Appl. Physiol. Nutr. Metab.* **2015**, *40*, 827–834. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
55. Mielgo-Ayuso, J.; Collado, P.S.; Urdampilleta, A.; Martínez-Sanz, J.M.; Seco, J. Changes induced by diet and nutritional intake in the lipid profile of female professional volleyball players after 11 weeks of training. *J. Int. Soc. Sports Nutr.* **2013**, *10*, 55. [[CrossRef](#)]
56. Farrán, A.; Zamora, R.; Cervera, P. *Tablas de Composición de Alimentos del Centre D’Ensenyament Superior de Nutrició i Dietètica (CESNID)*, 2nd ed.; McGraw-Hill Interamericana: Barcelona, Spain, 2004.
57. Ferguson, C.J. An Effect Size Primer: A Guide for Clinicians and Researchers. *Prof. Psychol. Res. Pract.* **2009**, *40*, 532–538. [[CrossRef](#)]

58. Kellmann, M.; Bertollo, M.; Bosquet, L.; Brink, M.; Coutts, A.J.; Duf, R.; Erlacher, D.; Halson, S.L.; Hecksteden, A.; Heidari, J.; et al. Recovery and performance in sport: Consensus statement. *Int. J. Sports Physiol. Perform.* **2018**, *13*, 240–245. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
59. Banfi, G.; Dolci, A. Free testosterone/cortisol ratio in soccer: Usefulness of a categorization of values. *J. Sports Med. Phys. Fitness* **2006**, *46*, 611–616. [[PubMed](#)]
60. Saks, V.A.; Kongas, O.; Vendelin, M.; Kay, L. Role of the creatine/phosphocreatine system in the regulation of mitochondrial respiration. *Acta. Physiol. Scand.* **2000**, *168*, 635–641. [[CrossRef](#)]
61. He, X.; Duan, Y.; Yao, K.; Li, F.; Hou, Y.; Wu, G.; Yin, Y. β -Hydroxy- β -methylbutyrate, mitochondrial biogenesis, and skeletal muscle health. *Amino Acids* **2016**, *48*, 653–664. [[CrossRef](#)]
62. Baar, K. Nutrition and the adaptation to endurance training. *Sport. Med.* **2014**, *44*, 5–12. [[CrossRef](#)]
63. Stallknecht, B.; Vissing, J.; Galbo, H. Lactate production and clearance in exercise. Effects of training. A mini-review. *Scand. J. Med. Sci. Sports* **1998**, *8*, 127–131. [[CrossRef](#)]
64. Fernández-Landa, J.; Calleja-González, J.; León-Guereño, P.; Caballero-García, A.; Córdova, A.; Mielgo-Ayuso, J. Effect of the combination of creatine monohydrate plus HMB supplementation on sports performance, body composition, markers of muscle damage and hormone status: A systematic review. *Nutrients* **2019**, *11*, 2528. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
65. O'Connor, D.M.; Crowe, M.J. Effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate and creatine monohydrate supplementation on the aerobic and anaerobic capacity of highly trained athletes. *J. Sports Med. Phys. Fitness* **2003**, *43*, 64–68. [[PubMed](#)]
66. Mcneill, C.; Beaven, C.M.; McMaster, D.T.; Gill, N. Eccentric training interventions and team sport athletes. *J. Funct. Morphol. Kinesiol.* **2019**, *4*, 67. [[CrossRef](#)]
67. Brownlee, K.K.; Moore, A.W.; Hackney, A.C. Relationship between circulating cortisol and testosterone: Influence of physical exercise. *J. Sport. Sci. Med.* **2005**, *4*, 76–83.
68. Fernández-Landa, J.; Fernández-Lázaro, D.; Calleja-González, J.; Caballero-García, A.; Córdova, A.; León-Guereño, P.; Mielgo-Ayuso, J. Effect of ten weeks of creatine monohydrate plus HMB supplementation on athletic performance tests in elite male endurance athletes. *Nutrients* **2020**, *12*, 193. [[CrossRef](#)]



© 2020 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

APÉNDICE 7

APÉNDICE 7. COMUNICACIONES CIENTÍFICAS PRESENTADAS DURANTE
EL PROCESO DE TESIS



CONGRESO internacional

3^{er} SALUD Y EJERCICIO FISICO

CERTIFICADO DE COMUNICACIÓN

VALENCIA 28 DE ENERO, 2019

JULEN FERNÁNDEZ DE LANDA

Ha presentado el Trabajo de Investigación con el Título:
“Effect of combination of 2 common supplements: creatine and hmb
in traditional rowing athletes during competitive period”

Coelaborado con los siguientes autores:

Juan Mielgo Ayuso, Iñaki Arratibel y Julio Calleja González

en el 5º Congreso Internacional de Readaptación y

Prevención de Lesiones en la Actividad Física y el Deporte

y 3er Congreso Internacional de Salud y Ejercicio Físico,

con 18h de duración, celebrado en Valencia durante los días 25, 26 y 27 de
Enero de 2019. Para que conste a los efectos oportunos y a petición de la
persona interesada, firmo el presente certificado.

