

Tesis Doctoral

**Efectos de la suplementación con
 β -Hidroxi- β -Metilbutirato (HMB)
y ejercicio intermitente de alta intensidad
en marcadores de rendimiento deportivo en futbolistas**



DOCTORADO EN FISIOLÓGIA DEL EJERCICIO APLICADA AL CONTROL
DEL RENDIMIENTO DEPORTIVO Y LA SALUD

DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE GRANADA

FRANCISCO JOSÉ ALBERT GARCÍA

2015

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: Francisco José Albert García
ISBN: 978-84-9163-600-7
URI: <http://hdl.handle.net/10481/48560>

A mi familia,
y a mis amigos
por tantos motivos...

“Para realizar un gran sueño, lo primero que hace falta es una gran aptitud para soñar; luego, persistencia que es la fe en el sueño de uno” / Hans Selye



DEPARTAMENTO DE FISIOLÓGIA
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD DE GRANADA



**Efectos de la suplementación con β -Hidroxi- β -Metilbutirato (HMB)
y ejercicio intermitente de alta intensidad en marcadores
de rendimiento deportivo en futbolistas**

Francisco José Albert García

DIRECTORES DE LA TESIS

Manuel J. Castillo Garzón
Doctor en Medicina
Catedrático de Universidad
Universidad de Granada

Ángel Gutiérrez Sainz
Doctor en Medicina
Profesor Titular de Universidad
Universidad de Granada

Francisco B. Ortega Porcel
Doctor en Ciencias del Deporte
Investigador Ramón y Cajal
Universidad de Granada

MIEMBROS DEL TRIBUNAL

José Naranjo Orellana
Profesor Titular de Universidad
Universidad Pablo de Olavide

Antonio Raya Pugnaire
Profesor Titular de Universidad
Universidad de Granada

Juan Luis Fradua Uriondo
Profesor Titular de Universidad
Universidad de Granada

Pilar Sainz de Baranda Andújar
Profesora Contratada Doctora
Universidad de Murcia

José Luis Arjol Serrano
Profesor Contratado Doctor
Universidad San Jorge Zaragoza

FECHA PREVISTA PARA LA DEFENSA

Granada, 03 de Julio de 2015



Prof. Dr. Manuel J. CASTILLO GARZÓN
Catedrático de Universidad

Departamento de Fisiología
FACULTAD DE MEDICINA
Universidad de Granada

MANUEL J CASTILLO GARZÓN, CATEDRÁTICO DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral titulada “Efectos de la suplementación con β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) y ejercicio intermitente de alta intensidad en marcadores de rendimiento deportivo en futbolistas” que presenta D. **FRANCISCO JOSÉ ALBERT GARCÍA** al superior juicio del Tribunal que designa la Universidad de Granada, ha sido realizada bajo mi dirección durante los años 2002-2015, siendo expresión de la capacidad técnica e interpretativa de su autor en condiciones que le hacen merecedor del Título de Doctor, siempre y cuando así lo considere el citado Tribunal.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'M. J. Castillo Garzón'.

Fdo. Manuel J Castillo Garzón
Granada, 01 de Junio de 2015



Prof. Dr. Ángel GUTIÉRREZ SAINZ
Profesor Titular de Universidad

Departamento de Fisiología
FACULTAD DE MEDICINA
Universidad de Granada

ÁNGEL GUTIÉRREZ SÁINZ, PROFESOR TITULAR DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral titulada “Efectos de la suplementación con β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) y ejercicio intermitente de alta intensidad en marcadores de rendimiento deportivo en futbolistas” que presenta D. **FRANCISCO JOSÉ ALBERT GARCÍA** al superior juicio del Tribunal que designa la Universidad de Granada, ha sido realizada bajo mi dirección durante los años 2002-2015, siendo expresión de la capacidad técnica e interpretativa de su autor en condiciones que le hacen merecedor del Título de Doctor, siempre y cuando así lo considere el citado Tribunal.

A handwritten signature in black ink, appearing to read 'Ángel Gutiérrez Sainz'.

Fdo. Ángel Gutiérrez Sainz
Granada, 01 de Junio de 2015



Prof. Dr. Francisco B. ORTEGA PORCEL
Investigador Ramón y Cajal

Departamento Educación Física y Deportiva
FAC. DE CC ACTIVIDAD FÍSICA Y EL DEPORTE
Universidad de Granada

FRANCISCO B. ORTEGA PORCEL, INVESTIGADOR RAMÓN Y CAJAL DE LA
UNIVERSIDAD DE GRANADA

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral titulada “Efectos de la suplementación con β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) y ejercicio intermitente de alta intensidad en marcadores de rendimiento deportivo en futbolistas” que presenta D. **FRANCISCO JOSÉ ALBERT GARCÍA** al superior juicio del Tribunal que designa la Universidad de Granada, ha sido realizada bajo mi dirección durante los años 2002-2015, siendo expresión de la capacidad técnica e interpretativa de su autor en condiciones que le hacen merecedor del Título de Doctor, siempre y cuando así lo considere el citado Tribunal.

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'F. Ortega Porcel', written over a light blue rectangular background.

Fdo. Francisco B. Ortega Porcel
Granada, 01 de Junio de 2015



El doctorando D. FRANCISCO JOSÉ ALBERT GARCÍA y los directores de la tesis D. MANUEL J. CASTILLO GARZÓN, D. ÁNGEL GUTIÉRREZ SAINZ y D. FRANCISCO B. ORTEGA PORCEL:

Garantizamos, al firmar esta tesis doctoral, que el trabajo ha sido realizado por el doctorando bajo la dirección de los directores de la tesis y hasta donde nuestro conocimiento alcanza, en la realización del trabajo, se han respetado los derechos de otros autores a ser citados, cuando se han utilizado sus resultados o publicaciones.

Granada, a 1 de Junio de 2015

Director/es de la Tesis

Doctorando

Fdo.: Manuel J. Castillo Garzón

Fdo.: Francisco José Albert García

Fdo.: Ángel Gutiérrez Sainz

Fdo.: Francisco B. Ortega Porcel

Índice de Contenidos

Portada.....	i
Lista de tablas	xxiii
Lista de figuras	xxv
Proyectos de investigación	xxvii
Resumen	xxix
Abreviaturas	xxx
1. Introducción	35
1.1. Fisiología del β -Hidroxi- β -Metilbutirato (HMB)	37
1.2. Mecanismos de acción del HMB	41
1.3. El HMB y su relación con el rendimiento deportivo	45
1.3.1. Efectos del HMB en deportes de resistencia	49
1.3.2. Efectos del HMB en deportes de fuerza y potencia	50
1.3.3. Efectos del HMB y el daño muscular producido por un esfuerzo intermitente sobre la respuesta neuromuscular	52
1.4. Efectos del HMB sobre biomarcadores sanguíneos	55
1.4.1. Biomarcadores sensibles al daño muscular	55
1.4.2. Respuesta hormonal	56
1.4.3. Índices de inflamación y metabolismo del hierro	57
1.5. Posibles efectos indeseables o secundarios	60
2. Objeto de estudio de la investigación	61
2.1. Hipótesis	63
2.1.1. Hipótesis general	63
2.1.2. Hipótesis específicas	63
2.2. Objetivos	63
2.2.1. Objetivo general	63
2.2.2. Objetivos específicos	63

3. Métodos	65
3.1. Participantes	67
3.2. Diseño experimental y procedimiento	69
3.2.1. Diseño, reclutamiento y aleatorización de la muestra	69
3.2.2. Protocolo del estudio	69
3.2.3. Loughborough Intermittent Shuttle Test modificado (LIST _m) ...	74
3.2.4. Intervención a través de la suplementación con HMB vs. placebo	77
3.2.5. Entrenamiento	77
3.3. Variables estudiadas - Parte I: estudio de la función muscular y medidas de percepción del esfuerzo realizado	79
3.3.1. Batería de pruebas para evaluar la función muscular después del LIST _m	79
3.3.2. Dolor muscular percibido a través de la Escala Visual Análogica con 11 categorías	79
3.3.3. Percepción subjetiva del esfuerzo y de la recuperación	80
3.4. Variables estudiadas - Parte II: estudio hematológico y bioquímico	83
3.4.1. Parámetros hematológicos	84
3.4.1.1. Hemograma completo	84
3.4.2. Parámetros bioquímicos-hematológicos	85
3.4.2.1. Indicadores del metabolismo férrico	85
a) Hierro sérico	85
b) Transferrina	86
c) Índice de saturación de la transferrina	86
d) Ferritina	86
e) Receptor soluble de la transferrina	86
3.4.2.2. Indicadores de miolisis	87
a) Haptoglobina	87
b) Lactato deshidrogenasa	87
c) α -actina	87
d) Creatin kinasa	88

3.4.2.3. Indicadores del estatus vitamínico	88
a) Vitamina B ₁₂	88
b) Ácido fólico	88
c) Homocisteína	89
3.4.3. Parámetros bioquímicos – lipídicos y hormonales	89
3.4.3.1. Perfil lipídico	89
a) Colesterol total	89
b) Triglicéridos	89
c) HDL-colesterol	89
d) LDL-colesterol	90
e) Lp (a)	90
3.4.3.2. Perfil hormonal	90
a) Testosterona	90
b) Hormona de crecimiento	90
c) IGF-1	90
d) Insulina	91
e) Cortisol	91
3.5. Variables estudiadas - Parte III: estudio de otras pruebas complementarias	93
3.5.1. Medidas antropométricas	93
3.5.2. Test de agilidad / habilidad con balón y test de concentración	94
3.5.3. Evaluación funcional para la determinación del consumo máximo de oxígeno	96
3.5.4. Dinamometría manual	97
3.5.5. Lactato sanguíneo	98
3.5.6. Temperatura timpánica	98
3.5.7. Modelo circunplejo y bidimensional de las emociones	98
3.5.8. Ingesta dietética y hábitos alimentarios	99
3.5.9. Test de efectos adversos	100
3.6. Análisis estadístico	101

4. Resultados	103
4.1. Parte I: datos relacionados con la función muscular y medidas de percepción subjetiva	105
4.1.1. Rendimiento y dolor muscular percibido	106
4.1.2. Otras medidas de percepción subjetiva	110
4.2. Parte II: datos relacionados con biomarcadores sanguíneos	111
4.2.1. Degradación de la membrana de la célula muscular	111
4.2.2. Respuesta hormonal	113
4.2.3. Respuesta de los marcadores de inflamación y metabolismo del hierro	115
4.3. Parte III: datos relacionados con otras pruebas complementarias	119
4.3.1. Respuesta funcional de las pruebas complementarias durante el LIST _m	119
4.3.2. Ingesta nutricional	119
4.3.3. Antropometría	119
4.3.4. Respuesta emocional a través del modelo circunplejo y bidimensional	119
4.3.5. Efectos secundarios	119
5. Discusión	121
5.1. Parte I: datos relacionados con la función muscular y medidas de percepción subjetiva	123
5.2. Parte II: datos relacionados con biomarcadores sanguíneos	131
5.3. Parte III: datos relacionados con otras pruebas complementarias	149
5.4. Limitaciones del estudio	153
5.5. Perspectivas de futuro	155
5.5.1. Ampliación del tamaño de la muestra	155
5.5.2. Determinación de la dosis y temporización de la suplementación con HMB	156
5.5.3. Control del entrenamiento, medidas de percepción subjetiva y función muscular	157

5.5.4. Ampliación del tiempo de registro en el diseño experimental de determinadas variables relacionadas con la respuesta hormonal e inflamatoria	158
6. Conclusiones	159
<i>Interpretación de las conclusiones</i>	163
7. Aplicaciones prácticas	165
7.1. Importancia de la suplementación en deportes de alto rendimiento	167
7.2. Resumen del manuscrito “ <i>Guía para la optimización del proceso de recuperación en el fútbol</i> ”	171
Referencias.....	clxxiii
Agradecimientos	cxcix
Apéndices	cciii
· Apéndice I - Consentimiento informado para la participación en el estudio	ccv
· Apéndice II - Consentimiento informado para la participación en la evaluación funcional	ccix
· Apéndice III - Informe de la evaluación funcional	ccxi
· Apéndice IV - Encuesta nutricional	ccxiii
· Apéndice V - Registro e informe antropométrico	ccxix
· Apéndice VI - Registro de los entrenamientos realizados durante la participación en el estudio	ccxxi
· Apéndice VII - Registro de la percepción subjetiva del esfuerzo (<i>Rated Perceived Exertion, RPE</i>) y de la recuperación (<i>Total Quality Recovery, TQR</i>)	ccxxiii

· Apéndice VIII - Registro del dolor percibido a través de la escala visual analógica (<i>Visual Analogue Scale</i> , VAS)	ccxxv
· Apéndice IX - Registro del estado emocional a través del Test Circumplejo de las emociones	ccxxvii
· Apéndice X - Registro de la tolerancia al HMB a través del test de efectos adversos	ccxxix
· Apéndice XI - Registro de valores del test de concentración	ccxxxi
CV resumido	ccxxxiii

Lista de tablas

Tabla 1.	Panel resumen de hematología y bioquímica de las diferentes extracciones sanguíneas realizadas	92
Tabla 2.	Características de los participantes	105
Tabla 3.	Datos sobre el dolor muscular percibido en la musculatura del glúteo afectada por la realización del LIST _m	108
Tabla 4.	Datos de la respuesta en otros marcadores de daño muscular como la α -Actina y haptoglobina	111
Tabla 5.	Datos de la respuesta hormonal en testosterona, IGF-1 y cortisol...	114
Tabla 6.	Datos de la respuesta en la vitamina B ₁₂ como marcador de inflamación	117
Tabla 7.	Datos de la respuesta en la ferritina y la transferrina como marcadores del metabolismo del hierro.....	117

Lista de figuras

Figura 1.	Ruta metabólica del HMB	40
Figura 2.	Mecanismos de acción y efectos del HMB con especial atención a la actividad deportiva	44
Figura 3.	Literatura científica que repasa los efectos de la suplementación con HMB en biomarcadores de salud y rendimiento deportivo.....	47
Figura 4.	Descripción simplificada del papel bioactivo del HMB en la señalización molecular para optimizar la recuperación	48
Figura 5.	Ilustración gráfica del diseño del estudio general	72
Figura 6.	Ilustración gráfica del protocolo y de la temporización de las mediciones realizadas en este estudio	73
Figura 7.	Ilustración gráfica del protocolo del LIST _m	76
Figura 8.	Ilustración gráfica de la temporización de los entrenamientos realizados durante el estudio antes del día de la realización del LIST _m	78
Figura 9.	Ilustración gráfica del test de agilidad / habilidad con balón	95
Figura 10.	Efectos de la suplementación con HMB sobre el índice de fatiga en el tiempo en sprint 20 metros y el salto vertical para HMB vs. placebo durante el rendimiento en el LIST _m	106
Figura 11.	Efectos de la suplementación con HMB sobre el rendimiento en sprint y salto vertical a las 24 horas después de realizar el LIST _m que provoca daño muscular	107
Figura 12.	Efectos de la suplementación con HMB sobre el dolor muscular post-esfuerzo como consecuencia del LIST _m	109
Figura 13.	Efectos de la suplementación con HMB sobre los índices sanguíneos sensibles al daño muscular producido como consecuencia de LIST _m	112
Figura 14.	Efectos de la suplementación con HMB sobre la respuesta hormonal anabólica como consecuencia del LIST _m	115

Figura 15. Efectos de la suplementación con HMB sobre índices sanguíneos de inflamación y la respuesta metabólica del hierro como consecuencia del $LIST_m$	118
Figura 16. Aplicación práctica del papel del HMB como molécula de señalización según el modelo del Síndrome General de Adaptación de Selye	137

Proyectos de investigación

La presente Tesis Doctoral tiene lugar gracias al Proyecto titulado “*Efectos de una suplementación β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) sobre el daño muscular consecutivo a esfuerzo intermitente de alta intensidad en deportistas profesionales*“ concedido por la Junta de Andalucía, Consejería de Turismo, Comercio y Deporte y el Centro Andaluz de Medicina del Deporte (EX.2005/2007).

RESUMEN

Antecedentes. La importancia de entrenar con un grado óptimo de calidad significa, entre otros aspectos, tener el adecuado nivel de recuperación para crear las mejores adaptaciones posibles al entrenamiento. En la actualidad, sustancias legales como el β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) han demostrado poseer un efecto ergogénico sobre el rendimiento en determinadas disciplinas deportivas, principalmente actividades orientadas a la fuerza, sin tener un efecto perjudicial para la salud del atleta. Sin embargo, hasta donde se sabe, no existen estudios que analicen los efectos de este suplemento nutricional en la respuesta neuromuscular, hormonal e inflamatoria en futbolistas después de realizar un ejercicio intermitente de alta intensidad.

Objetivo. La presente Tesis Doctoral tuvo 2 objetivos principales: (1) estudiar el efecto de la suplementación con HMB en la optimización de la función muscular después de esfuerzos de alta intensidad y de naturaleza intermitente; (2) estudiar el efecto del HMB en la respuesta de los marcadores hematológicos y bioquímicos sensibles al daño muscular producido por un esfuerzo intermitente de alta intensidad, junto con otras variables biomédicas.

Método: La función muscular (salto vertical y sprint 20 metros), el dolor muscular percibido post-esfuerzo, los biomarcadores sanguíneos relacionados con el daño muscular y otros aspectos biomédicos fueron medidos antes, durante y/o después de la realización del *Loughborough Intermittent Shuttle Test modificado* (LIST_m) en un grupo de futbolistas (8 hombres; edad=20.6±3.4 años) que se sometieron a un período de suplementación con HMB (3 g/día) o placebo durante 8 días, en un diseño cruzado y a doble ciego.

Resultados: La suplementación con HMB tuvo los siguientes efectos: (1) mejoró la respuesta neuromuscular en el salto vertical (HMB vs. placebo, 2.3cm, $p=0.01$, \pm SEM) y el sprint 20 metros (HMB vs. placebo, -0.09s, $p=0.06$, \pm SEM), así como la percepción del dolor muscular post-esfuerzo (cuádriceps HMB vs. placebo, -0.87, $p=0.04$; tríceps sural HMB vs. placebo, -0.40, $p=0.09$), a las 24 horas después de la realización del LIST_m; (2) en términos generales, no hubo un efecto claro y consistente como resultado de la suplementación con HMB respecto a placebo en los distintos marcadores hematológicos y bioquímicos, aunque se observaron algunas tendencias a la significación que se detallan en esta Tesis Doctoral.

Conclusiones: La suplementación con HMB durante 8 días (3 g/día) antes de realizar un ejercicio intermitente de alta intensidad que incluye desaceleraciones (trabajo excéntrico), tuvo un efecto positivo en indicadores de recuperación de la función neuromuscular, concretamente en el sprint 20 metros y salto vertical, así como sobre el dolor muscular post-esfuerzo percibido (*Delayed Onset Muscular Soreness*, DOMS) en cuádriceps y tríceps sural. Estos resultados, puestos en contexto con la literatura existente, sugieren que el HMB puede desempeñar un papel clave como molécula de señalización iniciando los procesos anabólicos o de recuperación con celeridad para restablecer la homeostasis en el organismo. Esto puede suponer una estrategia de suplementación efectiva para disminuir el riesgo de sufrir lesión en estados de fatiga durante períodos de alta densidad competitiva o de entrenamientos, así como en otras situaciones que puedan generar un entorno altamente catabólico.