JUAN ÁNGEL MAÑAS MARTÍNEZ
PRESIDENTE
DEL CONGRESO

COI-ENE19-313

ORGANIZADO POR



JAM SPORTS
Integral Sports Training

JOSÉ CASAÑA GRANELL
PRESIDENTE DEL
COMITÉ CIENTÍFICO



NSCA SPAIN CONCEDE 2.0 CEU

NSCA CEU
APPROVED

Alto Rendimiento, Salud y Ejercicio Físico



CERTIFICADO DE COMUNICACIÓN ORAL

La Sociedad Española de Nutrición Deportiva certifica que D./Dña. Julen Fernández de Landa Aguirre ha impartido la COMUNICACIÓN ORAL titulada “Efecto de la suplementación de HMB y creatina en la composición corporal en remo tradicional” , en las

“II Jornadas Anuales de Nutrición Deportiva SENuDe”,

celebradas en Alicante, los días 8 y 9 de febrero de 2019

El Presidente de la SENuDe,
Dr. Juan Marcelo Fernández

El Presidente del Comité Organizador de las II
Jornadas SENuDe, Dr. José Miguel Martínez Sanz



Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante

APÉNDICE 8

APÉNCIDE 8. PREMIOS RECIBIDOS DURANTE EL PROCESO DE TESIS



ORGANIZADO POR



Valencia 28 de Enero de 2019
COI-ENE19-ME3

CERTIFICADO DE COMUNICACIÓN MENCIÓN ESPECIAL

La presentación oral de **Julen Fernández De Landa**, del Trabajo de Investigación **“Effect of combination of 2 common supplements: creatine and hmb in traditional rowing athletes during competitive period”** realizado en colaboración con los autores:

**Juan Mielgo Ayuso, Iñaki Arratibel
y Julio Calleja González,**

ha obtenido la consideración de

MENCIÓN ESPECIAL por su relevancia en el **5º Congreso Internacional de Readaptación y Prevención de Lesiones en la Actividad Física y el Deporte y 3er Congreso Internacional de Salud y Ejercicio Físico**, con 18h de duración, celebrado en Valencia durante los días 25, 26 y 27 de Enero de 2019. Para que conste a los efectos oportunos y a petición de la persona interesada, se firma el presente certificado.

JUAN ÁNGEL MAÑAS MARTÍNEZ
PRESIDENTE
DEL CONGRESO

JOSÉ CASAÑA GRANELL
PRESIDENTE DEL
COMITÉ CIENTÍFICO



NSCA CEU
APPROVED

Alto Rendimiento, Salud y Ejercicio Físico

APÉNDICE 9

APÉNDICE 9. PONENCIAS INVITADAS DURANTE EL PROCESO DE TESIS

Jarduera Fisikoaren eta Kirolaren Zientziak Unibertsitate Masterra
Máster Universitario en Ciencias de la Actividad Física y del Deporte

JAVIER YANCI IRIGOYEN, Responsable del Master Oficial de "Ciencias de la Actividad Física y Deporte", de la Universidad del País Vasco:

CERTIFICA

Que **Julen Fernández de Landa Aguirre**, ha presentado una ponencia invitada titulada **"Efectos de la suplementación con HMB y/o creatina en el rendimiento del remo tradicional o trainera"** en las II JORNADAS DE INTERCAMBIO DE EXPERIENCIAS EN INVESTIGACIÓN organizadas en el Máster arriba mencionado, que se imparte en la Universidad del País Vasco / Euskal Herriko Unibertsitatea (UPV/EHU).

Y para que conste donde proceda, expide la presente certificación en Vitoria-Gasteiz a 07 de Marzo de 2019.