ABREVIATURAS

ACA	Aceto acetate / Aceto acetato
AcAC	Aceto Acetyl Coenzyme A / Acetoacetil-Coenzima A
ADE	Amplitud de la distribución eritrocitaria
Akt	Protein kinase B / Proteína kinasa B
AMP	Adenosine monophosphate / Monofosfato de adenosina
AMPK	Adenosine monphosphate kinase / Monofosfato de adenosina kinasa
BF%	Body fat percentage / % grasa corporal
Basal	Medida realizada 1 día antes del primer período de suplementación
Ca-HMB	Sal cálcica de β -hidroxi- β -metilbutirato
CHCM	Concentración de hemoglobina corpuscular media
CK	Creatine kinase / Creatin kinasa
CoA	Coenzyme A / Coenzima A
CRP	C reactive protein / Proteína C reactiva
DOMS	Delayed onset muscle soreness / Dolor muscular post-esfuerzo
EIMD	Exercise-induced muscle damage / Daño muscular inducido por un ejercicio o esfuerzo
ECN	Escala de calificación numérica
FPIA	Fluorescence polarization immunoassay / Inmunoensayo de polarización fluorescente
FC	Frecuencia cardiaca
FI	Fatigue Index / Índice de fatiga
GH	Growth hormone / Hormona de crecimiento
HCM	Hemoglobina corpuscular media
HMB	β -hidroxi- β -metilbutirato
HMB-CoA	β -hidroxi- β -metilbutirato-Coenzima A
HMB-Cr	β -hidroxi- β -metilbutirato con creatina
HMB-FA	Ácido libre de β -hidroxi- β -metilbutirato
HMG-CoA	β -hidroxi-metilglutaril Coenzima A
HIIT	High intensity interval training / Entrenamiento interválico de alta intensidad
IEIMD	Daño muscular producido por un ejercicio intermitente

IGF-1	Insuline growth factor-1 / Factor de crecimiento insulínico-1
ISAK	International Society for the Advancement of Kinanthropometry / Sociedad Internacional para el avance de la kineantropometría
IST	Índice de saturación de la transferrina
KIC	α -ketoisocaproato
LACT	Lactato
LBM	Lean body mass / Masa magra
LDH	Lactato deshidrogenasa
LIST_{original}	Loughborough Intermittent Shuttle Test
LIST_m	Loughborough Intermittent Shuttle test modificado
Lp (a)	Lipoproteína a
LUC	Large unstained cells / Fórmula leucocitaria
MAPK/ ERK	Vía de las MAP kinasas
MEIA	Microparticle enzyme immunoassay / Inmunoensayo enzimático por micropartículas
MC-CoA	β -metil-crotonil-CoA
MG-CoA	β -metil-gluconil-CoA
mRNA	Ácido ribonucleico mensajero
mTOR	Mammalian target of rapamycin / Diana de rapamicina en células de mamíferos
NUTRI 3d	Encuesta nutricional durante los 3 últimos días antes de empezar suplementación
OBLA	Onset of blood lactate accumulation / Umbral anaeróbico individual
PEG	Polietilenoglicol
PI3k	Fosfoinositol 3 kinasa
PGC-1α	Coactivador del receptor activado por proliferadores γ
POST	Período inmediatamente posterior a la realización del LIST _m
PRE	Período previa a la realización del LIST _m
PRS	Perceived recovery status / estado de recuperación percibida
PTV	Power at ventilatory threshold / Potencia al umbral aeróbico ventilatorio
1RM	Repetición máxima

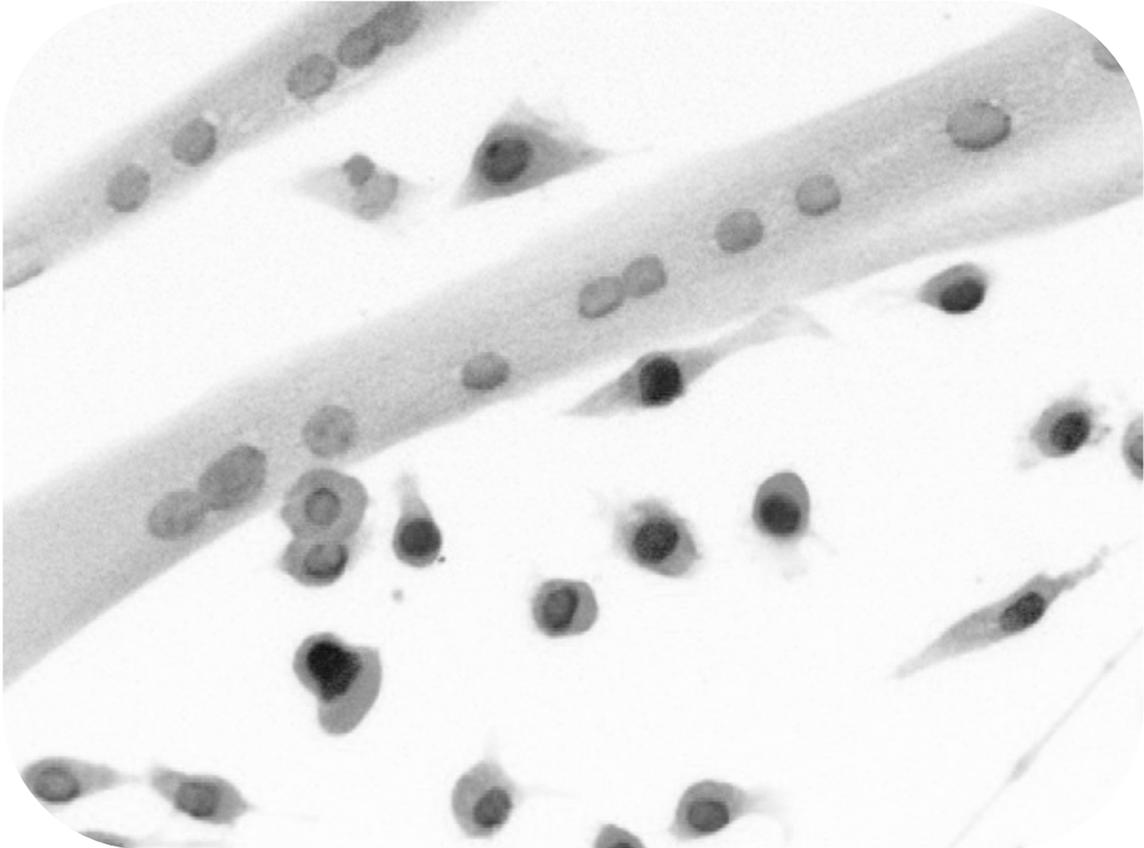
RPE	Rated perceived exertion / Percepción subjetiva del esfuerzo
SAA	Amiloide A
SAH	S-adenosil-L-homocisteína
SD	Standard desviation / Desviación estándar
SEM	Standard error of the mean / Error estándar de la media
Sirt	Sirtuína
Sirt1	Sirtuína 1 de regulación de información de tipo unión saliente
Sirt3	Sirtuína 3 de regulación de información de tipo unión saliente
sTfR	Soluble transferrin receptor / Receptor soluble de la transferrina
TEA	Test de efectos adversos
TCE	Test circunplejo de la emociones
TNF-α	Tumoral necrosis factor alfa / Factor de necrosis tumoral alfa
TQR	Total quality recovery / Test para la valoración de la calidad de la recuperación
TRIMPS	Training impulses / Impulsos de entrenamiento
Tty	Temperatura timpánica
UUPS	Unexplained underperformance síndrome / Síndrome de bajo rendimiento inexplicado
V	Velocidad
VAS	Visual Analogue Scale / Escala visual analógica
VCM	Volumen corpuscular medio
VE·VO₂	Equivalente ventilatorio para el O ₂
VE·VCO₂	Equivalente ventilatorio para el CO ₂
VO₂max	Consumo máximo de oxígeno
VPM	Volumen plaquetario medio
VT	Ventilatory threshold / Umbral aeróbico ventilatorio
VT2	Umbral anaeróbico ventilatorio
vVO₂max	Velocidad al consumo máximo O ₂
vVT2	Velocidad al umbral anaeróbico ventilatorio
\bar{x}	Valor medio
24h	Un día después de la realización del LIST _m
48h	Dos días después de la realización del LIST _m

72h Tres días después de la realización del LIST_m

1

INTRODUCCIÓN

“Nada en la vida debe ser temido, solamente comprendido. Ahora es el momento de comprender más, para temer menos.”
Marie Curie



Cuando se practica ejercicio extenuante, limitar los procesos de deterioro y destrucción muscular y facilitar una adecuada recuperación posterior es fundamental para preservar la salud de los atletas y su rendimiento óptimo. Los dos componentes clave en la recuperación son el descanso y el aporte adecuado de nutrientes. Los nutrientes esenciales son particularmente importantes. Los aminoácidos ramificados, leucina, isoleucina y valina han sido ampliamente estudiados en este contexto⁵. Se ha visto que la leucina tiene un papel muy importante en el metabolismo de las proteínas²⁻⁴, en la homeostasis de la glucosa⁵ y en la acción de la insulina⁶. La leucina tiene unas propiedades anti-catabólicas clave que pueden facilitar la recuperación después del ejercicio^{8,9}. En 1996, se sugirió que el candidato idóneo responsable de estos efectos podría ser el metabolito intracelular derivado de su degradación, el β -hidroxi- β -metilbutirato, abreviadamente conocido como HMB¹⁰, y que se produce de forma endógena en animales y personas¹¹. Entre sus efectos, se cree que el HMB es un precursor del colesterol, factor clave para la reparación de las membranas celulares dañadas, y además tiene el poder de atenuar la degradación de proteínas, despertando así una gran atención en el mundo deportivo^{15,16}.

1.1. Fisiología del β -Hidroxi- β -Metilbutirato

El primer paso para la producción de HMB es la transaminación reversible de leucina a α -ketoisocaproato (KIC) por la enzima amino transferasa¹². Entonces, el KIC se metaboliza en isovaleril-Coenzima A en la mitocondria, por el enzima α -ketoácido dehidrogenasa, o en HMB en el citosol, por el enzima KIC dioxigenasa¹⁷. El KIC transforma mayoritariamente en isovaleril-CoA, y solo el 5% de leucina se convierte en HMB. El isovaleril-CoA se metaboliza después en β -metil-crotonil-CoA (MC-CoA) y después en β -metil-gluconil-CoA (MG-CoA) y β -hidroxi-metilglutaril-CoA (HMG-CoA). De una forma similar, el HMB puede convertirse en β -hidroxi- β -metilbutirato-CoA (HMB-CoA) y después en HMG-CoA. Este último producto, el HMG-CoA, puede ser un precursor de la síntesis de colesterol gracias a la actividad enzimática de la HMG-CoA reductasa o bien se puede degradar en tres subproductos tales

como el acetoacetyl-CoA (AcAc-CoA) por la enzima HMG-CoA sintetasa, el acetyl-CoA y el acetoacetato (ACA), que es un cuerpo cetónico, gracias a la enzima MG-CoA ligasa. De forma consecuente, dentro de las funciones del HMB como precursor de la síntesis de colesterol, es posible que sea el responsable de dar estructura a la célula debido a su incorporación a las membranas celulares y además, a través de la formación de acetyl-CoA o un cuerpo cetónico, puede servir de substrato energético (véase *Figura 1*)

De forma empírica, el HMB se ha encuadrado dentro de los suplementos nutricionales que pueden limitar el daño muscular y atenuar la pérdida de fuerza después de un ejercicio o entrenamiento intenso¹⁸. La efectividad de la suplementación con HMB necesita ser aclarada en relación a cómo optimizar su administración, haciendo referencia a la dosis y a la temporización empleada, además de definir las condiciones particulares de uso en las que es recomendable y efectiva. De esta forma, una dosis de HMB de 3g/día puede producir diversos efectos potencialmente beneficiosos en los marcadores de rendimiento y la salud de los atletas. Entonces, la pregunta que surge es si basta con tomar solo proteínas, aminoácidos o leucina en lugar de este metabolito después de realizar ejercicio. Para poner esto en perspectiva y responder a esta pregunta, es necesario entender que una persona necesitaría consumir sobre unos 600g de proteína de alta calidad para obtener una cantidad de leucina apropiada, aproximadamente 60g, que al degradarse, produzca la cantidad de 3g de HMB utilizada en los estudios con humanos¹⁸. Por lo tanto, la respuesta a la pregunta anterior se resume en que este consumo de proteínas no sería realista y quizá tampoco sería saludable, y por ello se recomienda administrar el HMB a través de la suplementación¹⁹.

En el campo del entrenamiento, diversos estudios publicados durante los últimos 15 años muestran el efecto ergogénico de la suplementación con HMB¹⁵, donde se pueden incluir entre sus efectos una mejor recuperación^{20,21}, aumento de fuerza²²⁻²⁴, aumento de la masa magra (*Lean Body Mass*, LBM)²⁵, disminución de la grasa corporal⁷, aumento de la potencia^{26,27} y mejora en el rendimiento aeróbico^{28,29} y anaeróbico³⁰. Asimismo, la suplementación con HMB ha sido utilizada como estrategia potencial para el tratamiento de

pacientes con atrofia muscular, caquexia y sarcopenia³¹⁻³⁴. Mientras los estudios mencionados en las líneas anteriores apoyan la eficacia de la suplementación con HMB, hay otros estudios en la literatura científica que no lo hacen^{35,36}. Gran parte de estas discrepancias pueden explicarse debido a las diferencias observadas en la duración de la suplementación, tipo de entrenamiento realizado, y las diferencias previas en el nivel de entrenamiento entre los participantes de cada estudio¹⁸.

Si se centra la atención en la eficacia de la utilización del HMB en el deporte, se deben discriminar las diferentes variables que influyen en el rendimiento encontrado *a posteriori*. Estas variables, tales como, la clase de ejercicio, el tipo de deporte, las cargas de entrenamiento, la experiencia de entrenamiento y la edad, deben estar correctamente definidas para poder explicar los diferentes motivos por los que se han encontrado resultados contradictorios en la literatura científica relativa al HMB cuando se han analizado los valores resultantes en los diversos marcadores de daño muscular, fuerza y el dolor muscular post-esfuerzo (*Delayed-Onset Muscular Soreness*, DOMS), entre otros³⁷.

Teniendo en cuenta todos los estudios mencionados anteriormente, durante la introducción de esta Tesis Doctoral, se actualizará y resumirá el conocimiento actual del uso del HMB, organizando esta información por disciplinas deportivas. De esta forma, el resultado obtenido desplegará una serie de aplicaciones prácticas para los entrenadores, nutricionistas y/o médicos deportivos que quieran conocer cuál es la evidencia científica actual sobre la eficacia de la utilización del HMB en cada deporte.

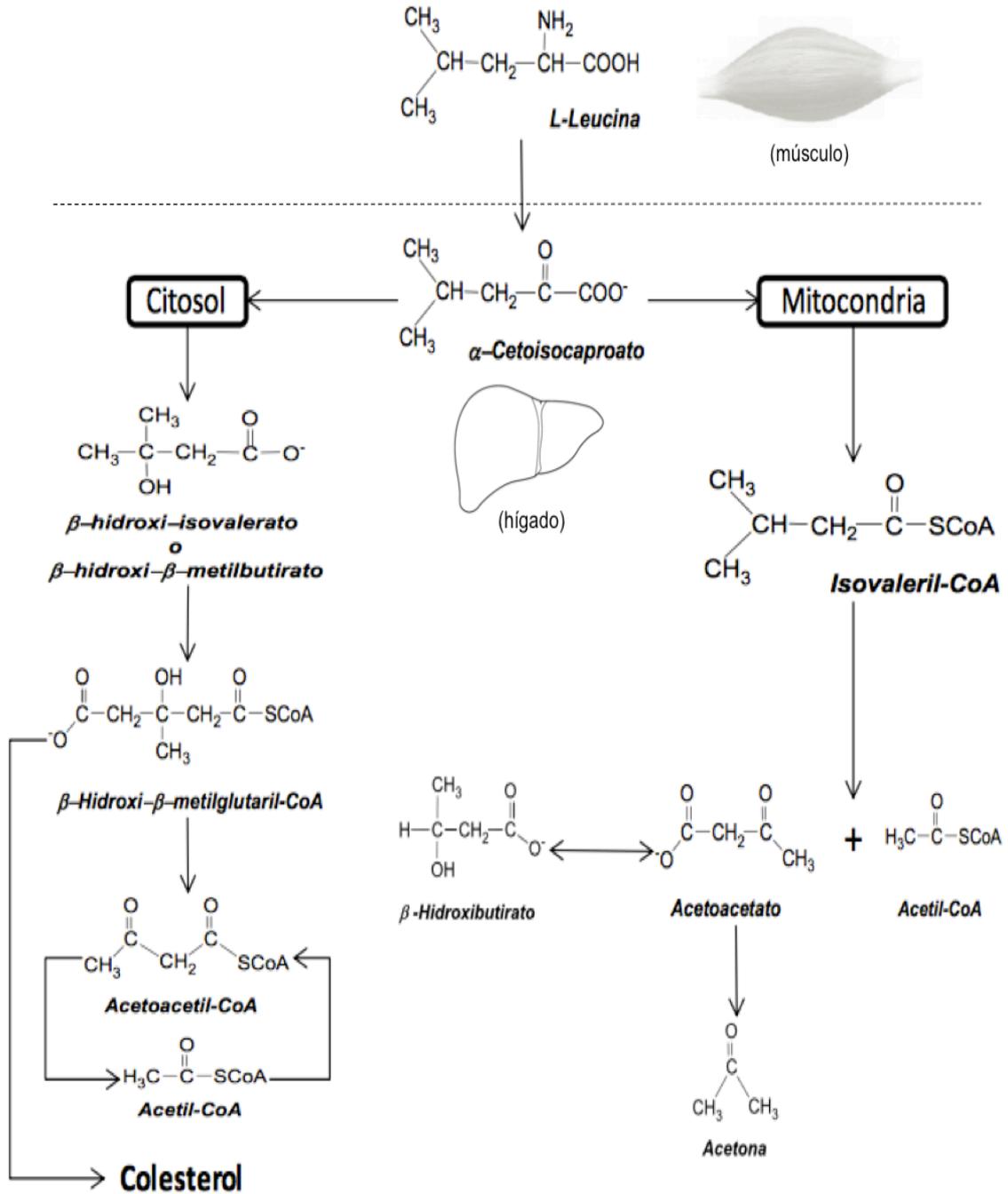


Figura 1. Ruta metabólica del HMB³⁴. Re-impresión con permiso de Nutrición Hospitalaria

1.2. Mecanismos de acción del β -Hidroxi- β -Metilbutirato

Los diferentes mecanismos de acción por los que el HMB actúa en el organismo están definidos a lo largo de la literatura científica existente. En estos estudios^{38,39,17,40-42}, se postuló que la suplementación con este metabolito, derivado de la degradación de la leucina, puede involucrar los siguientes mecanismos:

- 1) Aumento de la síntesis de proteínas a través de la vía diana de rapamicina (*Mammalian Target of Rapamycin*, mTOR)
- 2) Inhibición de la degradación de proteínas a través de la vía ubiquitina-proteosoma, atenuando la apoptosis celular y prolongando la supervivencia celular
- 3) Mejora de la integridad del sarcolema a través de una mayor disponibilidad de colesterol en el citosol
- 4) Aumento de la proliferación, diferenciación y fusión de las células satélite en el músculo a través de las vías MAPK/ERK y PI3K/Akt, mejorando la transcripción del IGF-1
- 5) Modulación de la vía autofágica-lisosomal

El primer mecanismo que subraya los efectos de la suplementación con HMB es la activación de la vía mTOR, que es una proteína kinasa clave en los procesos catabólicos y anabólicos que ocurren en la célula y, por tanto, en el organismo⁴³. La activación de esta vía puede mejorar los mecanismos bioquímicos necesarios para la síntesis de proteínas, mejorando la fuerza y la masa muscular⁴⁴. En segundo lugar, la sinergia generada por el segundo y quinto mecanismo implica la inhibición del sistema ubiquitina-proteosoma involucrado en la atrofia muscular^{17,45} y en la modulación del sistema autofágico-lisosomal⁴², respectivamente. Estas acciones podrían explicar los posibles efectos positivos de la suplementación con HMB en la tasa de reparación celular del daño muscular producido, restauración de la función muscular y atenuación de la pérdida de masa muscular. El tercer mecanismo de acción está relacionado con el efecto protector del HMB contra el daño producido en la actividad contráctil gracias a un aumento de la estabilidad de la

membrana plasmática de la célula muscular⁴⁶. Este efecto es el resultado de diversas reacciones en cadena en las que el enzima β -hidroxi- β -metilglutaril-CoA (HMG-CoA) reductasa se inhibe, desempeñando así un papel muy importante en el aumento de la eficiencia metabólica, estimulando la lipólisis en el tejido adiposo y aumentando la capacidad oxidativa del músculo esquelético⁴³. El cuarto mecanismo propuesto es, por un lado, el aumento de la expresión del factor de crecimiento insulínico (*Insulin Growth Factor-1*, IGF-1) y la hormona de crecimiento (*Growth Hormone*, GH) que pueden estimular la diana de rapamicina como vía de señalización^{22,47,48}. Por otro lado, el aumento en la proliferación, diferenciación y fusión de las células satélite en las fibras musculares posibilitan aumentar la biogénesis mitocondrial y la oxidación de las grasas. Este efecto podría permitir aumentar la eficiencia metabólica a través del aumento de la activación de enzimas tales como el complejo monofosfato de adenosina protein kinasa (*Adenosine Monophosphate Kinase*, AMPK) que actúa como un sensor del balance energético celular⁴⁹, y de la sirtuína 1 de regulación de información de tipo unión saliente (Sirt1), en el núcleo, junto con la otra enzima deacetilasa Sirt3, en la mitocondria, que juntas actúan en el metabolismo energético en respuesta a estresores produciendo mitocondrias que permiten a las células metabolizar glucosa y ácidos grasos, generando así más energía y contribuyendo a una regulación positiva de los procesos celulares⁵⁰. Resumiendo, todas estas proteínas humanas podrían mejorar la biogénesis mitocondrial, el metabolismo energético y el sistema de defensa antioxidante^{49,51} logrando tener un gran impacto sobre la resistencia a determinados estresores y a la degradación celular ocasionada por el envejecimiento o a través de una mejora de la eficiencia energética y un cambio favorable en el control del peso y/o grasa corporal. Por otro lado, cómo funciona exactamente el HMB para inducir los diversos cambios en las proteínas Sirt y la enzima AMPK en la mitocondria es una cuestión que todavía no tiene una clara respuesta. Sin embargo, estos resultados pueden tener repercusión terapéutica sobre la obesidad, resistencia a la insulina y la diabetes así como en el rendimiento deportivo.

Cuando se comparan los diferentes estudios, se debe tener en cuenta cada detalle en relación al nivel de entrenamiento, la variabilidad de ejercicios, la dosis empleada en la suplementación, la duración del período de suplementación, la magnitud y naturaleza de los efectos, sobre-entrenamiento y/o estímulo de entrenamiento. El estudio minucioso de estos factores junto con los descritos con anterioridad ayudarán a explicar los posibles motivos por los que se han encontrado resultados contradictorios y poder así desarrollar unas condiciones bien definidas de entrenamiento que puedan ayudar a establecer un modelo correcto de actuación^{18,23}.

Si se atiende a las demandas fisiológicas específicas de cada deporte se pueden elaborar diferentes secciones que muestren la eficacia de la suplementación con HMB en cada uno de los deportes. Asimismo, este acercamiento contribuirá a aclarar y definir los posibles mecanismos, interacciones y efectividad de la suplementación con HMB en combinación con actividades de naturaleza aeróbica o anaeróbica, orientadas a la fuerza o la potencia para proporcionar una guía práctica a los entrenadores, nutricionistas y médicos deportivos (véase *Figura 2*)

Una de las hipótesis principales de esta Tesis Doctoral es que el HMB puede favorecer los mecanismos que aceleran la necesidad de finalizar las reacciones catabólicas y la subsecuente activación de reacciones anabólicas, afectando a la función muscular, y ello tan pronto como sea posible. Actualmente, la evidencia científica sobre este tema señala que un aumento en unas condiciones catabólicas específicas^{21,33,52,53} pueden promover los efectos positivos del HMB sobre la recuperación el rendimiento posterior^{27,54}.

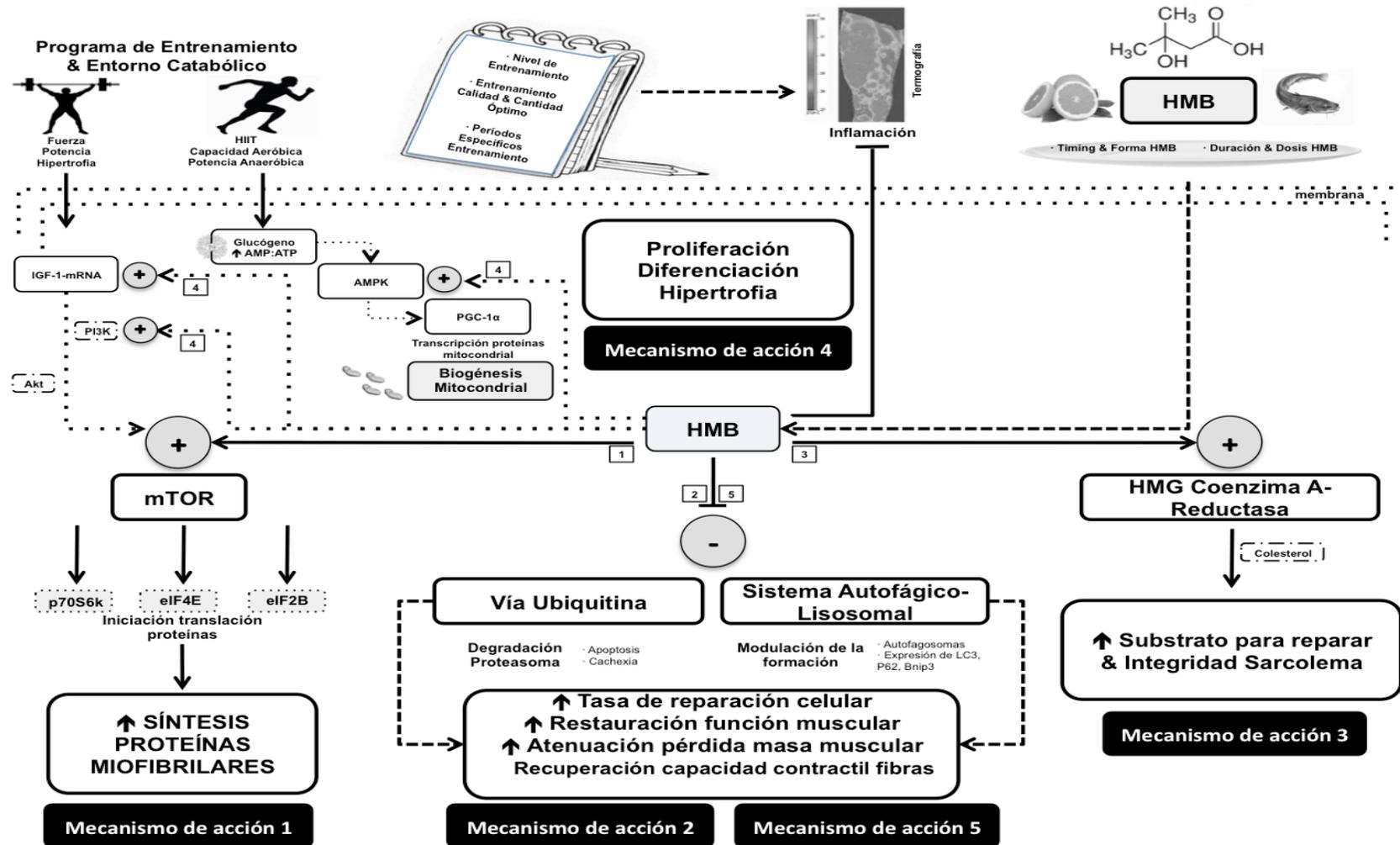


Figura 2. Mecanismos de acción y efectos del HMB con especial atención a la actividad deportiva. "+": Promover; "-": Inhibir. Modificado de Hawley et al⁴. HMB β-hidroxi-β-metilbutirato, HMG-CoA β-hidroxi-metilglutaril-CoA, HIIT entrenamiento interválico de alta intensidad, PI3k fosfoinositol 3 quinasa, Akt protein quinasa B, AMP monofosfato de adenosina, AMPK monofosfato de adenosin quinasa, ATP adenosin trifosfato, PGC-1α coactivador del receptor activo por proliferadores peroxisomales γ, mTOR diana de rapamicina en células de mamífero.

1.3. El β -Hidroxi- β -Metilbutirato y su relación con el rendimiento deportivo

La literatura científica analiza los efectos ergogénicos del HMB sobre los diferentes componentes fisiológicos y muestra cierta evidencia en su utilización atendiendo a las características de los sujetos, nivel de entrenamiento, edad y estado de salud (véase *Figura 3*). Estos datos muestran que la suplementación con HMB podría ayudar a aumentar la fuerza y a disminuir la grasa corporal tanto en personas sanas no entrenadas⁵⁵ como en personas mayores^{1,29,56}.

Se entiende como ayuda ergogénica cualquier sustancia o método que mejore el rendimiento y que ayude a obtener una mejor utilización de la energía, incluida la producción, control y eficiencia^{57,58}.

Por ello, la Sociedad Internacional para la Nutrición Deportiva se posiciona afirmando que el HMB puede utilizarse para mejorar la recuperación, como componente ergogénico, a través de una reducción del daño muscular producido por un ejercicio determinado en una población atlética o no entrenada. Y que su utilidad parece estar afectada por el tiempo de suplementación antes de un esfuerzo y su dosis^{16,19}, remarcando que períodos largos de suplementación no suponen un riesgo para la salud de las personas^{19,55,59}.

Por otro lado, muchos estudios han fracasado en encontrar cambios estadísticamente significativos en fuerza y composición corporal entre aquellos sujetos que ya estaban sometidos a un régimen regular de ejercicio^{18,24,60}. La ausencia de cambios significativos en estos artículos se relacionan con la falta de un estímulo apropiado de entrenamiento¹⁹. Cuando se utiliza en un ejercicio una intensidad elevada (>80% de 1 repetición máxima, *1RM*) o se realiza un programa de entrenamiento regulado por una periodización donde se establece un aumento progresivo de las cargas en sujetos entrenados, la suplementación con HMB parece obtener resultados similares a los encontrados con personas no entrenadas o deportistas recreacionales^{19,61}.

Además, nuevas evidencias sugieren que la suplementación con HMB podría aumentar las ganancias en fuerza, hipertrofia y potencia después de un programa de entrenamiento con periodización ondulante^{62,63} durante

12 semanas⁶¹. Por lo tanto, el HMB parece ser efectivo durante períodos altamente catabólicos¹⁹.

Consecuentemente, el HMB, en la dosis recomendada de 3 g/día, parece interactuar con el protocolo de entrenamiento utilizado así como con la experiencia del atleta en ese tipo de entrenamiento. Parece que el HMB funciona en condiciones ideales si se consume en esta dosis de 3 g/día durante las dos semanas previas a un esfuerzo intenso logrando atenuar el daño muscular producido⁵⁴. Este suplemento se puede tomar en dos formas tales como el ácido libre de HMB (HMB-FA) que se debe consumir entre 1-2 g, 30-60 minutos antes del ejercicio e inmediatamente después, o bien, la sal cálcica de HMB (Ca-HMB) que se debe consumir entre 1-2 g, 60-120 minutos antes del ejercicio e inmediatamente después²⁷. La mayoría de los primeros estudios relacionados con la suplementación de HMB han utilizado la forma cálcica (Ca-HMB); sin embargo, una nueva forma a modo de ácido libre (HMB-FA) ha demostrado recientemente conseguir aumentar su concentración en plasma en un tiempo más corto comparado con la forma de sal cálcica⁶⁴. Estos resultados ofrecen una teórica ventaja para alcanzar una mayor biodisponibilidad de HMB y proporcionar unos efectos potencialmente beneficiosos en la mejora de las adaptaciones al entrenamiento^{64,65}. En resumen, ambas formas del HMB podrían contribuir a optimizar el proceso de recuperación actuando sobre la reparación de proteínas y manteniendo la función muscular (véase *Figura 4*).

Actualmente, el HMB está disponible como suplemento nutricional y no está dentro de la lista de sustancias o métodos prohibidos de ningún organismo de regulación o control deportivo¹⁶.

Nissen & Abumrad 1997	Nutritional role of the leucine metabolite HMB
Kreider 1999	Dietary Supplementation and the promotion of muscle growth with resistance exercise
Slater & Jenkins 2000	HMB supplementation and the promotion of muscle growth and strength
Slater 2001	HMB as an ergogenic aid in sport
Alon et al. 2002	Supplementing with HMB to build and maintain muscle mass: a review
Nissen & Sharp 2003	Effect of dietary supplements on lean mass and strength gains with resistance exercise: a meta-analysis
Palisin & Stacy 2005	HMB and its use in athletics
Routhier & Stacy 2007	HMB use and its relationship to exercise-induced muscle damage and performance during exercise
Wilson et al. 2008	Effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) on exercise performance and body composition across varying levels of age, sex, and training experience: A review
Rowlands & Thomson 2009	Effects of β -hydroxy- β -methylbutyrate supplementation during resistance training on strength, body composition, and muscle damage in trained and untrained young men: a meta-analysis
Portal et al. 2010	Effects of body composition, fitness, hormonal profile and muscle damage indices
Zanchi et al. 2011	HMB supplementation: clinical and athletic performance-related effects and mechanisms of action
Fitschen et al. 2013	Efficacy of HMB supplementation in elderly and clinical populations
Molfino et al. 2013	Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) Supplementation in health and disease: a systematic review of randomize trials
Ortiz 2013	HMB supplementation in special population
Pinheiro et al. 2013	An Overview on Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) Supplementation in Skeletal Muscle Function and Sports Performance (Book's chapter)
Manjarrez et al. 2015	β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) as a dietary supplement (I): metabolism and toxicity β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) as a dietary supplement (II): cell and molecular mechanism of action

Figura 3. Literatura científica que repasa los efectos de la suplementación con HMB en biomarcadores de salud y rendimiento deportivo.

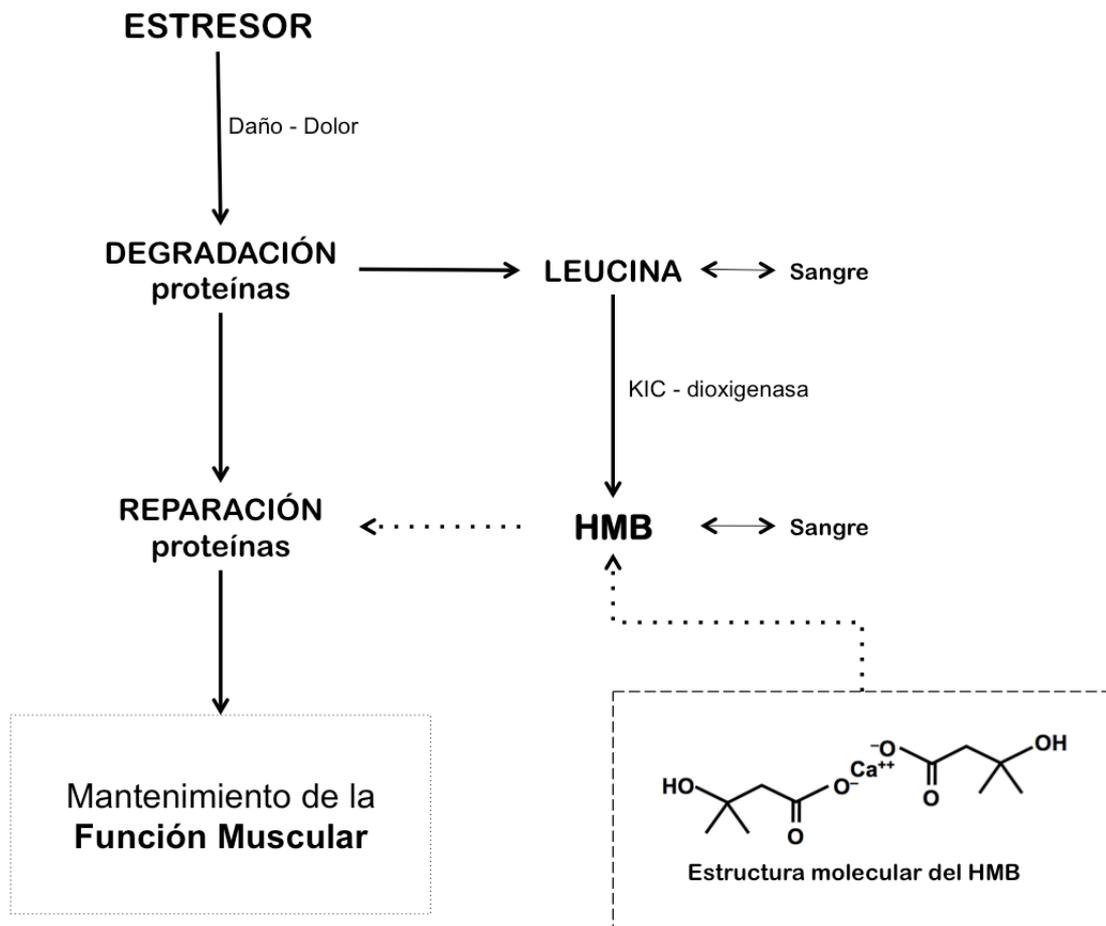


Figura 4. Descripción simplificada del papel bioactivo del HMB en la señalización molecular para optimizar la recuperación. *HMB* β-hidroxi-β-metilbutirato, *KIC* α-ketoisocaproato

1.3.1. Efectos del HMB en los deportes de resistencia

La resistencia cardiorrespiratoria se refiere a la habilidad de realizar una actividad durante un período prolongado de tiempo⁶⁶. Los estudios previos han demostrado los beneficios potenciales del HMB en los atletas de disciplinas eminentemente aeróbicas. Vukovich and Dreifort²⁹ han investigado los efectos de la suplementación sobre el consumo máximo de oxígeno (VO_{2max}) y sobre el umbral anaeróbico individual (*Onset of Blood Lactate Accumulation*, OBLA) en ocho ciclistas entrenados de nivel master con una media de 480 km por semana. Los participantes en el estudio realizaron una prueba de esfuerzo máxima en cicloergómetro. Los resultados de esta prueba indicaron que los sujetos que se suplementaron con HMB lograron aumentar un 8% su tiempo hasta la extenuación mientras que los que lo hicieron con leucina o placebo no presentaron ningún efecto. El consumo de oxígeno (VO_2) a 2 mM de lactato (OBLA) aumentó con la ingesta de HMB (9.1%) y con leucina (2.1%), sin embargo no se produjo ningún cambio en aquellos sujetos que se suplementaron con placebo. La discrepancia encontrada con otros estudios que relacionan la suplementación de HMB con actividades de resistencia podría residir en la experiencia previa de los sujetos a este tipo de esfuerzos^{28,29}. Teniendo esto en cuenta, es posible que los sujetos que no están acostumbrados a entrenar a altas intensidades a través de un entrenamiento interválico diseñado para la mejora de la resistencia se beneficien más de la suplementación con Ca-HMB que aquellos atletas que están acostumbrados a entrenar con este tipo de método⁶⁷. En este estudio, los sujetos se sometieron a programas individualizados de entrenamiento interválico de alta intensidad (*High Intensity Interval Training*, HIIT) durante 28 días en los que fueron supervisados y controlados de forma rigurosa por un especialista.

Junto con el principio de variabilidad en el entrenamiento, se debe tener en cuenta que el estímulo de entrenamiento es también un factor clave que se debe controlar para crear las diferentes adaptaciones fisiológicas^{17,18,21}, ya que, por otro lado, este estímulo puede ser insuficiente para ocasionar dichas adaptaciones^{20,29}.

Los resultados obtenidos en los estudios con esfuerzos intermitentes de alta intensidad²⁸ muestran que 4 semanas realizando un programa de HIIT en combinación con la suplementación de HMB-FA suponía un estímulo de entrenamiento efectivo donde la sinergia generada se traducía en una mejora del rendimiento aeróbico. Además, la suplementación con HMB-FA en combinación con el HIIT mostró unos mejores resultados en el VO_{2max} , en la potencia generada al umbral aeróbico ventilatorio (*power at ventilatory threshold*, PVT) y en el umbral aeróbico ventilatorio (*ventilatory threshold*, VT) comparado con aquellos sujetos que solo realizaron el HIIT. Estos resultados coinciden con otros estudios que utilizaron la suplementación con HMB junto con entrenamiento aeróbico para aumentar los efectos beneficiosos del rendimiento en pruebas aeróbicas a través de la mejora del umbral de fatiga como reflejo de la respuesta fisiológica al ejercicio de moderada y/o alta intensidad^{28,29,67}.

Los mecanismos por los que el HMB actúa para conseguir estos beneficios a nivel de rendimiento aeróbico y pérdida de grasa no están claramente definidos a día de hoy. Sin embargo, la evidencia científica existente actualmente demuestra que la suplementación con HMB puede mejorar la oxidación de los ácidos grasos para lograr una mayor eficiencia metabólica como se ha descrito previamente en los mecanismos de acción del HMB⁵⁰.

1.3.2. Efectos del HMB en los deportes de fuerza y potencia

La fuerza y la potencia son dos de las características más críticas e importantes para tener éxito en cualquier disciplina deportiva^{68,69}. El entrenamiento de fuerza aumenta el tamaño de la fibra muscular y de la máxima tensión generada. Estas adaptaciones se logran gracias a un balance positivo de proteínas y de la unión de nuevas células satélite a las ya preexistentes⁷⁰. Asimismo, la activación de la vía mTOR parece desempeñar un papel muy importante en el aumento de la síntesis de proteínas^{19,71}.

Algunos grupos de investigación en esta tema^{24,60,72} han encontrado

resultados contradictorios cuando los sujetos estaban suplementados con HMB durante un programa de entrenamiento orientado a la fuerza. En estos estudios se ha analizado, como variables de entrenamiento, el resultado de 1RM en diferentes ejercicios tales el *press* de banca, peso muerto, remo, *press* de hombros, dominadas, extensión de piernas, sentadilla, y *curl* de bíceps. Asimismo, se analizaron otras variables como la composición corporal, la potencia generada, los niveles de creatin kinasa (CK) y los de lactato deshidrogenasa (LDH). Numerosos estudios han mostrado cierta evidencia científica de los beneficios del HMB cuando se combina con ejercicios de fuerza y potencia que implican movimiento específicos multiarticulares tales como la sentadilla, *press* de banca y salto vertical^{13,24,26,27}. En esta misma línea, los investigadores han determinado que los efectos del HMB sobre la fuerza son menores cuando se utilizan movimientos aislados y que no son específicos de la disciplina deportiva en concreto^{24,72}.

Por lo tanto, según los estudios anteriores, los beneficios de la suplementación con HMB sobre el rendimiento pueden ser más notables siempre y cuando se realice un programa de entrenamiento con una adecuada periodización de los ejercicios que debe atender principalmente a la globalidad del movimiento o movimientos multiarticulares en relación con el gesto deportivo específico para conseguir estresar en mayor medida el sistema músculo esquelético. En esta misma línea, otros estudios^{27,73} aclaran que los cambios producidos en fuerza y potencia después de un período de suplementación con HMB son positivos siempre y cuando se combine con un programa de entrenamiento con las diferentes cargas adecuadamente periodizadas²⁴. Lowery et al.²⁷ sugiere que la suplementación con HMB y adenosin trifosfato (ATP) en combinación con un modelo de periodización del entrenamiento ondulante puede resultar en un incremento de la masa muscular, hipertrofia, fuerza y potencia. Si se traslada esto al lenguaje de los entrenadores significa que cuando el deportista se enfrenta a períodos con una alta frecuencia de entrenamiento o competiciones, la suplementación con HMB y/o HMB/ATP puede atenuar el

descenso de rendimiento característico del *overreaching*⁷⁴ o fatiga aguda, además de proporcionar un aumento en la ganancia de fuerza²⁷. Por otro lado, Fuller et al.⁶⁴ muestra que la suplementación con HMB junto con un programa de 12 semanas de entrenamiento controlado a través de una periodización ondulante, puede conseguir un mayor incremento de la fuerza, potencia y masa muscular en los miembros superiores en comparación con los inferiores. Además, se han obtenido resultados parecidos en sujetos con un buen estado de salud, pero no entrenados, cuando el programa de entrenamiento de fuerza realizado, en el que se ejercitaban 3 veces por semana durante 8 semanas, ha sido supervisado por un especialista. Los resultados más significativos encontrados son un aumento en la generación de fuerza, una disminución de los valores de la creatin kinasa y una mejora en la composición corporal en aquellos sujetos que fueron suplementados con HMB con respecto a los que no lo hicieron⁷³.

En su conjunto, estos estudios proporcionan la evidencia científica de la eficacia de la suplementación con HMB cuando se realiza específicamente en condiciones altamente proteolíticas, que suelen ser frecuentes en fases de la temporada donde el organismo se ve sometido a un estrés severo debido a la alta intensidad de los ejercicios junto con su alta frecuencia. Por lo tanto, parece apropiado sugerir que el HMB podría ayudar a mejorar la condición cardiorrespiratoria, la fuerza, la potencia y la función muscular en aquellos sujetos que presenten un *turn over* o intercambio proteico negativo en un determinado entorno catabólico.

1.3.3. Efectos del HMB y el daño muscular inducido por un esfuerzo intermitente sobre la función neuromuscular

El β -hidroxi- β -metilbutirato ha demostrado desempeñar un papel limitador del daño muscular y de la ruptura de proteínas^{13,75} en el entrenamiento de fuerza^{3,54,76}. Sin embargo, muy pocos estudios han investigado los efectos de la ingesta de HMB sobre el rendimiento aeróbico^{18,30}. Recientemente, los científicos han atribuido una serie de beneficios al HMB cuando se aplica junto con un esfuerzo intermitente de

alta intensidad, entre los que destacan la atenuación del daño muscular y la mejora de la función neuromuscular post-esfuerzo^{18,30,67,77}.

Faramarzi et al.³⁰ investigó los efectos de 3 g/día de Ca-HMB, HMB + Creatina (HMB-Cr) o placebo en deportistas entrenados durante un período de 6 días. Después de este período de entrenamiento y suplementación, se midió el rendimiento anaeróbico y los niveles de los marcadores de daño muscular a través de un test para valorar la resistencia a la velocidad⁷⁸. Entre los resultados encontrados destaca la disminución del valor de los marcadores de daño muscular en los sujetos que se suplementaron con Ca-HMB y con HMB-Cr comparado con el grupo placebo. Estos datos sugieren que la suplementación con HMB puede tener efectos positivos sobre el daño muscular observado durante el entrenamiento de resistencia y que de esta forma se reduzca la incidencia en la tasa de sobre-entrenamiento y facilitando unas mejores adaptaciones al mismo. Sin embargo, O'Connor y Crowe⁷⁷ estudiaron los efectos de una suplementación con Ca-HMB o HMB-Cr y no encontraron ningún efecto sobre el rendimiento aeróbico y anaeróbico en atletas entrenados. Estos resultados pueden deberse a la gran experiencia en el tipo de entrenamiento realizado por los atletas, a una falta de ajuste del entrenamiento y/o a la determinación del test más apropiado para valorar su rendimiento en función de su disciplina deportiva. Solamente cuando los sujetos fueron suplementados con Ca-HMB en combinación con un programa de entrenamiento aeróbico se mostraron beneficios adicionales. Otro estudio realizado por Lamboley et al.⁶⁷ examinó los efectos de 5 semanas de suplementación con Ca-HMB en combinación con un HIIT en estudiantes universitarios físicamente activos. Los resultados de esta investigación demostraron que los sujetos suplementados con Ca-HMB o HMB-Cr experimentaron un aumento significativo del VO₂max. y del umbral aeróbico ventilatorio (VT) en el punto de compensación respiratoria con respecto al grupo placebo. Sin embargo, el grupo Ca-HMB obtuvo una mejora del 19 al 45% mejor en estas variables metabólicas con respecto al grupo HMB-Cr. Por lo tanto, estos investigadores llegaron a la conclusión de que el Ca-HMB puede atenuar el daño muscular observado después de la

realización de un determinado esfuerzo físico y podría acelerar la recuperación entre diversos esfuerzos^{18,29,67,79}.