Fdo: JAVIER YANCI IRIGOYEN

Responsable del Máster de Actividad Física y Deporte

Lasarte, 71, CP: 01007, Vitoria - Gasteiz Tel.: +34 945 013500 Fax +34 945 013501

Nik, **Oidui Usabiaga Arruabarrena**, UPV/EHUko Gorputz eta Kirol Hezkuntza Saileko idazkari akademikoa naizenez, honako hau

ZIURTATZEN DUT:

Julen Fernández de Landak, 72832510-C NAN zenbakidunak, parte hartu duela "Eficacia de la combinación de HMB y creatina en deportistas" izeneko gaiarekin 2019ko martxoaren 13an, 10:00 tik 11:30etara Jarduera Fisikoaren eta Kirolaren Zientzietako Graduon ondoko irakasgai honen esparruan: "Análisis del rendimiento deportivo".

Julio Calleja González irakasleak gonbidatuta parte hartu du.

Eta jasota gera dadin, interesdunak hala eskatuta, ziurtagiri hau egin dut Gasteizen, 2020ko otsailaren 10ean.

Oidui Usabiaga Arruabarrena, Secretario del Departamento de Educación Física y Deportiva de la UPV/EHU

CERTIFICA QUE,

Julen Fernández de Landa, con DNI 72832510-C ha participado con el tema "Eficacia de la combinación de HMB y creatina en deportistas", el 13 de marzo de 2019, de 10:00 a 11:30 horas, en el marco de la Asignatura del Grado en Ciencias de la Actividad Física y del Deporte: "Análisis del rendimiento deportivo".

La invitación ha sido realizada por el profesor Julio Calleja González.

Y para que conste, a petición de la persona interesada, se expide el presente certificado en Vitoria-Gasteiz a 10 de febrero de 2020.



Oidui Usabiaga Arruabarrena

Gorputz eta Kirol Hezkuntza Sailaren Idazkari Akademikoa
Secretario Académico del Departamento de Educación Física y Deportiva

APÉNDICE 10

APÉNDICE 10. OTRAS PUBLICACIONES DURANTE EL PROCESO DE TESIS



nutrients

an Open Access Journal by MDPI



CERTIFICATE OF PUBLICATION



Certificate of publication for the article titled:

Effects of Arginine Supplementation on Athletic Performance Based on Energy Metabolism: A Systematic Review and Meta-Analysis

Authored by:

Aitor Viribay; José Burgos; Julen Fernández-Landa; Jesús Seco-Calvo; Juan Mielgo-Ayuso

Published in:

Nutrients 2020, Volume 12, Issue 5, 1300



Academic Open Access Publishing
since 1996

Basel, May 2020

APÉNDICE 11

APÉNDICE 11. ACERCA DEL AUTOR

JULEN FERNÁNDEZ DE LANDA AGUIRRE

Domicilio: Paseo Pintor Obdulio López de Uralde, Nº12, 3ºI,
01008, Vitoria

Teléfono móvil: 617 17 36 87

Fecha de nacimiento: 24/10/1992

Email: julenfdl@hotmail.com



FORMACIÓN ACADÉMICA:

2018-Actualmente: **Doctorando** en Ciencias de la Actividad Física y del Deporte
Universidad del País Vasco

2018-2019: **Master Universitario en Ciencias de la Actividad Física y del Deporte**
(Asignaturas obligatorias)

Universidad del País Vasco

2016-2017: **Máster Universitario en Entrenamiento y Nutrición Deportiva**

Escuela Universitaria Real Madrid – Universidad Europea, Madrid

2011-2016: **Grado en Ciencias de la Actividad Física y del Deporte**

Universidad Europea Miguel de Cervantes, Valladolid

PERFECCIONAMIENTO PROFESIONAL:

2018: **Cálculo estadístico** del tamaño de la muestra aplicado a las ciencias de la actividad física y del deporte

2017: Entrenador de **halterofilia** nivel I, Madrid

2017: Antropometrista **ISAK nivel I**, Madrid

2016: Especialista en Entrenamiento de la Fuerza y Acondicionamiento (**CSCS**) por la NSCA, Madrid

2016: Curso de Nutrición en el Deporte: **Ayudas Ergogénicas** por la Universidad UCAM

2014: Entrenador Personal Certificado (**CPT**) por la NSCA, Valladolid

2014: **Monitor de Natación** por la Real Federación Española de Natación, Valladolid

2014: Curso de **Prevención y Readaptación de Lesiones** por la Universidad UEMC, Valladolid

2011: Curso de **Socorrismo Acuático** por la Cruz Roja Española, Vitoria

2010: Curso de Socorrismo y **Primeros Auxilios** por la Cruz Roja Española, Vitoria

PROFESOR INVITADO

1. Asignatura: “análisis del rendimiento deportivo”

Curso académico: 2018-2019

Duración: 1.5 horas

Centro: Universidad del País Vasco

COMUNICACIONES A CONGRESOS:

Comunicaciones orales:

2019: II Jornadas de Intercambio de Experiencias en Investigación, Vitoria

2019: II Congreso de la Sociedad Española de Nutrición Deportiva, Alicante

2019: V Congreso internacional JAM Sports, Valencia

- **Mención Especial**

2017: VII Jornadas Nacionales de Medicina del Deporte, Zaragoza

- **Accésit a la Mejor Comunicación Ora**

Pósters:

2018: III Congreso Internacional V Congreso Nacional de Hidratación, Bilbao

2019: V Congreso internacional JAM Sports, Valencia

PUBLICACIONES EN REVISTAS CIENTÍFICAS:

1. Viribay A, Burgos J, **Fernández-Landa J**, Seco-Calvo J, Mielgo-Ayuso J.
Effects of Arginine Supplementation on Athletic Performance Based on Energy Metabolism: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*. 2020. May 2; 12(5). pii: E1300. doi: 10.3390/nu12051300.
Factor de Impacto (año)/Tercil/Cuartil: 4,546 (2019)/T1/Q1
Categoría: Posición: Nutrición y dietética: 17/89
2. **Fernández-Landa J**, Fernández-Lázaro D, Calleja-González J, Caballero-García A, Córdova A, León-Guereño P, Mielgo-Ayuso J.
Long-Term Effect of Combination of Creatine Monohydrate Plus β -Hydroxy β -Methylbutyrate (HMB) on Exercise-Induced Muscle Damage and Anabolic/Catabolic Hormones in Elite Male Endurance Athletes.
Biomolecules. 2020 Jan 15;10(1). pii: E140. doi: 10.3390/biom10010140.
Factor de Impacto (año)/Tercil/Cuartil: 4,082 (2019)/T1/Q2
Categoría: Posición: Biochemistry & Molecular Biology: 98/297.
3. **Fernández-Landa J**, Fernández-Lázaro D, Calleja-González J, Caballero-García A, Córdova Martínez A, León-Guereño P, Mielgo-Ayuso J.
Effect of Ten Weeks of Creatine Monohydrate Plus HMB Supplementation on Athletic Performance Tests in Elite Male Endurance Athletes. *Nutrients*. 2020 Jan 10;12(1). pii: E193. doi: 10.3390/nu12010193.
Factor de Impacto (año)/Tercil/Cuartil: 4,546 (2019)/T1/Q1
Categoría: Posición: Nutrición y dietética: 17/89
4. **Fernández-Landa J**, Calleja-González J, León-Guereño P, Caballero-García A, Córdova A, Mielgo-Ayuso J.
Effect of the Combination of Creatine Monohydrate Plus HMB Supplementation on Sports Performance, Body Composition, Markers of Muscle Damage and Hormone Status: A Systematic Review. *Nutrients*. 2019 Oct 20;11(10). pii: E2528. doi: 10.3390/nu11102528.
Factor de Impacto (año)/Tercil/Cuartil: 4,546 (2019)/T1/Q1
Categoría: Posición: Nutrición y dietética: 17/89

5. **Fernández de Landa J**, Strunk R, Fernández J, Jiménez S, Palacios N.
Análisis de los patrones de hidratación de gimnastas de élite. Intervención para mejorar el rendimiento
Arch Med Dep. 2018
-

EXPERIENCIA LABORAL:

Trabajos realizados:

4/2019-2/2020: **Monitor de sala, Actividades Dirigidas y Entrenador Personal**, Sport Center Princesa Yaiza Suite Hotel Resort *****L, Playa Blanca

10/2017-6/2018: **Monitor de Natación** en el Centro Cívico Iparralde, Vitoria

2/2016-9/2016: **Monitor de Sala y Actividades Dirigidas** en el Gimnasio K2, Vitoria

Prácticas:

1/2017-5/2017 (300 horas): **Unidad de Medicina Interna Endocrinología y Nutrición en la AEPSAD, Madrid**

- Mediciones de composición corporal
 - Análisis nutricionales y diseño de la dieta adecuada para deportistas de élite
 - Formación nutricional
-

IDIOMAS:

Euskera: Certificado B2

Inglés: Certificado B2



Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea



EFECTO DE LA SUPLEMENTACIÓN CON B-HIDROXI B- METILBUTIRATO (HMB) Y/O CREATINA EN EL RENDIMIENTO DEL REMO TRADICIONAL DE TRAINERA

Tesis doctoral

Julen Fernández de Landa Aguirre

Directores:

Dr. Juan Mielgo Ayuso

Dr. Julio Calleja González

Vitoria, 2021