El proceso de recuperación del daño muscular inducido por un esfuerzo determinado (*Exercise Induced Muscle Damage*, EIMD) y la habilidad de generar fuerza *a posteriori* es un aspecto de la función muscular del ser humano que no ha recibido toda la atención que merece. Si bien, la pérdida potencial de fuerza concéntrica y excéntrica a velocidades angulares altas tiene una alta implicación en el rendimiento deportivo^{80,81}, parece que la suplementación con Ca-HMB o HMB-FA puede ayudar a atenuar la disminución en la pérdida de fuerza durante y después de un esfuerzo que ocasione un cierto grado daño muscular⁵⁴ como pueden ser el entrenamiento de musculación, los ejercicios pliométricos, las carreras de larga distancia o las interválicas⁸².

Por lo tanto, uno de los objetivos de la presente Tesis Doctoral es examinar los efectos de una suplementación a corto plazo con HMB con una dosis de 3 g/día en combinación con un esfuerzo de alta intensidad prolongado en el tiempo y de naturaleza intermitente sobre el DOMS y la función muscular en futbolistas.

1.4. Efectos del HMB sobre biomarcadores sanguíneos

Si bien la suplementación con HMB puede reducir los índices de catabolismo en el organismo y/o promover una más rápida recuperación después de un esfuerzo determinado^{13,76,83}, es necesario analizar con detalle cada una de las investigaciones realizadas sobre la ingesta de HMB para entender los resultados contradictorios encontrados^{37,83}. Principalmente, se centrará la atención en analizar la eficacia de la utilización de este metabolito, producto de la degradación de la leucina, describiendo, según la literatura existente, el comportamiento de los diferentes biomarcadores que son válidos para la valoración del daño muscular producido después de un esfuerzo físico determinado.

1.4.1. Biomarcadores sanguíneos sensibles al daño muscular.

El ejercicio intenso, y especialmente el que viene acompañado de un alto componente excéntrico, se asocia con la producción de daño en el organismo a nivel de tejido conectivo y de tejido contráctil^{20,84}. Los investigadores se han centrado en intentar descubrir los mecanismos por los que se pudiera reducir el daño muscular producido y estimular la fase anabólica para optimizar el proceso de recuperación³. En este sentido, Armstrong⁸⁵ comentó que no existía evidencia directa en la aplicación de algún posible tratamiento farmacológico sobre la prevención del daño muscular inducido por un ejercicio o la aceleración de la recuperación. Sin embargo, Nissen et al.⁸⁶ demostró que la suplementación con HMB en una dosis de 3 g/día podía reducir este daño muscular asociado a un determinado esfuerzo. Asimismo, Knitter et al.²⁰ indicó que el HMB podía reducir el daño muscular asociado a un esfuerzo prolongado valorando la respuesta enzimática de la CK y la LDH⁸⁷. Este autor²⁰ demostró la eficacia del HMB observando como estos índices sanguíneos se veían atenuados cuando los sujetos habían ingerido HMB durante 6 semanas con respecto a los que habían ingerido placebo. De esta forma, el HMB influye positivamente en la disminución del daño muscular debido a, en primer lugar,

una menor liberación de CK y LDH en el torrente sanguíneo, y en segundo lugar, a un aumento en la concentración de sustrato, a través del aumento del HMG-CoA que servirá para la reparación de las membradas dañadas por el esfuerzo²⁰. Sin embargo, en el estudio realizado por Kreider et al.³⁷ en el que se suplementaban a los deportistas con HMB o placebo 3 g/día durante 4 semanas en los que se realizaba un programa de entrenamiento de fuerza, no se observó ningún cambio significativo en estos índices del estado anabólico/catabólico del cuerpo. De esta forma, debido a los resultados contradictorios encontrados, es necesario analizar cuidadosamente las condiciones en las que se ha realizado cada estudio para compararlo y ver el grado de eficacia que tiene la suplementación con HMB^{18,23}.

1.4.2. Respuesta hormonal

En la actualidad, hay muy pocos estudios que hayan analizado los efectos del HMB sobre la respuesta hormonal en deportistas entrenados⁶⁵. Las propiedades anabólicas o anticatabólicas atribuidas al HMB a través de la estimulación de la mTOR y disminución de la tasa catabólica a través de la vía ubiquitina-proteosoma^{17,88} son factores clave para valorar la efectividad del HMB¹⁹ en este sentido. Diversos autores⁸⁹ han observado una regulación positiva de proteínas cuando se activa la vía mTOR, mientras que otros autores como Gerlinger-Romero et al.⁴⁸ han profundizado en la respuesta de la GH y de la expresión del IGF-1 en el hígado como moduladores en la activación de la vía mTOR. Para demostrar la importancia de conocer esta respuesta, Townsend et al.⁶⁵ examinó la respuesta hormonal en 20 deportistas entrenados a través de la realización de un ejercicio de fuerza de alta intensidad y después de suplementarse con HMB-FA justo antes y después de realizar dicho ejercicio. Entre los resultados destaca el aumento de la respuesta de la GH y el IGF-1 en los deportistas que ingirieron HMB-FA, apoyando la respuesta anabólica asociada con el HMB según describían otros autores anteriormente^{20,89}. Estos datos favorecen que se desencadene una serie de reacciones que provocan la estimulación de la lipólisis⁹⁰ que se traduce en un efecto beneficioso sobre

los cambios en la composición corporal. Asimismo, este estudio⁶⁵ no encuentra efectos significativos sobre la respuesta de la testosterona o insulina cuando se administra el HMB-FA de forma aguda. En cambio, estas hormonas sí se pueden ver afectadas cuando se utiliza un período de suplementación mayor o en combinación con otros aminoácidos²⁷. Por lo tanto, debido a la gran influencia de la respuesta hormonal en la recuperación de los deportistas, será un aspecto muy importante determinar potenciales estrategias de ingesta para una óptima eficacia de la suplementación con HMB^{54,65}.

1.4.3. Índices de inflamación y la repuesta del metabolismo del hierro

Todos aquellos ejercicios que ocasionan un daño muscular generan a su vez un estímulo en el sistema inmune que suele estar regulado por las citokinas⁹¹. El término citokina es amplio y se puede referir a multitud de proteínas con diferentes funciones y donde se incluyen las interleukinas, factores de necrosis tumoral, interferones, factores estimulantes de colonias de granulocitos y otros factores con un papel inmunomodulador^{75,92}. Durante y después de la realización de un ejercicio se suele producir un aumento de los niveles de citokinas con propiedades pro- y anti-inflamatorias, al mismo tiempo que desempeñan un papel integrador en el proceso del daño, la reparación y la remodelación de los tejidos músculo-esquelético⁹².

Kraemer et al.⁷⁵ afirma que la realización de un ejercicio que provoque daño muscular junto con la suplementación de HMB en combinación con aminoácidos y generar un entorno anabólico apropiado en la musculatura^{13,18,29,88}, puede generar una sinergia que produzca una disminución de la producción de citokinas inflamatorias apoyándose en las conclusiones obtenidas por estudios anteriores con personas enfermas⁹³. Por lo tanto, si se ha demostrado que el HMB tiene la capacidad de aumentar la síntesis de proteínas y estimular las vías anabólicas mientras disminuye la activación de los procesos proteolíticos^{17,88}, este autor⁷⁵ afirma que estos efectos están mediados directa o indirectamente por las propiedades inmunomoduladoras del HMB haciendo referencia a las

citokinas inflamatorias y promoviendo adaptaciones positivas al entrenamiento^{53,73}.

En este sentido, el daño muscular inducido por deporte competitivo provoca un aumento de la concentración de ferritina inmediatamente después del mismo y permanece durante 48 horas debido a una primera fase aguda de inflamación^{94,95}. Asimismo, la eritropoyetina (EPO) muestra una respuesta incremental que puede ser justificada para mantener la homeostasis de glóbulos rojos y evitar un probable episodio de isquemia cerebral⁹⁵. Por otro lado, la actividad eritropoyética del receptor soluble de la transferrina (*soluble Transferrin Receptor*, sTfR) disminuye progresivamente hasta su mínimo a las 48 horas después del esfuerzo. Esta situación sucede porque este marcador refleja una disminución en la actividad de la producción de glóbulos rojos, volviendo a sus valores normales una vez rebasado ese umbral de 48 horas⁹⁶. Por lo tanto, el aumento significativo de marcadores inflamatorios tales como la interleukina (IL-6), la ferritina, el amiloide A (SAA) y la proteína C reactiva (*C Reactive Protein*, CRP), producido por el ejercicio establece una correlación negativa entre los marcadores inflamatorios y las células progenitoras circulantes^{95,96}. Reinke et al.⁹⁷ observó deficiencias en el hierro en futbolistas profesionales debido en parte a un posible empeoramiento en la síntesis de hemoglobina por un aumento en la actividad de la hepcidina, que es una de las hormonas responsables del descenso rápido de los niveles de hierro ocasionando una anemia típica⁹⁸. Por lo tanto, la disminución de hierro puede estar asociado a la realización de un ejercicio con una elevada intensidad o prolongado en el tiempo⁹⁶, así como a la generación de especies reactivas tóxicas. Esta afirmación expone la importancia de un adecuado balance entre el ejercicio intenso y la recuperación para crear adaptaciones positivas al entrenamiento. Desde este punto de vista, *too much and too short*, es decir, demasiada y muy poca, en cuanto a intensidad y recuperación se refiere, respectivamente, puede conducir a resultados no deseados, y que se manifiesta con un descenso de los parámetros eritrocitarios^{96,99}. Dentro del metabolismo del hierro, el sTfR mide más la deficiencia de hierro en los tejidos que la

anemia¹⁰⁰ y su aumento está determinado por la intensidad del ejercicio¹⁰¹. Por lo tanto, una visión global de estos elementos puede hacer valorar una posible anemia por la respuesta inflamatoria asociada a la actividad deportiva desarrollada. Asimismo, un esfuerzo puntual no ocasiona pérdida significativa de hierro y empeoramiento de su metabolismo, sino que estos efectos se pueden observar cuando se acumulan varios días de carga debido a un período intenso de entrenamiento o competiciones sin el tiempo necesario o mostrando un déficit en las estrategias empleadas para la recuperación⁹⁶. En este sentido, no hay demasiadas investigaciones que aclaren el papel que desempeña el HMB como agente facilitador de la recuperación en cuanto a su efecto sobre la disminución de la respuesta inflamatoria en el metabolismo del hierro⁵⁹, analizando este último como índice para valorar la toxicidad y seguridad de la utilización del HMB como suplemento nutricional¹⁹ o bien no mostrar ningún efecto significativo después de la intervención realizada^{37,102}.

1.5. Posibles efectos indeseables o secundarios

El Comité Olímpico Internacional ha categorizado al HMB como una sustancia legal¹⁰³. Esto está basado en que el HMB no infringe las leyes del dopaje ni tiene efectos adversos. Los estudios que han investigado los efectos de un determinado período de suplementación con HMB sobre varios marcadores de salud, tales como glucosa en sangre, urea, nitrógeno, hemoglobina, enzimas hepáticas, perfil lipídico, leucocitos, glucosa en la orina, glucosa en el pH y presión sistólica entre otras, concluyen que este metabolito no tiene efectos perjudiciales sobre la salud de las personas que han tomado este suplemento nutricional^{16,55,59}.

2

OBJETO DE ESTUDIO

“El investigador que no sabe lo que está buscando no comprenderá lo que encuentra.”
Claude Bernard



2.1. Hipótesis

2.1.1. Hipótesis general

La suplementación con HMB (3 g/día) durante 8 días tiene efectos positivos en la reducción del catabolismo generado en futbolistas entrenados tras la realización de un ejercicio intermitente de alta intensidad

2.2.2. Hipótesis específicas

- 1) La suplementación con HMB mejora la función muscular después de esfuerzos de alta intensidad y de naturaleza intermitente
- 2) El HMB mejora la respuesta de los marcadores sanguíneos sensibles al daño muscular producido por un esfuerzo intermitente de alta intensidad, junto con otras variables biomédicas.

2.2. Objetivos

2.2.1. Objetivo general

Estudiar los efectos ergogénicos de la suplementación con HMB (3 g/día) durante 8 días sobre el catabolismo generado en futbolistas entrenados tras la realización de un ejercicio intermitente de alta intensidad.

2.2.2. Objetivos específicos

- 1) Estudiar el efecto de la suplementación con HMB en la optimización de la función muscular después de esfuerzos de alta intensidad y de naturaleza intermitente
- 2) Estudiar el efecto del HMB en la respuesta de los marcadores sanguíneos sensibles al daño muscular producido por un esfuerzo intermitente de alta intensidad, junto con otras variables biomédicas.

3

MÉTODOS

“Una persona que nunca cometió un error, jamás probó nada nuevo.”
Albert Einstein



MÉTODOS

El estudio se llevó a cabo siguiendo escrupulosamente las normas deontológicas reconocidas en la Declaración de Helsinki 1996 (revisión de Edimburgo 2000), Convenio de Oviedo y siguiendo las recomendaciones de Buena Práctica Clínica de la CEE (documento 111/3976/88 de julio de 1990) y la normativa legal vigente española que regula la investigación clínica en humanos (Real Decreto 561/1993 sobre ensayos clínicos). Se requirió la firma de un documento de consentimiento informado para participar.

El contenido de los cuadernos de recogida de datos, así como los documentos generados durante todo el estudio, están protegidos de usos no permitidos por personas ajenas a la investigación. Por tanto, la información generada en este ensayo se considera estrictamente confidencial, permitiéndose, sin embargo, su inspección por las Autoridades Sanitarias en lo que se refiere a aspectos clínicos.

A título informativo se les suministró la información obtenida de manera individual a cada interesado.

3.1. Participantes

La muestra objeto del presente estudio se compone de un total 8 hombres con edades comprendidas entre los 18 y 26 años (media 20.6 ± 3.4). La recogida de datos se llevó a cabo entre 2003 y 2004.

Todos los sujetos eran jugadores de fútbol entrenados, pertenecientes a la 3ª división nacional del grupo IX de la Real Federación Española de Fútbol, con un tiempo de práctica medio de 10-12 horas semanales.

Los sujetos estaban bajo la supervisión de un preparador físico, licenciado en Ciencias de la Actividad Física y el Deporte, especialista en fútbol.

Asimismo, cada sujeto fue entrevistado antes de empezar la temporada por un médico que estaba adscrito al régimen de la Federación Española de Fútbol para realizarles una evaluación inicial y completar un breve informe con su historial médico-deportivo¹⁰⁴. Para determinar su posible participación en el

estudio se analizó este informe para corroborar que no presentaba ninguno de los criterios de exclusión indicados a continuación.

Criterios de inclusión

Sujetos que pertenecían al primer equipo del CD Santa Fe (Granada).

Criterios de exclusión

- Tener menos de 18 años cuando se inicia la investigación
- Todos los sujetos con historial de diabetes mellitus
- Antecedentes de problema cardiaco, hepático, renal o pulmonar
- Reciente lesión muscular, articular u ósea
- Fumadores habituales
- Ingesta de algún otro suplemento nutricional durante el estudio
- Consumo de anti-inflamatorios durante el estudio
- Consumo de cafeína en grandes cantidades durante el estudio
- Deficiencia calórica o proteica en la dieta
- No seguir una dieta normal y regular durante el estudio
- No seguir las recomendaciones de ejercicio físico
- Todos los sujetos que sufrieran una contusión severa
- Todos los sujetos que padecieran un proceso febril durante el estudio.
- Sufrir cualquier tipo de lesión durante el estudio.

De la muestra inicial (n=10) fueron excluidos 2 participantes ya que ambos sufrieron lesión grave durante un partido y no pudieron continuar con el estudio. De esta forma, la muestra quedó reducida, de aquí en adelante, para todo el estudio, a 8 participantes.

3.2. Diseño experimental y procedimiento

3.2.1. Diseño, reclutamiento y aleatorización de la muestra

Para la realización de este estudio se optó por desarrollar un diseño cruzado y a doble ciego, en el que una tercera persona se encargó de codificar y suministrar las dosis de placebo o HMB, mediante aleatorización simple, correspondientes a cada uno de los sujetos (véase *Figura 5*)

3.2.2. Protocolo del estudio

Todos los deportistas que participaron en el estudio acudieron antes del inicio del tratamiento a dos sesiones de información y familiarización. En la primera sesión se les explicó el protocolo de suplementación que iban a seguir durante todo el proceso experimental, haciendo referencia a la dosis, momento de la ingesta y duración del proceso, y además, se elaboró un informe sobre su historial médico-deportivo a través de un cuestionario. Asimismo, un experto en nutrición se encargó de mostrar a los jugadores cómo rellenar las hojas de registro nutricional que debían cumplimentar durante el estudio. En la segunda sesión de familiarización, los sujetos acudieron al laboratorio y se les puso en contacto con todo el material de medición que se utilizó en el estudio, explicándoles, además, las pruebas, tanto médicas como físicas, que realizaron antes de completar el LIST_m y al finalizar el mismo. Por último, los sujetos fueron informados sobre cualquier duda que pudieran tener sobre la metodología del estudio.

Para este estudio se compraron todas las cápsulas de placebo o HMB, siendo estas últimas elaboradas y controladas en su composición por el fabricante del suplemento nutricional (Weider Nutrition, S.L., Madrid, España). Las cápsulas con placebo fueron preparadas por una empresa especializada en la fabricación de alimentos con valores nutricionales complementarios (GRANAECO XXI, S.A., Granada, España). Este proyecto no contó con la colaboración, participación o financiación de ningún laboratorio que comercialice o produzca HMB, así como ninguna compañía con algún tipo de interés en los resultados. No existe pues conflicto de interés alguno.

Los dos tipos de cápsulas tenían una textura idéntica, gusto y apariencia. Tanto en el primer período de suplementación como en el segundo, las cápsulas fueron repartidas por una tercera persona el día de antes al comienzo de cada período y esta persona se encargó de distribuir la dosis diaria de cápsulas en bolsitas de plástico independientes para cada día y período, perfectamente etiquetadas. A los sujetos se les aconsejó distribuir la ingesta de la siguiente forma: dos cápsulas una hora y media antes de entrenar y dos cápsulas después de entrenar que debían tomar con agua. La temporización de la ingesta fue establecida atendiendo los niveles de absorción y utilización del HMB en el organismo según los estudios anteriores¹⁰⁵. Por lo tanto, cada sujeto recibió 32 cápsulas que se repartieron 2 veces: una al principio del estudio y la otra en la mitad del mismo coincidiendo ambas con el comienzo de cada uno de los períodos de suplementación, sumando un total de 64 cápsulas. Todos los deportistas fueron reforzados verbalmente cada día para asegurar que se adherían al protocolo experimental, además de pedirles que devolvieran al laboratorio las bolsitas vacías que contenía cada dosis diaria de cápsulas el día de la realización del LIST_m.

A su vez, los sujetos fueron informados de no alterar su estilo de vida o ingesta nutricional durante la investigación. Además del registro nutricional realizado durante los tres días previos al inicio de cada período de suplementación, se realizó un seguimiento diario durante la investigación a cada uno de los sujetos para averiguar y controlar la aparición de algún posible efecto adverso debido al suplemento nutricional que estaban ingiriendo. Los registros nutricionales fueron evaluados y analizados por un especialista en nutrición utilizando un software dietético profesional para realizar estudios de evaluación nutricional en grupos de población¹⁰⁶ (GRUNUMUR, Universidad de Murcia, España). A los participantes del estudio se les realizó una serie de recomendaciones para el día de antes a la extracción sanguínea con el fin de presentarse en el laboratorio al día siguiente bien hidratados, alimentados y descansados. Esas recomendaciones consistían en: 1) no ejercitarse durante las 48 previas a la realización de los test en el laboratorio y tampoco hacerlo el mismo día después de la realización del LIST_m; 2) dormir entre 7-8 horas la noche anterior

a las pruebas; y 3) permanecer en ayuno de 10-12 horas antes de llegar al laboratorio para realizar la primera extracción sanguínea.

Después de realizar las diferentes medidas antropométricas, se continuó con la extracción sanguínea. Posteriormente, y antes del comienzo del LIST_m, los sujetos recibieron un desayuno estandarizado que fue administrado 2 horas previas al test. Recibieron 2 barras energéticas Hero Muesli[®] compuesta cada una por 1.9 g de proteínas; 15.1 g de hidratos de carbono y 4.6 g de lípidos, teniendo un valor energético de 110 Kcal. Junto a las barras tomaron un zumo de frutas y leche de 330 ml y compuesto (valor medio por 100 ml) por 0.4 g de proteínas; 12 g de hidratos de carbono y 0 g de lípidos, además de las vitaminas C (9 mg) y E (1.5 mg), teniendo un valor energético de 50 Kcal.

Después de este desayuno, y en cada período de suplementación distinto, los sujetos completaron los cuestionarios relacionados con aspectos psicológicos y médicos utilizados en la presente Tesis Doctoral como son el test circunplejo de la emociones¹⁰⁷, el test de efectos adversos⁵⁹ y el test de concentración de Harris¹⁰⁸, que es el único de los tres que se volvía a realizar al final del LIST_m.

La batería de los test que implican fuerza y resistencia muscular, composición corporal, aspectos psicológicos y/o médicos, se empleó de forma secuencial al principio y final de la primera parte del estudio, al final del período *wash out* y al final de la investigación. Se realizó un calentamiento de 15 minutos antes de cada sesión de evaluación en el laboratorio. El test principal era el LIST_m y éste estaba complementado por otros test funcionales (salto vertical, velocidad 20 metros, dinamometría y test de agilidad / habilidad con balón) y psicofisiológicos (percepción subjetiva del esfuerzo, de la recuperación, y del dolor muscular percibido) que se realizaron según la planificación de estudio (véase *Figura 6*).

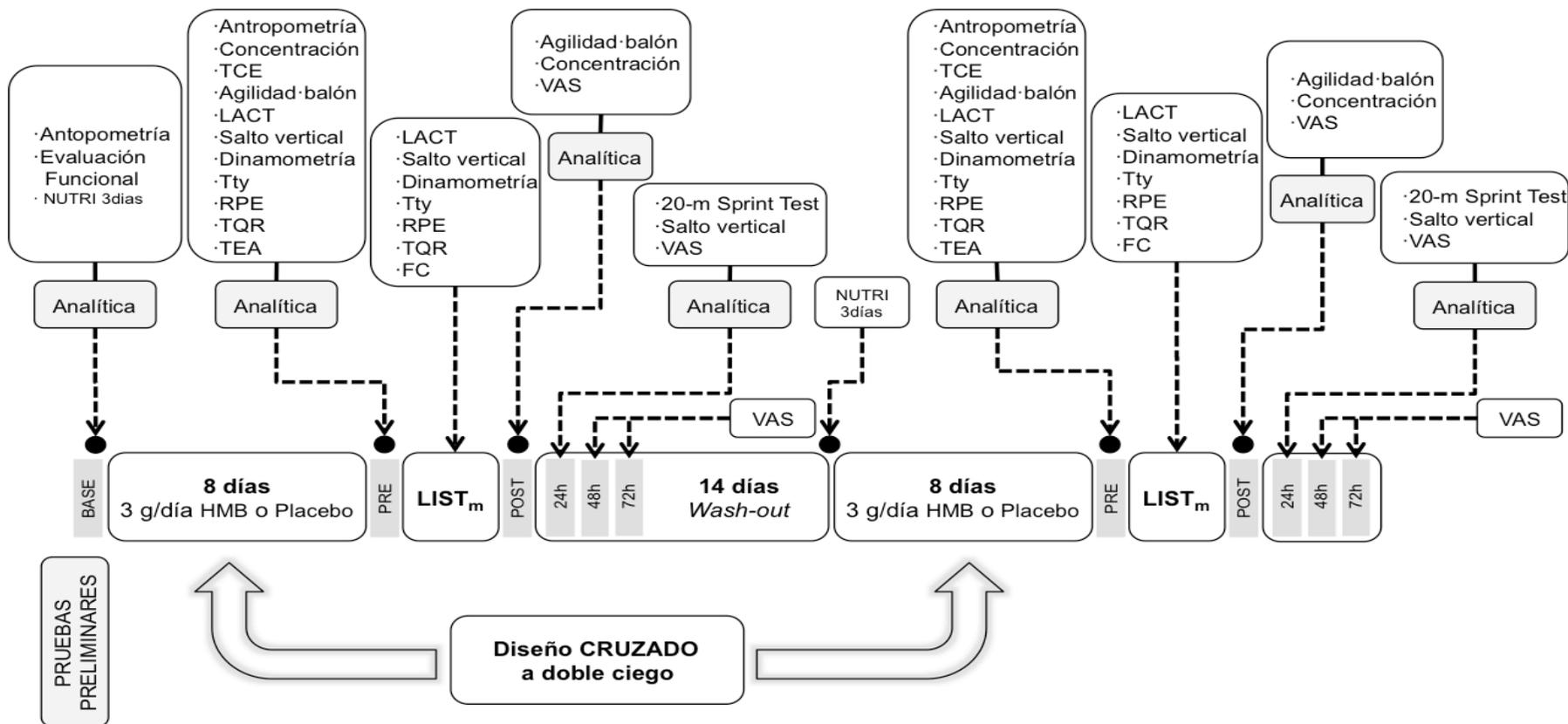


Figura 5. Ilustración gráfica del diseño del estudio general.

Tty temperatura timpánica, *RPE* percepción subjetiva del esfuerzo, *TQR* calidad total en la recuperación, *FC*, frecuencia cardiaca, *VAS* escala visual analógica, *NUTRI 3 días* encuesta nutricional durante los 3 últimos días antes de empezar un período de suplementación, *HMB* β-hidroxi-β-metilbutirato, *LIST_m* Loughborough Intermittent Shuttle Test modificado, *TEA* test de efectos adversos, *TCE* test circunplejo de las emociones, *LACT* lactato, *BASE* basal.

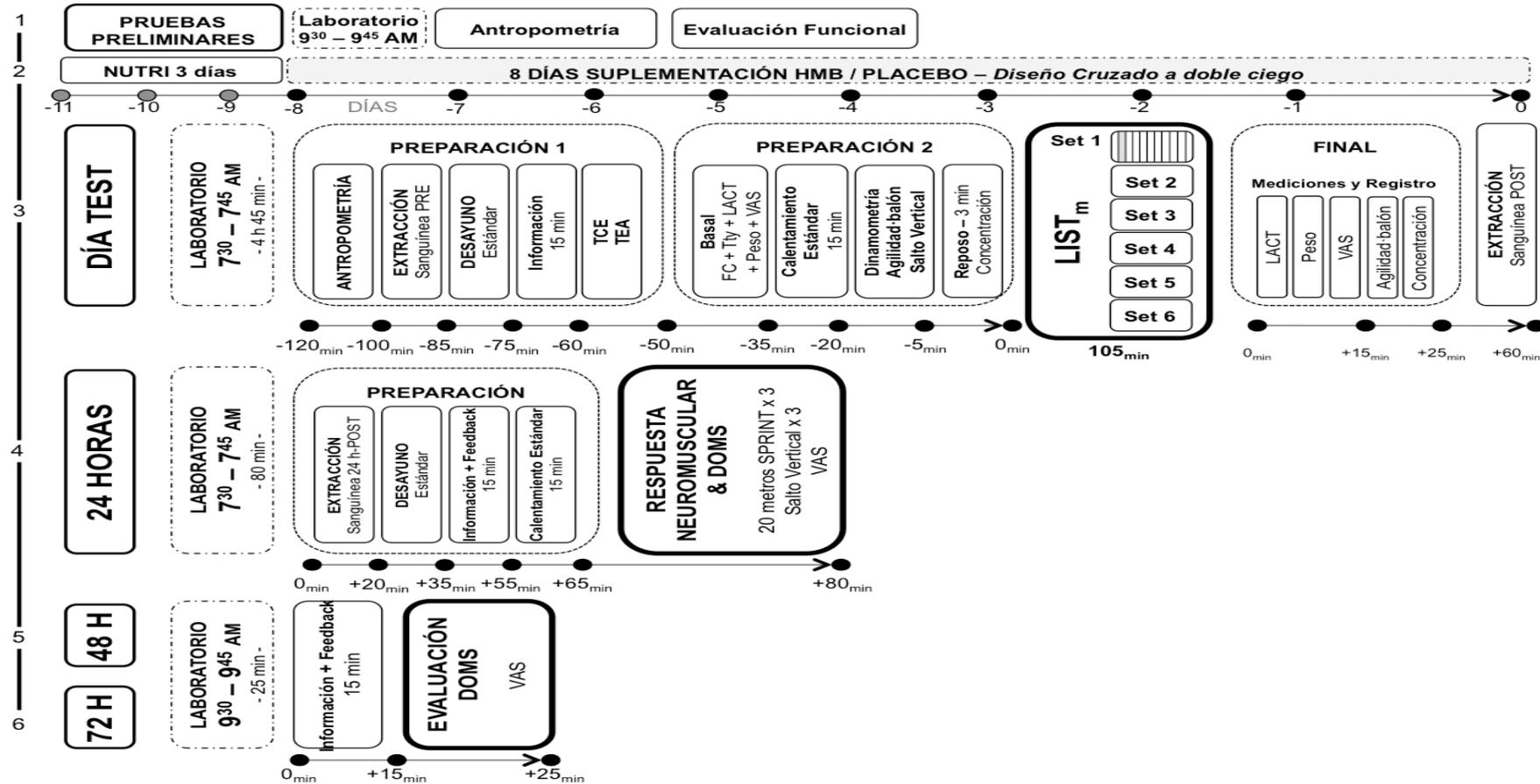


Figura 6. Ilustración gráfica del protocolo y de la temporización de las mediciones realizadas en este estudio.

Tty temperatura timpánica, *RPE* percepción subjetiva del esfuerzo, *TQR* calidad total en la recuperación, *FC*, frecuencia cardiaca, *VAS* escala visual analógica, *NUTRI 3 días* encuesta nutricional durante los 3 últimos días antes de empezar un período de suplementación, *HMB* β-hidroxi-β-metilbutirato, *LIST_m* Loughborough Intermittent Shuttle Test modificado, *TEA* test de efectos adversos, *TCE* test circunplejo de las emociones, *LACT* lactato, *DOMS* delayed onset muscular soreness.

3.2.3. Loughborough Intermittent Shuttle Test modificado (LIST_m)

De acuerdo con los estudios realizados por Thomson et al.⁸² se utilizó esta prueba para valorar la capacidad de resistencia a un esfuerzo intermitente de larga duración y analizar el daño muscular producido en el organismo del deportista a nivel metabólico y funcional. El test consistió en realizar un esfuerzo durante 90 minutos, dividido en seis períodos de 15 minutos, alternados con 3 minutos de recuperación entre cada uno de ellos (véase *Figura 7*). Los sujetos actuaron como su propio control al ser un estudio con un diseño cruzado con medidas repetidas. El test original fue diseñado por Nicholas et al.¹⁰⁹ para simular las demandas físicas a las que se enfrenta un jugador de fútbol durante un partido^{110,111}.

El LIST_m se realizó entre la sala del laboratorio con una temperatura ambiente que se mantenía constante entre 16 y 18 °C y un espacio exterior de usos múltiples anexo. Los participantes debían correr en el tapiz rodante y entre dos líneas, separadas por 20 metros más 3 metros para desacelerar, a varias velocidades establecidas en función de los valores obtenidos en su VO₂max. Las velocidades de carrera y caminar cada 60 metros las marcó el tapiz rodante y no se produjo ningún cambio de dirección. La toma de tiempos de cada repetición a velocidad máxima se midió en una sola dirección sobre los 20 metros establecidos a través de un cronometro manual digital de la marca DigiSport modelo DTM100 (AXPROD SL, Irún, España).

El Loughborough Intermittent Shuttle Test original (LIST_{original}) estaba compuesto por dos partes¹⁰⁹. Una primera parte de duración fija y una segunda parte de duración abierta. En la presente Tesis Doctoral como en otros estudios anteriores^{82,112}, el LIST_m estaba compuesto por una sola parte fija. El principal motivo es porque los resultados encontrados en la realización de la parte fija supuso el descenso del rendimiento necesario para cuantificar la fatiga sin necesidad de variar esta parte; por otro lado, otros estudios también han acertado el mismo¹¹³⁻¹¹⁵. Cada período de trabajo estaba formado por un patrón de carreras intermitentes de alta intensidad.

Este patrón se repetía a lo largo del test según esta secuencia:

- 60 metros caminando ($\bar{x} = 5.54$ km/h)
- 20 metros a la velocidad máxima
- 4 segundos de recuperación activa (caminando despacio)
- 60 metros al 95% de la velocidad máxima del $VO_2\text{max}$ ($\bar{x} = 12.00$ km/h)
- 60 metros al 55% de la velocidad máxima del $VO_2\text{max}$ ($\bar{x} = 10.29$ km/h)

Este patrón de esfuerzo se repetía durante 11 repeticiones y cuando se completaba se había realizado un *set*. Después comenzaba un período de 3 minutos donde se le medía el salto vertical, el lactato, la presión manual y la temperatura timpánica al sujeto antes de comenzar con el siguiente *set*.

A lo largo del $LIST_m$, cada sujeto grabó su frecuencia cardiaca (FC) en un monitor Polar S610i® (Polar Electro, Kempele, Finlandia) y además se registró el tiempo de cada uno de las repeticiones realizadas a máxima velocidad y se definió el término Índice de Fatiga (*fatigue index*, FI), de acuerdo con estudios anteriores^{114,116–119}, como el % de aumento en el tiempo (*t'*) en segundos, entre el primer y último sprint^{114,120}. El cálculo fue el siguiente:

$$FI (\%) = ((t' \text{ sprint } 11 - t' \text{ sprint } 1) / t' \text{ sprint } 1) \times 100$$

Antes de comenzar con el $LIST_m$ se registró la frecuencia cardiaca y el valor de RPE y TQR para determinar los valores iniciales en reposo. Estas variables también se midieron final de cada *set* del $LIST_m$, durante el período de descanso. Seguidamente cada uno de los sujetos realizó un calentamiento de 15 minutos aproximadamente que consistió en 5 minutos de carrera al 40% de la velocidad máxima de su $VO_2\text{max}$, junto con ejercicios de preparación muscular como rodillas altas, talón al glúteo, *lunges* dinámicos y tres repeticiones de 20 metros en sprint, para terminar con unos ejercicios de estiramiento dinámico de la musculatura del cuádriceps, isquiotibiales y gemelos¹¹⁴. Por otro lado, la ingesta de agua durante todo el test fue *ad libitum* y se registró en hojas preparadas para tal efecto.

A lo largo de todo el test se pretendió que el sujeto no se distrajera y pasara sin interacciones entre el investigador y los participantes.

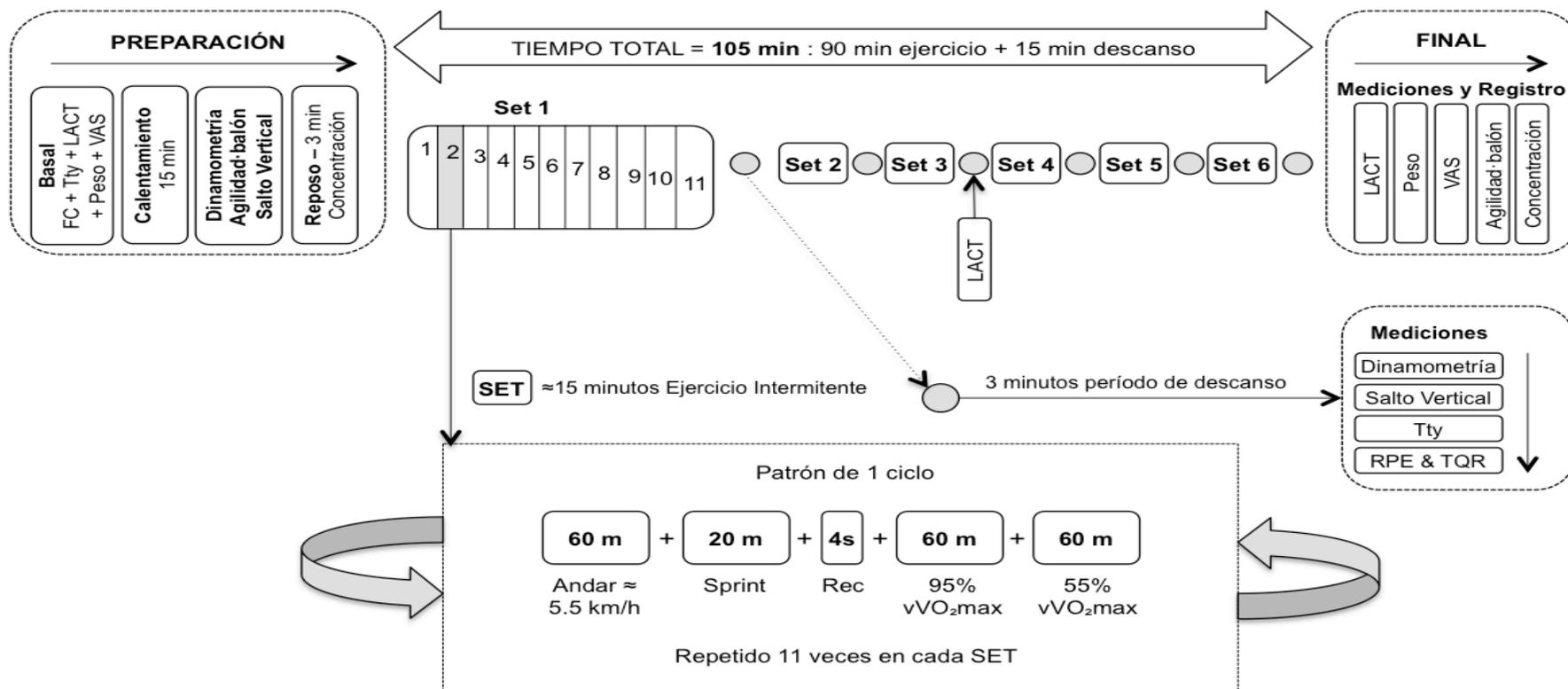


Figura 7. Ilustración gráfica del protocolo del Loughborough Intermittent Shuttle Test modificado.

Tty temperatura timpánica, RPE percepción subjetiva del esfuerzo, TQR calidad total en la recuperación, FC, frecuencia cardiaca, VAS escala visual analógica, NUTRI 3 días encuesta nutricional durante los 3 últimos días antes de empezar un período de suplementación, HMB β-hidroxi-β-metilbutirato, LIST_m Loughborough Intermittent Shuttle Test modificado, TEA test de efectos adversos, TCE test circunplejo de las emociones, LACT lactato, Rec recuperación activa, vVO₂max velocidad al consumo máximo de oxígeno.

3.2.4. Intervención Suplementación HMB vs. placebo

Los deportistas fueron asignados de forma aleatoria a cada uno de los grupos establecidos durante dos períodos de suplementación distintos. En el primer período de suplementación, 4 sujetos fueron suplementados con 3 gramos al día con la sal cálcica de HMB (Ca-HMB) durante 8 días, mientras los otros 4 sujetos recibieron placebo. Posteriormente, se estableció un período de *wash out* o reposo farmacológico de 14 días para excluir los efectos residuales del tratamiento previo. Diversos estudios han señalado que los valores de HMB vuelven a su nivel basal sobre el cuarto día después de un determinado período de suplementación^{20,121}. Después de este período de *wash out*, los deportistas cruzaron al otro tratamiento y se repitió el protocolo. Durante el primer período de suplementación, los sujetos tuvieron que ingerir ya sea HMB o placebo, compuesto por maltodextrina, en cápsulas idénticas de 750 mg durante un período de 8 días. Se les informó que debían ingerir 4 cápsulas al día, o lo que es lo mismo, un total de 3 g/día.

3.2.5. Entrenamiento

El entrenamiento realizado por los participantes durante este estudio fue coordinado con los días de entrenamiento del equipo al que pertenecían. La suplementación se realizó durante 8 días en los que los sujetos realizaron 3 entrenamientos de campo y un partido (véase *Figura 8*). Las sesiones de entrenamiento fueron elaboradas bajo los principios de la teoría dinámica de sistemas para cada uno de los días de entrenamiento¹²² así como su contenido estaba contextualizado dentro de la dinámica de la semana de competición. No se realizó el control del entrenamiento de campo. Todos los participantes jugaron el partido completo y completaron todos y cada uno de los distintos entrenamientos a lo largo de cada uno de los períodos de suplementación.

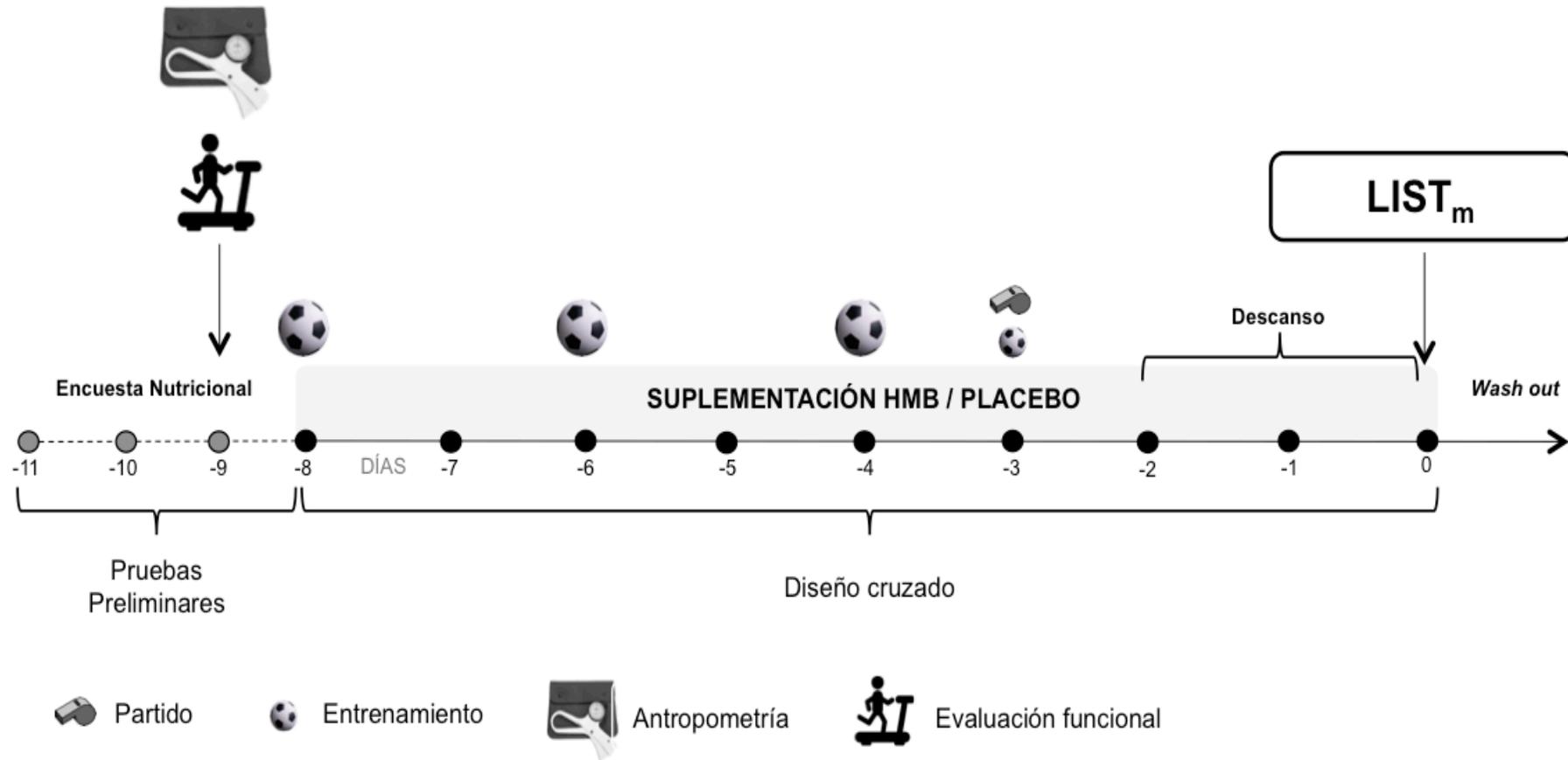


Figura 8. Ilustración gráfica de la temporización de los entrenamientos realizados durante el estudio antes del día de la realización del Loughborough Intermittent Shuttle Test modificado.

HMB β-hidroxi-β-metilbutirato, *LIST_m* Loughborough Intermittent Shuttle Test modificado.

3.3. Variables estudiadas - Parte I: estudio de la función muscular y medidas de percepción del esfuerzo realizado

3.3.1. Batería de pruebas para valorar la función muscular después de realizar el LIST_m.

Los sujetos participantes en el estudio realizaron una batería de dos pruebas con el objetivo de valorar, de forma indirecta, el daño muscular producido a través del rendimiento obtenido en 3 repeticiones a máxima velocidad en 20 metros con un descanso de 1 minuto entre cada una de ellas. La toma de tiempos fue a través de un cronometro manual digital de la marca DigiSport modelo DTM100 (AXPROD SL, Irún, España). Después de un período de descanso de 2 minutos, los sujetos realizaron 3 repeticiones de un salto vertical con acción de brazos con 30 segundos de descanso entre cada salto⁸², descrito según el protocolo de Bosco¹²³. La altura de los saltos fue registrada con la plataforma de contacto ErgoJump Bosco System (Byomedic SL, Barcelona, Spain). Esta plataforma es un alfombrilla conductora conectada a un sistema electrónico de tiempo. El tiempo se conecta cuando el sujeto despegar de la alfombrilla y se desconecta cuando aterriza en ella con los dos pies a la vez dentro de la misma.

Estas pruebas fueron realizadas por cada uno de los participantes del estudio a las 24 horas después de haber realizado el LIST_m.

3.3.2. Dolor muscular percibido a través de la Escala Visual Analógica con 11 categorías

Evaluar la intensidad del dolor era algo fundamental y la Escala Visual Analógica (*Visual Analogue Scale*, VAS) es un método de una alta validez y fiabilidad para conseguir este objetivo¹²⁴. Se le pidió a cada participante de la presente Tesis Doctoral que registrara el dolor muscular percibido en la musculatura de las piernas^{81,82}, después de la realización del LIST_m, utilizando la VAS¹²⁵⁻¹²⁷. La escala utilizada es una variación de la Escala Visual Analógica de Huskisson¹²⁵ que se puede llamar también Escala de Calificación Numérica (ECN) con 11 categorías que van del 0 al 10 en

creciente intensidad de dolor^{124,127}, donde el 0 indicaba que no tenía dolor y el 10 significaba que los músculos dolían demasiado para moverse. En este rango de valores numéricos se distinguían 6 bloques de sensaciones: 1) no hay dolor=0; 2) dolor moderado=1-2 (no hay limitación en las actividades); 3) dolor molesto= 3-4 (necesito descansar entre las actividades); 4) dolor importante= 5-6 (limitación en ciertas actividades); 5) dolor intenso=7-8 (limitación en la mayor parte de actividades); y 6) dolor insoportable=9-10 (limitación total en la actividad). Asimismo cada categoría venía asociada a una representación gráfica facial que se correlacionaba con la intensidad del dolor descrito en la escala y poder reflejar la puntuación más apropiada y exacta en la musculatura afectada. Cada sujeto utilizó un rotulador para indicar, en un diagrama de toda la musculatura corporal (vista anterior y posterior), la musculatura y nivel de dolor que estaba experimentando. Con las manos en la cintura y realizando un movimiento de *squat* o media sentadilla con una angulación de rodilla de aproximadamente 90°, cada participante indicó su nivel de dolor basado en la anterior escala a través de un ejercicio dinámico donde solicitara la musculatura dañada por la realización del LIST_m⁸¹, concretamente cuádriceps, abductores, aductores, glúteo, isquiotibiales y tríceps sural. Esta técnica ha sido utilizada con éxito por otros estudios anteriores^{128,129}. El dolor muscular percibido se registró antes del comienzo del LIST_m, inmediatamente después y durante los tres días siguientes a la realización del test (24, 48 y 72 horas).

3.3.3. Percepción subjetiva del esfuerzo y de la recuperación

La percepción subjetiva del esfuerzo (*Rated Perceived Exertion*, RPE) fue anotada en la escala establecida por Borg¹³⁰ con un rango de valor entre 6-20 puntos, en el último minuto de cada período de recuperación del LIST_m para asegurar que el esfuerzo percibido hacía referencia a todo el *set* de trabajo y no solo al último ciclo¹³¹. Se utilizó esta escala por la correlación significativa existente entre la percepción subjetiva del esfuerzo y la FC de un determinado ejercicio, siendo un método fiable para cuantificar el esfuerzo realizado por cada sujeto durante su participación en el LIST_m¹³¹⁻¹³³

aunque no aparezcan cambios de dirección, acciones con balón u otros aspectos propios del fútbol¹³⁴.

La percepción subjetiva del grado de recuperación al esfuerzo se registró a través del test de calidad de la recuperación (*Total Quality Recovery*, TQR)¹³⁵. Este test se utilizó para medir el proceso de recuperación de cada sujeto a través de una escala que cuantificaba la calidad total de la misma. Este método ha sido utilizado con éxito en la predicción del rendimiento deportivo en velocistas^{136,137}. Esta escala enfatiza tanto en la percepción de la recuperación como en la importancia de establecer las medidas apropiadas de forma activa para mejorar este proceso por parte del atleta. En el presente estudio, se les preguntó a los participantes que anotaran en la escala establecida su grado de recuperación durante el último minuto antes de comenzar el siguiente ciclo de trabajo de 15 minutos del LIST_m.

Esta forma de registrar la RPE y la TQR permitió recoger todos los datos sin molestar o entorpecer el desarrollo fluído en la realización del LIST_m. Asimismo, todos los participantes fueron habituados a estas escalas antes del principio del estudio y la realización del LIST_m y siguieron las instrucciones estandarizadas para su aplicación.

3.4. Variables estudiadas - Parte II: estudio hematológico y bioquímico

La presente Tesis Doctoral se realizó en un total de 8 sujetos en la primera fase de suplementación y después los mismos 8 sujetos en la segunda fase de suplementación. Las extracciones de sangre y su posterior análisis se realizaron en el Hospital Clínico Universitario de San Cecilio (Granada).

Las muestras de sangre se recogieron en el laboratorio tras ayuno de 10-12 horas, a primera hora de la mañana, entre las 8:00 y 8:30 a.m., por punción de la vena cubital. Parte de la sangre se recogió en vacutainers con K₃EDTA de 5ml (1 tubo), heparina, citrato y en tubos sin anticoagulante de 7ml (3 tubos) para la obtención de suero. Inmediatamente después de la venopunción los tubos sin anticoagulante, se trasladaron en baño de hielo antes de una hora al laboratorio para su proceso, dejándolos 30 minutos aproximadamente a temperatura ambiente. Estos tubos se centrifugaron a una velocidad de 3000 revoluciones/minuto durante 10 minutos (Centrifuge 5810R). Posteriormente, el plasma y el suero resultante de dos de los tres tubos sin anticoagulante se separaron en alícuotas y congelaron en un arcón a –80 °C (Forma Scientific, Bio-Freezer 8417) para los análisis posteriores. El suero restante se utilizó para el análisis bioquímico correspondiente. Por otro lado, el plasma sobrante del vacutainer con K₃EDTA se congeló a –80 °C para los análisis posteriores^{37,76}.

Las extracciones sanguíneas se realizaron con la siguiente secuencia temporal: 1) Basal que se realizó 48 horas antes del inicio del primer período de suplementación; 2) Pre-Test que se realizó antes de la realización del LIST_m; 3) Post-Test que se realizó 60 minutos después de la realización del LIST_m; y 4) 24h-Post Test que se realizó 24 horas después de la realización del test principal.

Con la sangre, procedente de los tubos anticoagulados con K₃EDTA, se realizaron las siguientes determinaciones:

- Hemograma completo
- Recuento de reticulocitos porcentuales y en valores absolutos mediante el analizador Coulter Gen-S (Coulter Corp., Miami, USA).

- Se realizaron dos frotis sanguíneos para comprobación óptica de la fórmula leucocitaria y contar la segmentación de los neutrófilos con el fin de calcular el índice de lobularidad de cada muestra.

- 200 microlitros de sangre se hemolizaron con *hemolysate reagent* para la determinación del folato intraeritrocitario, la muestra se procesó inmediatamente o se congeló a -30°C para su análisis posterior, siempre antes de 1 semana.

- 1000 microlitros para las determinaciones bioquímicas que se analizaron inmediatamente o se congelaron a -80°C hasta su análisis.

Los tubos sin anticoagulante conservados en baño de hielo desde la extracción de la sangre, se centrifugaron en una centrifugadora refrigerada durante la primera hora desde la extracción y se separaron las siguientes alícuotas:

- 400 microlitros para la determinación de Homocisteína, que se realizó inmediatamente o se congeló a -30°C hasta su análisis.

- 1000 microlitros para las determinaciones de vitamina B₁₂ y ácido fólico, las muestras se analizaron inmediatamente o se congelaron a -30°C hasta su análisis.

- 1000 microlitros para las determinaciones del metabolismo férrico, transferrina, ferritina, receptores solubles de la transferrina y haptoglobina, estas muestras se analizaron inmediatamente con el analizador Hitachi 900 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

3.4.1. Parámetros hematológicos

3.4.1.1. *Hemograma completo*

La sangre anticoagulada con K₃EDTA se procesó en el analizador ADVIA 120 (Bayer HealthCare, Diagnostics Division, Tarrytown, NY, USA). Se determinaron los siguientes parámetros:

- Leucocitos
- Hematíes

- Hemoglobina
 - Hematocrito
- Volumen corpuscular medio (VCM)
- Hemoglobina corpuscular media (HCM)
- Concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM)
- Amplitud de la distribución eritrocitaria (ADE)
- Plaquetas
- Volumen plaquetario medio (VPM)
- Fórmula leucocitaria en valores porcentuales y absolutos con recuento de neutrófilos, linfocitos, monocitos, eosinófilos, basófilos y células grandes no teñidas (LUC)

Se calculó el índice de reticulocitos con sangre anticoagulada con K₃EDTA en el Coulter modelo Gen-S (Coulter Corp., Miami, USA), obteniéndose los reticulocitos porcentualmente y en valores absolutos (valores de normalidad del laboratorio 0.5-1.5% ó 25-85.000 mmcc)

3.4.2. Parámetros bioquímicos-hematológicos

3.4.2.1. *Indicadores del metabolismo férrico*

a) *Hierro sérico*

Se determinó por método colorimétrico que se realiza en tres pasos: primero en medio ácido se separa el hierro de la transferrina, reducción del hierro férrico a ferroso mediante el ascorbato y por último los iones ferrosos reaccionan con un cromógeno el FerroZine para formar un complejo cromático. La intensidad del color es directamente proporcional a la concentración férrica y se mide fotométricamente en el autoanalizador Hitachi 911¹³⁸ (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) (Valores de normalidad del laboratorio 45-150 µg/dl), y para el control de calidad interno se utilizaron Precinorm universal y Precipath universal (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

b) Transferrina

Se determinó por método inmunoturbidimétrico. Los anticuerpos anti-transferrina reaccionan con el antígeno de la muestra formando un complejo antígeno-anticuerpo que se mide turbidimétricamente después de la aglutinación en el autoanalizador Hitachi 911 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany). La adición de polietilenglicol (PEG) posibilita alcanzar un rápido punto final y aumentar la sensibilidad (valores de normalidad del laboratorio 200-360 mg/dl), y para el control de calidad interno se utilizaron Precinorm proteínas y Precipath proteínas (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

c) Índice de saturación de la transferrina (IST)

Se obtuvo por cálculo matemático con la siguiente fórmula:

$IST = (\text{Hierro Sérico} \times 100) / (1.39 \times \text{Transferrina})$ con valores de normalidad de laboratorio 20-30%

d) Ferritina

Se determinó por método inmunoturbidimétrico. Los anticuerpos anti-ferritina fijados a látex reaccionan con el antígeno de la muestra formando un complejo antígeno-anticuerpo que se mide después de la aglutinación por turbidimetría en el autoanalizador Hitachi 911 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) (valores de normalidad del laboratorio 15-350 µg/ml), y para el control de calidad interno se utilizaron Precinorm proteínas y Precipath proteínas (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

e) Receptores solubles de la transferrina (sTfR)

Los anticuerpos anti-sTfR fijados a látex reaccionan con el antígeno de la muestra formando un complejo antígeno-anticuerpo que se mide después de la aglutinación por turbidimetría en el

autoanalizador Hitachi 911 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) (valores de normalidad del laboratorio 2.5-4.5 mg/l), y para el control de calidad interno se utilizaron Precinorm proteínas y Precipath proteínas (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

3.4.2.2. Indicadores de miolisis

a) Haptoglobina

Es un marcador de hemolisis. Los anticuerpos anti-haptoglobina reaccionan con los antígenos de la muestra formando un complejo antígeno-anticuerpo que se mide turbidimétricamente en el autoanalizador Hitachi 911 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) (valores de normalidad del laboratorio 30-200 mg/dl), y para el control de calidad interno se utilizaron Precinorm proteínas y Precipath proteínas (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany).

b) Lactato deshidrogenasa (LDH)

Método cinético enzimático que se realizó en el autoanalizador BH/Hitachi 917 (Boehringer Mannheim, Germany), utilizándose controles y calibradores de la misma marca (valores de normalidad del laboratorio 230-460 U/l)

c) Alfa-actina

Técnica de Western Blot para el marcador α -actina ($\mu\text{g/ml}$) según se había descrito anteriormente¹³⁹. El análisis densitométrico se realizó a través de un escáner con imágenes rayos X de las membranas (Fluorine-S Multmager, Bio-Rad, Hercules, CA, USA). Este procedimiento se repitió durante cada muestra del estudio. La α -actina es un marcador novedoso y fiable con una alta sensibilidad (63.3-100%) al daño muscular específico producido en atletas¹⁴⁰⁻¹⁴² y es por ello que se decidió incluirla en este estudio (valores de normalidad del laboratorio 0.00-1.359 $\mu\text{g/ml}$)

d) *Creatin kinasa*

Los valores de CK fueron determinados por el método cinético IFCC-CR-NAC: unitest y AA (Wiener Laboratories, Rosario, Argentina) (valores de normalidad 40-200 U/l)

3.4.2.3. *Indicadores del estatus vitamínico*

a) *Cianocobalamina (Vitamina B₁₂)*

Técnica de enzimoimmunoensayo que utiliza la tecnología de micropartículas (*microparticle enzyme immunoassay*, MEIA) en el autoanalizador IMx (Abbott Laboratory, Chicago, USA). Las micropartículas recubiertas de factor intrínseco se unen a la B₁₂ de la muestra tratadas con NaOH y KCN formando un complejo factor intrínseco-B₁₂, posteriormente se añade un conjugado B₁₂ fosfatasa alcalina formándose un complejo entre el conjugado y las micropartículas recubiertas de factor intrínseco, se añade un sustrato el 4-metilumbeliferona fosfato y el producto fluorescente resultante se mide por un sistema óptico MEIA (valores de normalidad del laboratorio 179-1132 µg/ml)

b) *Ácido fólico*

Técnica de enzimoimmunoanálisis de fluorescencia, en este método, la matriz de fibra de vidrio de la celdilla de reacción se ha recubierto de un compuesto de amonio cuaternario de elevado peso molecular, que confiere una carga positiva y capacidad de capturar compuestos de carga negativa. Durante el análisis, se forman complejos cargados negativamente, utilizando un reactivo de afinidad soluble compuesto de una proteína folato-ligante unida a anticuerpos monoclonales y ligados a su vez a carboxi-metil-celulosa. En el laboratorio se utilizó un método automatizado de inmunoanálisis de fluorescencia polarizada comercializado por IMx Abbott (Abbott Diagnostics, IL, USA) (valores de normalidad en el laboratorio > 6 ng/ml)

c) Homocisteína

Técnica de inmunoanálisis de polarización de la fluorescencia (*fluorescence polarization immunassay*, FPIA) que utiliza el autoanalizador IMx (Abbott Laboratory, Chicago, USA). La homocisteína en forma oxidada se reduce a homocisteína libre y esta se convierte enzimáticamente en S-adenosil-L-Homocisteína (SAH), se añade un anticuerpo monoclonal, la SAH y el trazador marcado con fluorescencia compiten por los sitios de unión del anticuerpo monoclonal, la intensidad de la luz polarizada se mide con el sistema óptico FPIA (valores de normalidad en nuestro laboratorio 5-12 µg/ml)

3.4.3. Parámetros bioquímicos

3.4.3.1. *Perfil lipídico*

a) Colesterol total

Test enzimático colorimétrico (kit Chop-PAP) comercializado por Roche (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) que utiliza suero y se realizó en el autoanalizador BH/Hitachi 917 (Boehringer Mannheim, Germany), utilizándose controles y calibradores de la misma marca (valores de normalidad 120-220 mg/dl)

b) Triglicéridos

Test enzimático colorimétrico (kit Chop-PAP) comercializado por Roche (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) que utiliza suero y se realizó en el autoanalizador BH/Hitachi 917 (Boehringer Mannheim, Germany), utilizándose controles y calibradores de la misma marca (valores de normalidad del laboratorio 50-170 mg/dl)

c) HDL-Colesterol

Test enzimático colorimétrico (kit Chop-PAP) comercializado por Roche (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) que utiliza suero

y se realizó en el autoanalizador BH/Hitachi 917 (Boehringer Mannheim, Germany), utilizándose controles y calibradores de la misma marca (valores de normalidad del laboratorio 27-67 mg/dl)

d) LDL-Colesterol

Se calculó con la fórmula de Friedewald¹⁴³: LDL-Colesterol (mg/dl) = Colesterol total – (Triglicéridos / 5 + HDL-Colesterol) (valores de normalidad del laboratorio <130 mg/dl)

e) Lp (a)

Técnica de inmunoturbidimetría que se realizó con suero en el autoanalizador Hitachi 911 (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) y que utiliza reactivos, calibradores y controles de la misma marca (valores de normalidad del laboratorio 2-200 mg/dl)

3.4.3.2. Perfil hormonal

a) Testosterona

Técnica de inmunoensayo tipo *sandwich* para la hormona testosterona (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) que utiliza suero y que se realizó en el autoanalizador Elecsys 2010 de la misma marca (valores de normalidad del laboratorio 0.020-14.90 ng/ml)

b) Hormona de Crecimiento

Test enzimático colorimétrico (kit ELISA) comercializado por Roche (Roche Diagnostics, Mannheim, Germany) que utiliza suero y que se realizó en el autoanalizador Elecsys 2010 de la misma marca (valores de normalidad del laboratorio < 8 µg/L)

c) Factor de crecimiento insulínico-1 (IGF-1)

Técnica de ensayo por inmunoabsorción ligado a enzimas mediante kit Quantikine Human (R&D Systems Minneapolis, MN,

USA) que utiliza suero y que se realizó en el espectrofotómetro SpectraMax (Molecular Devices, Aunnyvale, CA, USA) (valores de normalidad del laboratorio 116-358 µg/L)

d) Insulina

Técnica de inmunoensayo tipo sándwich para la insulina (Roche Diagnostics, IN, USA) que utiliza suero y que se realizó en el autoanalizador Elecsys 2010 de la misma marca (valores de normalidad del laboratorio 5-25 µU/mL)

e) Cortisol

Técnica de ensayo por inmuno absorción ligado a enzimas mediante kit Cortisol RIA (Izotop, Budapest, Hungría) (valores de normalidad 147-726 nmol/L)

Todas las muestras de cada ensayo fueron analizadas de una vez por el mismo técnico para eliminar la varianza inter-ensayo.

Debido al gran despliegue tanto en el panel bioquímico como en el hematológico (véase *Tabla 1*), la presente Tesis Doctoral se ha centrado en estudiar el comportamiento de una serie de índices que pueden ayudar a entender las adaptaciones producidas por el organismo como respuesta a un estrés fisiológico determinado. Estos índices se pueden resumir en: a) los índices que representan el daño muscular, tales como CK, LDH, α -actina, haptoglobina; b) los índices que representan la respuesta hormonal, en GH, IGF-1, testosterona, insulina y cortisol; c) los índices de aportan información sobre la inflamación producida, tales como la homocisteína, ácido fólico y vitamina B₁₂; y d) los índices responsables del metabolismo del hierro, en valores como los de la ferritina, la transferrina y la sTfR.

Tabla 1. Panel resumen de hematología y bioquímica de las diferentes extracciones sanguíneas realizadas.

HEMATOLOGÍA		BIOQUÍMICA	
HEMOGRAMA	METABOLISMO DEL HIERRO		PERFIL LIPIDOS
Leucocitos	Hierro		Colesterol
Hematíes	Transferrina		Triglicéridos
Hematocrito	IST		HDL-col
VCM	Ferritina		LDL-col
HCM	sTfR		Lp (a)
CHCM			
ADE			
Plaquetas			
VPM			
LUC			
	MARCADORES MIOLISIS	MARCADORES INFLAMACIÓN	PERFIL HORMONAL
	Haptoglobina	Homocisteína	Testosterona
	CK	Ácido fólico	GH
	LDH	Vitamina B ₁₂	IGF-1
	α-actina		Insulina
			Cortisol

VCM volumen corpuscular medio, HCM hemoglobina corpuscular media, CHCM concentración de hemoglobina corpuscular media, ADE índice de dispersión eritrocitaria, VPM volumen plaquetario medio, LUC Fórmula leucocitaria en valores porcentuales y absolutos, sTfR receptor soluble de la transferrina, Lp (a) lipoproteína a.

3.5. Variables estudiadas - Parte III: estudio de otras pruebas complementarias

3.5.1. Medidas antropométricas

El perfil antropométrico se registró antes del comienzo de cada período de suplementación y al finalizar dicho período a la misma hora del día. Las medidas se llevaron a cabo por la mañana antes de realizar la extracción sanguínea y cualquier actividad deportiva. Se habilitó una habitación confortable con una temperatura ambiente entre 22 y 24°C para la toma de datos. En el momento de la evaluación los sujetos estaban descalzos y con ropa cómoda que permitía el acceso a todos los puntos anatómicos. Los procedimientos y puntos anatómicos donde se realizaron las mediciones fueron los descritos por la Sociedad Internacional para el Avance de la Kineantropometría (*International Society for the Advancement of Kinanthropometry*, ISAK)¹⁴⁴. Se tomaron 6 cutáneos descritos por Carter¹⁴⁵: subescapular, tricipital, supraespinal, abdominal, muslo anterior y pierna medial. Además de estos pliegues se tomaron la estatura, la masa corporal, las tres longitudes (muslo, pierna y miembro inferior), los tres diámetros (biestiloideo, biepicondileo humeral y bicondileo femoral) y los cinco perímetros (brazo relajado, brazo contraído, antebrazo, muslo y pierna) siguiendo los protocolos descritos por la ISAK. Para el posterior análisis se utilizó la media de las tres mediciones correctas en cada una de las variables descritas anteriormente. La estatura se tomó usando un tallímetro SECA (SECA Ltd., Alemania) con una sensibilidad de 0.1 cm. La masa corporal se obtuvo utilizando una báscula de precisión SECA con una sensibilidad de 0.1 kg. (SECA Ltd., Alemania). Las medidas fueron tomadas por un especialista en antropometría nivel 3 de la ISAK (con un error de medida < 3%). El valor de los 6 pliegues de grasa subcutánea fueron obtenidos utilizando el plicómetro Holtain (Holtain Ltd., Alemania) con una sensibilidad de 0.2 mm. Para los diámetros óseos se utilizó un paquímetro GPM (SiberHegner Ltd, Japón), para los perímetros una cinta antropométrica Holtain (Holtain Ltd., Alemania) y para las longitudes se empleó un antropómetro GPM

(SiberHegner Ltd, Japón) con una sensibilidad de 0.1 cm en las tres últimas herramientas de medición.

La composición corporal se calculó de forma indirecta a partir de ecuaciones, que se seleccionaron de las ecuaciones empleadas en otros estudios con deportistas debido al carácter específico de la muestra¹⁴⁶. El porcentaje de grasa se calculó a partir de la ecuación propuesta por Yuhasz y modificada Faulkner¹⁴⁷. Para el cálculo de la masa residual se utilizó la ecuación de Würch¹⁴⁸. Para el cálculo de la masa muscular se utilizó la ecuación de Lee¹⁴⁹. Y por último, para el peso óseo se utilizó la ecuación de Von Döbeln modificada por Rocha^{150,151}.

Se tomaron las medidas en el lado dominante, entendiendo este concepto como el lado del miembro inferior utilizado principalmente en la práctica del fútbol. Se calculó la composición corporal y los componentes del somatotipo teniendo en cuenta el método antropométrico Heath Carter¹⁵² y la relación que se establece entre la adiposidad, la masa muscular y el tejido óseo.

Para el análisis y procesamiento de estos datos se utilizó un software específico de antropometría con aplicación a diferentes deportes (AntropoSport Software, Universidad de Granada, España)¹⁵³, creado por el doctorando de la presente Tesis Doctoral.

3.5.2. Test de agilidad / habilidad con balón y test de concentración

El test de agilidad / habilidad con balón y el test de concentración se llevaron a cabo antes del comienzo del LIST_m y al final del mismo. El test de concentración se realizó siempre inmediatamente después a la prueba de agilidad / habilidad.

Cada participante realizó un test para evaluar la agilidad y habilidad con balón¹¹² en la sala deportiva multiusos anexa al laboratorio en el período de preparación previo al LIST_m y después al finalizar el mismo.

Este test consistía en regatear 6 conos, separados 3 metros entre sí, en el menor tiempo posible, y sin tocar cada uno de los conos (véase *Figura 9*), ida y vuelta. Se realizaron 2 repeticiones en cada momento de evaluación con un descanso de 1 minuto entre cada una. El resultado final

fue la suma de las dos repeticiones. Cada deportista dispuso de 3 repeticiones de familiarización antes de realizar las dos repeticiones que computan para el resultado. La toma de tiempos fue a través de un cronometro manual digital de la marca DigiSport modelo DTM100 (AXPROD SL, Irún, España).

Al mismo tiempo, cada sujeto completó el test de concentración para valorar el grado de fatiga mental tanto antes como después de la realización del LIST_m^{108,112}. Los participantes debían identificar, en un documento, la mayor cantidad de números posible que estaban organizados en orden ascendente del 1 al 100 y distribuidos aleatoriamente en una rejilla, disponiendo de 1 minuto y un solo intento para completarlo. Se anotó en las distintas ocasiones el valor más alto que alcanzó el sujeto. Cada vez que se realizó el test de concentración, se modificó la distribución aleatoria de los números.

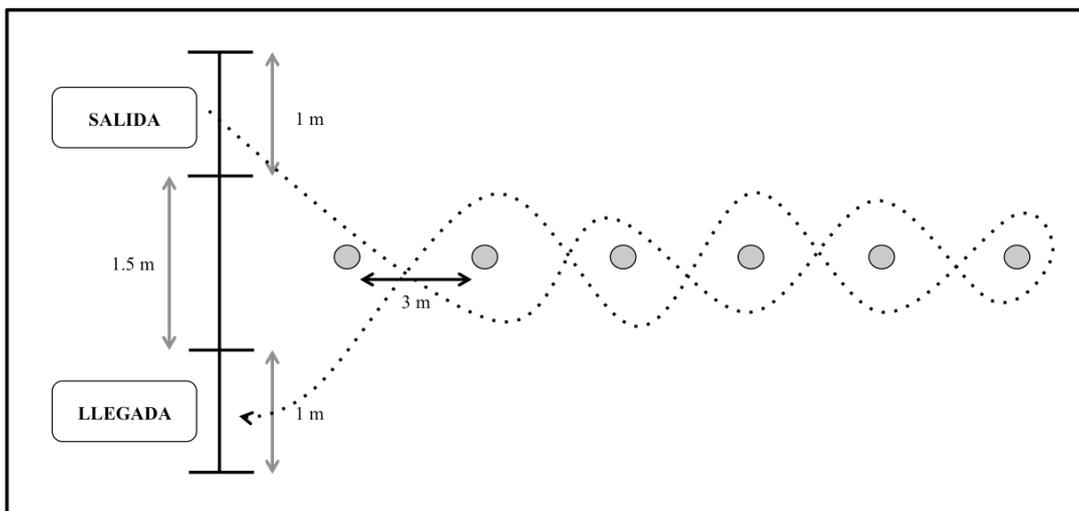


Figura 9. Ilustración gráfica del test de agilidad / habilidad con el balón

3.5.3. Evaluación funcional para la determinación del consumo máximo de oxígeno

Esta prueba se realizó antes del comienzo del primer período de suplementación.

Los sujetos que han participado en la presente Tesis Doctoral realizaron una prueba de esfuerzo continua incremental hasta el agotamiento en un tapiz rodante⁶⁷ motorizado modelo *the Saturn*® (h-p cosmos sports & medical gmbh, Nussdorf-Traunstein, Alemania) y se utilizó un analizador de gases con tecnología *breath by breath* Oxycon Pro® (Jaeger, Hoechberg, Germany). Los gases respiratorios fueron analizados para determinar el consumo máximo de oxígeno (VO_2max) y el umbral ventilatorio. Asimismo, los resultados obtenidos en el test permitieron establecer las diferentes intensidades de carrera, en términos de velocidad, de cada sujeto y necesarias para la realización posterior del LIST_m. El test comenzó con 5 min sobre el tapiz rodante a una velocidad de 8 km/h. Después de este período inicial, el grado de inclinación del tapiz se fijaba en un 1% hasta el final del test, y la velocidad de carrera se aumentaba 2 km/h cada 3 minutos hasta llegar al agotamiento. Se consideró VO_2max como el valor medio de la meseta que aparece en la gráfica del VO_2 . La meseta se determinó como un incremento del VO_2 menor a $2.1 \text{ mL}\cdot\text{Kg}^{-1}\cdot\text{min}^{-1}$ entre las dos últimas etapas del test¹⁵⁴. Si el sujeto no llegaba a alcanzar la meseta, el criterio que se tuvo en cuenta para alcanzar ese valor fue calcular el VO_2max como el valor medio de los 2 últimos minutos del test antes del agotamiento¹⁵⁴. Asimismo, se tuvo en cuenta como criterio de maximidad en este test que el cociente respiratorio fuera ≥ 1.10 , que el %FCmax fuera $\geq 95\%$ FCmax teórica y que el sujeto indicara en la escala de Borg¹³⁰ un valor final igual o superior a 17¹⁵⁵. La determinación del umbral ventilatorio se realizó mediante el comportamiento de la ventilación y/o intercambio de gases a nivel pulmonar de tres formas¹⁵⁶: el equivalente ventilatorio para el oxígeno y para el dióxido de carbono¹⁵⁷, el exceso de CO_2 , y el método V-slope¹⁵⁸ o punto de modificación de la pendiente. El equivalente ventilatorio para el oxígeno ($\text{VE}\cdot\text{VO}_2$) se define como el cociente entre la ventilación en

L/min y el consumo de oxígeno en L/min, y expresa el grado de eficacia de la ventilación pulmonar. El equivalente ventilatorio para el dióxido de carbono ($VE \cdot VCO_2$) es el cociente entre la ventilación en L/min y la cantidad de CO_2 expulsado en L/min, y expresa la relación entre el aire ventilado y el CO_2 expulsado^{159,160}. El umbral ventilatorio se estableció a la intensidad en la que se produjo un aumento del $VE \cdot VO_2$ sin que aumente el $VE \cdot VCO_2$, un aumento sostenido del exceso de CO_2 y el primer incremento observado en la curva del CO_2 *versus* VO_2 ^{156,161}.

Se registró la frecuencia cardiaca cada 5s a través de un pulsómetro Polar S610i® (Polar Electro, Kempele, Finlandia) antes de comenzar el test para determinar los valores iniciales en reposo y durante la realización completa del mismo.

3.5.4. Dinamometría manual

Este test se realizó siempre antes del comienzo del $LIST_m$ y durante cada período de recuperación del mismo.

Previamente a la realización de este test durante los períodos de descanso del $LIST_m$, el evaluador midió el tamaño de la mano derecha del evaluado usando la tabla-regla para ver la envergadura de agarre óptima de acuerdo al tamaño de su mano¹⁶². El tamaño de la mano se midió como la máxima distancia de separación entre el primer y quinto dedo. La fuerza de prensión manual fue medida utilizando un dinamómetro digital (TKK 5401 Grip D; Takey, Tokio, Japan) y los valores fueron recogidos en kilogramos. El sujeto se colocaba de pie con los brazos a lo largo del cuerpo con los hombros ligeramente abducidos ($<10^\circ$), el codo extendido y el antebrazo y la muñeca en una posición neutra¹⁶². Durante la realización del test, se le informaba a la persona para que mantuviera la posición estándar de bipedestación con el codo en completa extensión y sin tocar ninguna parte del cuerpo¹⁶³. Cada sujeto realizó el test dos veces (alternativamente con ambas manos) en orden aleatorio, con un minuto de descanso entre repeticiones. La duración del test fue de 5 segundos por intento. El evaluador situaba el marcador a cero después de cada intento. El mejor

intento de los dos realizados por cada mano fue usado para el posterior análisis estadístico.

3.5.5. Lactato sanguíneo

Las muestras de concentración de lactato sanguíneo se recogieron en el lóbulo de la oreja mediante una toma coincidiendo con el día de la evaluación funcional previa al período de suplementación, así como justo antes del inicio del LIST_m, e inmediatamente al finalizar el *set* 3 y el *set* 6 del LIST_m mediante el analizador Lactate ProTM (Arkray, KDK Corp., Kyoto, Japon)¹⁶⁴.

3.5.6. Temperatura Timpánica

Se obtuvo esta medida antes del comienzo del LIST_m y en cada uno de los períodos de descanso hasta llegar al final del LIST_m.

La temperatura timpánica se registró con termómetros timpánicos modelo Thermoscan Pro 4000 (Braun, Kronenberg, Alemania), habiendo sido utilizada esta técnica para medir el impacto de diferentes ejercicios en estudios anteriores^{165,166}.

3.5.7. Modelo circunplejo y bidimensional de las emociones

Después de cada uno de los períodos de suplementación, y justo antes del comienzo del LIST_m, cada participante rellenó el cuestionario emocional diseñado por Russell¹⁰⁷.

Se eligió este modelo ya que es uno de los señalados por los anteriores trabajos^{59,167,168} por su fácil utilización y como marco de referencia para estudiar las emociones, centrándose en la estrecha relación existente entre las dimensiones de valencia afectiva y arousal, que son consideradas por muchos como la base de todos los estados emocionales, y además referente en los estados de relajación y calma. Cada sujeto rellenó el cuestionario emocional formado por 48 palabras que describen unos determinados estados de ánimo.

A cada palabra se le otorgó un valor numérico que osciló entre 1 y 5 en función del grado de afinidad evocada: 1-nada; 2-un poco; 3-moderado; 4-bastante; 5-mucho. Cada grupo de 6 palabras conformaba una categoría emocional. Estos grupos se organizaron en las siguientes categorías: 1) alta activación (despierto, asombrado, estimulado, sorprendido, activo y tenso) ; 2) Sensación agradable de activación (entusiasta, regocijado, excitado, eufórico, alegre y vivo); 3) Sensación agradable de inactivación (relajado, satisfecho, descansado, calmado, sereno y cómodo); 4) Sensación agradable (alegre, encantado, contento, animado, afectuoso y satisfecho); 5) Baja activación (calmado, tranquilo, quieto, inactivo, holgazán y pasivo); 6) Sensación desagradable de activación (apagado, cansado, soñoliento, perezoso, aburrido y desanimado); 7) Sensación desagradable (infeliz, miserable, triste, quejica, pesimista y sin ilusión); 8) Sensación desagradable de activación (angustiado, molesto, temeroso, nervioso, inquieto y con ansiedad). La variación de valores de cada categoría podía ser entre 6 y 30.

3.5.8. Ingesta dietética y hábitos alimentarios

El registro de este cuestionario se realizó antes del comienzo de cada uno de los períodos de suplementación establecidos.

Actualmente, la encuesta alimentaria es el principal instrumento utilizado para conocer el consumo alimentario y consiste en estimar cuál es la cantidad ingerida de todos y cada uno de los nutrientes durante un tiempo determinado¹⁶⁹. Esta encuesta puede hacer referencia a un recordatorio dietético de 24 horas, un registro dietético de 7 días y un cuestionario de frecuencia de consumo de alimentos^{170,171}. En este trabajo se utilizó la encuesta para hacer referencia al recordatorio dietético de 24 horas y al registro dietético de 3 días, en lugar de 7. El recordatorio 24 horas es una anamnesis de lo ingerido en las 24 horas precedentes. Dada la complejidad que conlleva, se realizó esta encuesta con cada sujeto antes del entrenamiento que debía realizar con su equipo o bien se realizaba en el laboratorio coincidiendo con la entrega de la suplementación que iba a comenzar a tomar. La finalidad del recordatorio dietético de 24 horas fue la

de servir como elemento de aprendizaje para rellenar correctamente el cuestionario de registro dietético de 3 días que se utilizó en este trabajo y que cada participante completó antes de comenzar cada uno de los períodos de suplementación, para analizar el contenido de macronutrientes y micronutrientes^{75,169,172}. Esta fue considerada la dieta estándar del participante y se le pidió mantenerla durante todo ese período de suplementación si no presentaba ninguna deficiencia importante como indicaban otros estudios^{28,75}. En este registro dietético se anotaba el tipo y la cantidad de los componentes de su alimentación, que se determinaba por estimación. Para ello, cada participante recibió unas tablas de referencia de pesos aproximados de alimentos con el objeto de facilitarles la labor, y así disminuir el error en la estimación de las cantidades de alimentos ingeridos. Estas tablas de referencia fueron elaboradas por investigadores pertenecientes al estudio AVENA¹⁷¹. Los registros nutricionales fueron comprobados, evaluados y analizados, junto al sujeto, por un especialista en nutrición utilizando una aplicación informática diseñada para realizar estudios de evaluación nutricional en grupos de población¹⁰⁶ (GRUNUMUR, Universidad de Murcia, España) y poder determinar la transformación a energía y nutrientes en función de las tablas de composición de alimentos españoles¹⁷³.

3.5.9. Test de efectos adversos

Después de cada uno de los períodos de suplementación, y justo antes del comienzo del LIST_m, cada participante rellenó un cuestionario que examinaba cualquier posible presencia de efectos adversos o nocivos para la salud por la ingesta del suplemento⁵⁹. A lo largo del cuestionario se le preguntó a cada participante si había experimentado alguno de los síntomas descritos durante los tres últimos días de la suplementación. Se utilizó este cuestionario porque examinaba de una forma sencilla y útil las posibles molestias comunes relacionadas con los órganos más importantes.

3.6. Análisis Estadístico

Las características de la muestra se describieron mediante media, desviación estándar (*Standard deviation*, SD) y rango (mínimo y máximo). Para dar respuesta a los objetivos de la presente Tesis Doctoral, se realizaron diferentes modelos de análisis de la varianza (ANOVA) de medidas repetidas, puesto que se trata de un diseño cruzado y el mismo sujeto es evaluado en diferentes momentos y condiciones (HMB vs. placebo). En aquellos casos en los que es necesario testar si el valor obtenido en una variable concreta en un momento puntual fue diferente cuando los participantes se suplementaron con HMB vs. placebo, se ejecutó el modelo de ANOVA de medidas repetidas poniendo la variable de estudio medida en 2 momentos (HMB vs. placebo) como variable independiente. Por ejemplo, este análisis se utilizó para testar si el salto vertical 24h tras el $LIST_m$ fue diferente cuando los participantes se suplementaron con HMB vs. placebo. En otras situaciones, el objetivo era testar si el cambio producido en una variable había sido distinto cuando los participantes se suplementaron con HMB vs. placebo. En estos casos se usó igualmente una ANOVA de medidas repetidas, con la única diferencia que la variable dependiente introducida en el modelo era la diferencia (cambio) calculada en dos momentos diferentes del protocolo. Por ejemplo, este análisis se utilizó para testar si la CK había aumentado, antes y después del $LIST_m$, más o menos en función de si había habido suplementación con HMB vs. placebo. En estos casos, primero se calculaba la diferencia $Post-LIST_m$ menos $Pre-LIST_m$, y esa variable diferencia calculada, era la que se introducía en el modelo y se comparaba en la condición de suplementación con HMB vs. placebo.

Los efectos obtenidos por la suplementación de HMB se consideraron significativos si el nivel de significación fue $P < 0.05$. Sin embargo, dada el número de sujetos relativamente bajo ($n=8$) se considerará un nivel de significación $0.05 < P \leq 0.1$ como una tendencia a la significación. Ambos casos se describen en la sección de *Resultados* y se interpretan en la sección de

Discusión de la presente Tesis Doctoral. Para todos los análisis, se usó el paquete estadístico SPSS v22.0 (SPSS Inc., Chicago, USA) para Mac OS X.

4

RESULTADOS

“El fútbol es solamente un juego. Ese es el sinsentido más escandaloso de todos. El fútbol es ciencia, arte, guerra, ballet, drama, terror y alegría; todo al mismo tiempo.”

Tom Utley



RESULTADOS

Las características de los participantes de este estudio se muestran en la *Tabla 2*. Se observa que los participantes tenían una edad media de 21 años, 180cm de altura, 76kg de peso y un 12% de grasa corporal, y alcanzaron un VO₂max en la prueba de esfuerzo incremental máxima de 53 ml/kg/min.

Tabla 2. Características de los participantes

	Media <i>n</i> = 8	SD	Min.	Max.
Edad (años)	20.6	3.4	18.0	26.0
Altura (cm)	179.8	7.6	168.0	187.0
Peso (kg)	75.6	9.6	63.0	89.0
VO ₂ max (ml/kg/min)	53.0	7.9	42.1	69.6
Velocidad (km/h)	16.6	0.7	16.0	18.0
Velocidad VT ₂ (km/h)	13.1	0.8	12.0	14.0
BF %	11.5	1.3	9.4	25.0

^aBF % porcentaje de grasa corporal, VO₂max consumo máximo de oxígeno, VT₂ umbral ventilatorio 2

A continuación se muestran algunos de los resultados principales derivados del estudio que compone la presente Tesis Doctoral. Dichos resultados muestran los efectos que la suplementación con HMB vs. placebo ha tenido sobre las diferentes variables estudiadas y se han ordenado por bloques de afinidad. Por un lado, el primer bloque hace referencia a la función muscular junto con la percepción subjetiva del esfuerzo, en sus diferentes dimensiones (RPE, TQR y VAS) obtenidos en las diferentes pruebas físicas, mientras por otro lado, el segundo bloque centra la atención en aspectos hematológicos y/o bioquímicos junto con otros aspectos biomédicos resultantes de las diferentes pruebas médicas realizadas durante el estudio. Por último, el tercer bloque describe los resultados encontrados en las diferentes pruebas complementarias utilizadas en la presente Tesis Doctoral.

4.1. Parte I: datos relacionados con la función muscular y medidas de percepción subjetiva

4.1.1. Rendimiento y dolor muscular percibido

Durante el LIST_m, los participantes completaron 6 sets, tras los cuales se evaluó el sprint en 20m y salto vertical. El rendimiento en estos 2 test se calculó mediante la diferencia entre el primer set y el sexto set, y se consideró un indicador de la fatiga acumulada durante el test, denominándose índice de fatiga (*Fatigue Index*, FI). Cuanto mayor es el valor del FI, mayor es la fatiga. Se observaron valores ligeramente inferiores para sprint de 20m y salto vertical tras la suplementación con HMB comparado con la condición placebo, aunque estas diferencias distan de ser significativas (p.e. $P \geq 0.4$) (véase *Figura 10*)

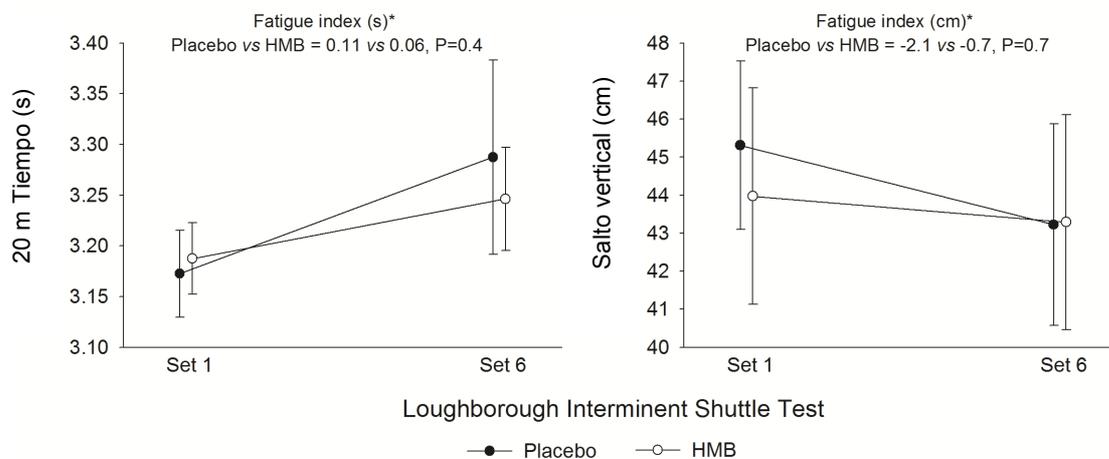


Figura 10. Efectos de la suplementación con β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) sobre el índice de fatiga en el tiempo en sprint 20 metros y el salto vertical para HMB vs. placebo durante el rendimiento en el LIST_m.

*El índice de fatiga se calculó restando la media de las repeticiones de sprint o salto en el set 6 menos el set 1, de forma que mayores valores indican mayor fatiga ocurrida desde el principio al final del test.

^an=8, HMB β -hidroxi- β -metilbutirato, LIST_m Loughborough Intermittent Shuttle Test modificado, FI índice de fatiga

^bLos valores representados son medias y error estándar de la media (\pm SEM).

Sin embargo, los cambios en el tiempo de sprint y salto a las 24 horas después del LIST_m sí se vieron mejorados cuando los sujetos tomaron HMB vs. placebo. En la *figura 11* se observa un menor deterioro del salto vertical (HMB vs. placebo, 2.3cm, $p=0.01$) y del sprint 20m (HMB vs. placebo, -0.09s, $p=0.06$) cuando los participantes se suplementaron con HMB, siendo este efecto significativo y tendente a la significación respectivamente.

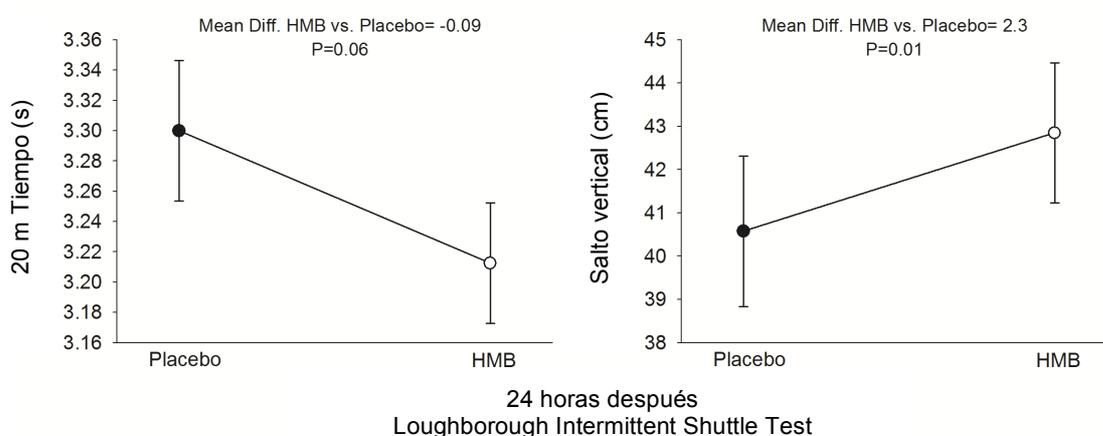


Figura 11. Efectos de la suplementación con β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) sobre el rendimiento en sprint y salto vertical a las 24 horas después de realizar el LIST_m que provoca daño muscular.

^an=8, HMB β -hidroxi- β -metilbutirato, LIST_m Loughborough Intermittent Shuttle Test modificado

^bSe representan medias y error estándar de la media (\pm SEM) para las diferencias entre los resultados a las 24h del LIST_m para HMB vs. placebo. HMB-20m sprint mejor que placebo-20m sprint ($p=0.06$) y HMB-salto mejor que placebo-salto ($p=0.01$).

La suplementación con HMB redujo la percepción de dolor muscular post-esfuerzo y cansancio a las 24h, principalmente en la musculatura del cuádriceps y tríceps sural ($p=0.04$; $p=0.09$, respectivamente) (véase *Figura 12*) y sin producir ningún efecto significativo ni tendencia a la significación en glúteos, abductores, aductores e isquiotibiales (véase *Tabla 3*). La percepción del dolor muscular después de un esfuerzo intermitente de alta intensidad tiende a regresar hacia sus valores iniciales hacia las 72 horas, según se observa en esta figura y tabla.

Tabla 3. Datos sobre el dolor muscular percibido en la musculatura del gluteo afectada por la realización del LIST_m.

Momento	Gluteo				Abductores-Aductores			
	placebo		HMB		placebo		HMB	
	Media	SEM	Media	SEM	Media	SEM	Media	SEM
PRE	1.00	0.00	1.00	0.00	1.00	0.00	1.00	0.00
24h	1.38	0.74	1.63	0.74	1.23	0.54	1.45	0.60
48h	1.00	0.00	1.00	0.00	1.10	0.40	1.00	0.12
72h	1.13	0.35	1.00	0.00	1.00	0.20	1.00	0.10

^a*n*=8, PRE justo antes de realizar el LIST_m, 24h un día después de realizar el LIST_m, 48h un día después de realizar el LIST_m, 72h un día después de realizar el LIST_m, SEM error estándar de la media

^bNo hubo diferencias significativas entre HMB vs. placebo en ninguna de las variables mostradas.

^cLos valores representados son medias y error estándar de la media (\pm SEM).

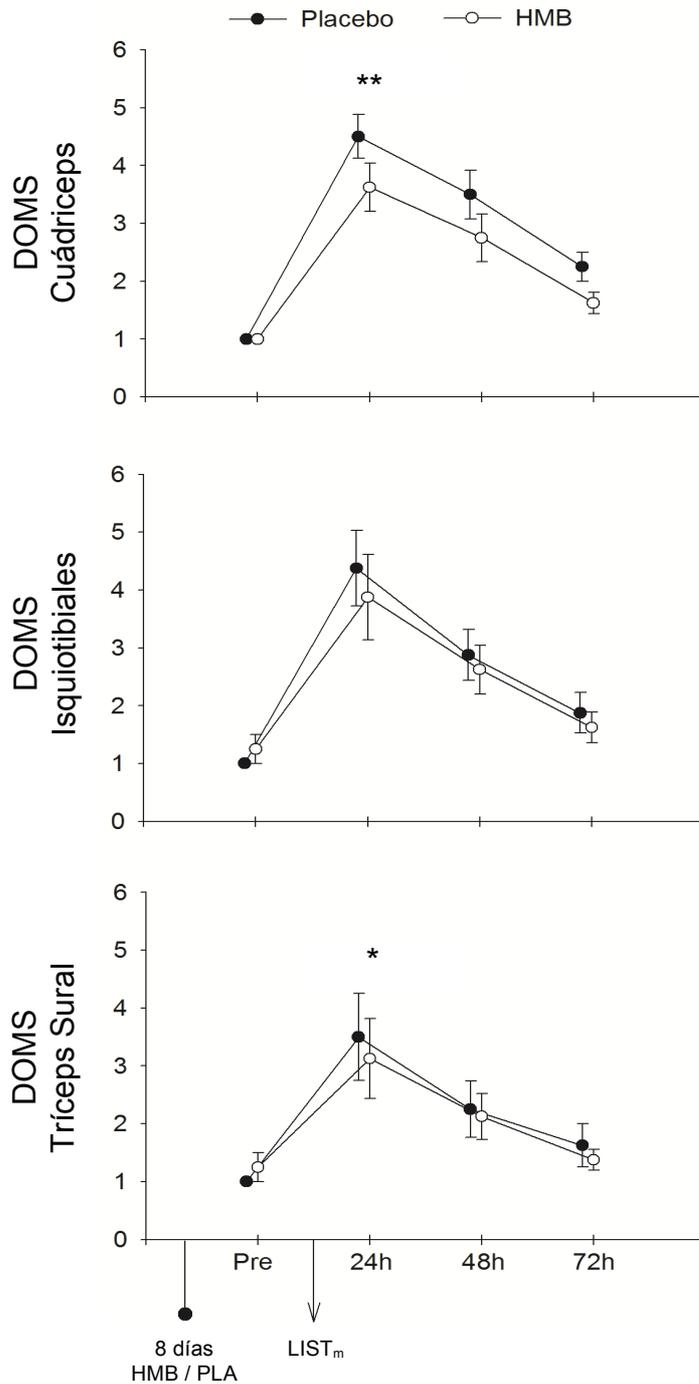


Figura 12. Efectos de la suplementación con β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) sobre el dolor muscular post-esfuerzo como consecuencia del LIST_m

^an=8, HMB β -hidroxi- β -metilbutirato, LIST_m Loughborough Intermittent Shuttle Test modificado, PLA placebo, DOMS Delayed Onset Muscular Soreness, PRE justo antes de realizar el LIST_m, 24h un día después de realizar el LIST_m, 48h un día después de realizar el LIST_m, 72h un día después de realizar el LIST_m

^bSe representan medias y error estándar de la media (\pm SEM) para las diferencias entre los resultados para HMB vs. placebo * p =0.09 ; ** p =0.04

4.1.2. Otras medidas de percepción subjetiva

No se observaron interacciones significativas cuando los sujetos tomaron placebo o cuando tomaron HMB en cuanto a la percepción subjetiva del esfuerzo ($p=0.8$) y la percepción subjetiva del grado de recuperación valorada durante la realización del LIST_m ($p=0.7$)

4.2. Parte II: datos relacionados con biomarcadores sanguíneos

4.2.1. Degradación de la membrana de la célula muscular

La figura 13 y la tabla 4, que la complementa, muestran una selección de los marcadores de catabolismo y enzimas musculares/hepáticas sensibles al daño producido por un determinado ejercicio en la estructura de la membrana de la célula muscular. Se observaron diferencias significativas o tendencias a la significación cuando los sujetos ingirieron HMB o placebo en marcadores como la CK y la LDH. Se observa una ligera disminución de la CK tras 8 días de suplementación con HMB comparado con placebo, *Base-Pre* ($p=0.1$). Se produce un aumento de la LDH *Pre-Post* ($p=0.05$) para HMB vs. placebo y un descenso en los valores *Post-24h* ($p=0.1$) para HMB vs. placebo. No se observó una interacción significativa cuando los sujetos se suplementaron con HMB o cuando lo hicieron con placebo en la α -actina y la haptoglobina como índices sensibles al daño muscular ni en cualquier otro momento de evaluación.

Tabla 4. Datos de la respuesta en otros marcadores de daño muscular como la α -Actina y haptoglobina

Momento	α -Actina ($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)				Haptoglobina ($\text{mg}\cdot\text{dL}^{-1}$)			
	placebo		HMB		placebo		HMB	
	Media	SEM	Media	SEM	Media	SEM	Media	SEM
BASAL	1.97 \pm 0.763				83.83 \pm 54.64			
PRE	1.92	0.75	1.60	0.75	96.25	56.41	89.76	60.33
POST	6.73	1.76	8.43	1.32	66.56	57.57	62.53	61.39
24h	2.68	0.62	3.31	0.69	68.08	49.93	66.43	51.33

^a $n=8$, HMB β -hidroxi- β -metilbutirato, BASAL antes de comenzar el primer período de suplementación, PRE justo antes de realizar el LIST_m, POST inmediatamente después de realizar el LIST_m, 24h un día después de realizar el LIST_m. SEM error estándar de la media

^bNo hubo diferencias significativas entre HMB vs. placebo en ninguna de las variables mostradas.

^cLos valores representados son medias y error estándar de la media (\pm SEM).

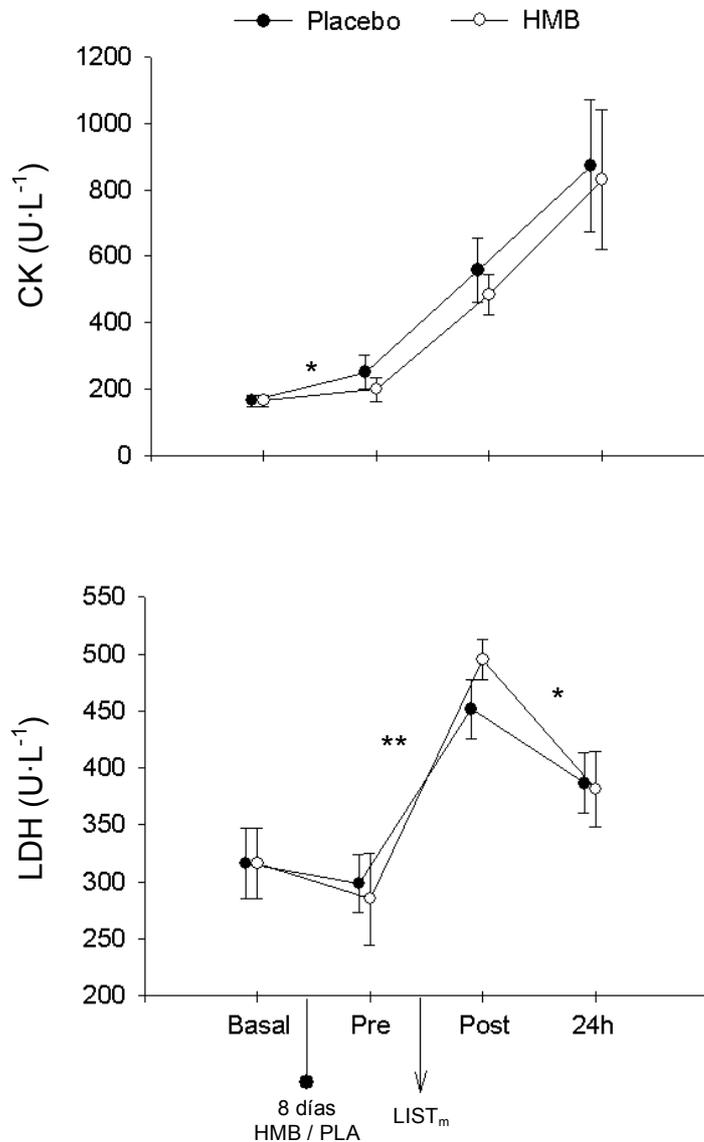


Figura 13. Efectos de la suplementación con β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) sobre los índices sanguíneos sensibles al daño muscular producido como consecuencia del LIST_m.

^an=8, HMB β -hidroxi- β -metilbutirato, LIST_m Loughborough Intermittent Shuttle Test modificado, PLA placebo, CK Creatin Kinasa, LDH Lactato deshidrogenasa, BASAL antes de comenzar el primer período de suplementación, PRE justo antes de realizar el LIST_m, 24h un día después de realizar el LIST_m

^bSe representan media y error estándar de la media (\pm SEM) para las diferencias entre los resultados para HMB vs. placebo en cada uno de los momentos del estudio; * $p \leq 0.1$ ** $p = 0.05$

4.2.2. Respuesta hormonal

La *tabla 7* y la *figura 14* muestran los cambios observados en la concentración de la GH y en la insulina durante el estudio. El análisis ha revelado que se ha producido un descenso de los valores de la GH *Pre-Post* para HMB vs. placebo ($p=0.1$) y un aumento de los valores GH *Post-24h* para HMB vs. placebo ($p=0.1$).

Por otro lado, se ha observado un descenso en la concentración de insulina *Pre-Post* para HMB vs. placebo ($p=0.09$) y un aumento de la insulina *Post-24h* para placebo vs. HMB ($p=0.05$).

Dentro del comportamiento de las diferentes hormonas analizadas, no se observó una interacción significativa cuando los sujetos se suplementaron con HMB o cuando lo hicieron con placebo en la concentración de testosterona, IGF-1 y cortisol ni en cualquier otro momento de evaluación. Tampoco se observó ningún cambio significativo en el análisis de las hormonas que componen el perfil lipídico en los sujetos que ingirieron HMB vs. placebo.

Tabla 5. Datos de la respuesta hormonal en testosterona, IGF-1 y cortisol

Momento	Testosterona (ng·mL ⁻¹)				IGF-1 (µg·L ⁻¹)				Cortisol (nmol·L ⁻¹)			
	placebo		HMB		placebo		HMB		placebo		HMB	
	Media	SEM	Media	SEM	Media	SEM	Media	SEM	Media	SEM	Media	SEM
BASAL	8.01 ± 1.01				581.66 ± 206.67				18.05 ± 5.37			
PRE	8.45	1.12	8.91	2.70	556.03	210.94	509.10	217.77	19.28	4.99	19.18	9.03
POST	8.17	1.26	7.72	2.79	507.63	203.92	436.24	199.25	20.78	5.39	21.36	7.06
24h	7.41	3.09	7.65	1.29	419.30	259.15	332.23	151.29	22.74	5.05	23.75	9.54

^an=8, HMB β-hidroxi-β-metilbutirato, IGF-1 factor de crecimiento insulínico-1, BASAL antes de comenzar el primer período de suplementación, PRE justo antes de realizar el LIST_m, 24h un día después de realizar el LIST_m, SEM error estándar de la media

^bNo hubo diferencias significativas entre HMB vs. placebo en ninguna de las variables mostradas.

^cLos valores representados son medias y error estándar de la media (± SEM).

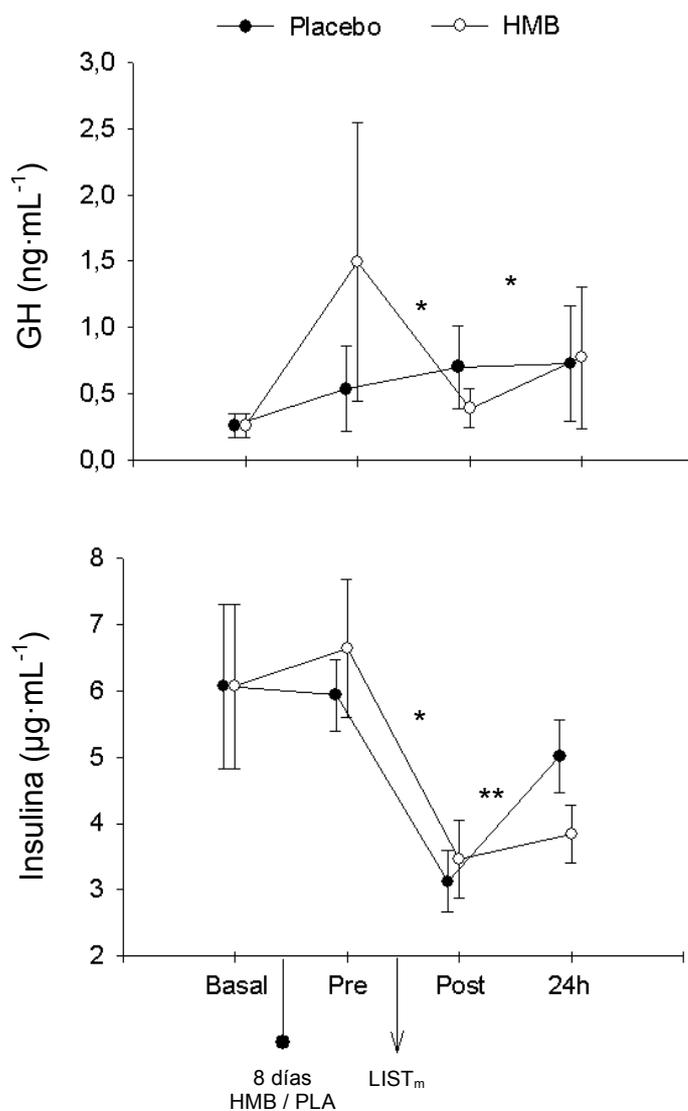


Figura 14. Efectos de la suplementación con β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) sobre la respuesta hormonal anabólica como consecuencia del LIST_m.

^an=8, HMB β -hidroxi- β -metilbutirato, LIST_m Loughborough Intermittent Shuttle Test modificado, PLA placebo, GH hormona de crecimiento, BASAL antes de comenzar el primer período de suplementación, PRE justo antes de realizar el LIST_m, 24h un día después de realizar el LIST_m

^bSe representan media y error estándar de la media (\pm SEM) para las diferencias entre los resultados para HMB vs. placebo en cada uno de los momentos del estudio; * $p \leq 0.1$ ** $p = 0.05$

4.2.3. Respuesta de los marcadores de inflamación y metabolismo del hierro

En la *figura 15* se muestran los cambios observados en la concentración de la homocisteína, el ácido fólico y sTfR. Las *tablas 6 y 7* completan la descripción del comportamiento de los índices de inflamación celular, tales como la vitamina B₁₂, y por otro lado, la ferritina y la transferrina, respectivamente.

Se ha observado un descenso con tendencia a la significación en la concentración de ácido fólico *Post-24h* para placebo vs. HMB ($p=0.1$). Los cambios en la concentración de homocisteína tienen tendencia a la significación debido a un aumento de la homocisteína *Pre-Post* para HMB vs. placebo ($p=0.1$); y un descenso de la homocisteína *Post-24h* para HMB vs. placebo ($p=0.1$).

Los valores del sTfR muestran tendencia significativa en sus cambios a través de un aumento del sTfR *Basal-Pre* para HMB vs. placebo ($p=0.07$); y un descenso en el sTfR *Post-24h* para HMB vs. placebo ($p=0.1$).

Dentro del comportamiento de los índices de inflamación celular y metabolismo del hierro analizados, no se observó una interacción significativa cuando los sujetos se suplementaron con HMB o cuando lo hicieron con placebo en la concentración de vitamina B₁₂, ferritina y transferrina ni en cualquier otro momento de evaluación.

Tabla 6. Datos de la respuesta en la vitamina B₁₂ como marcador de inflamación.

Momento	Vitamina B ₁₂ (µg/mL ⁻¹)			
	placebo		HMB	
	Media	SEM	Media	SEM
BASAL	279.74 ± 139.32			
PRE	384.50	131.69	367.75	127.24
POST	421.38	141.25	416.13	156.87
24h	365.25	107.29	349.25	103.19

^an=8, *HMB* β-hidroxi-β-metilbutirato, *BASAL* antes de comenzar el primer período de suplementación, *PRE* justo antes de realizar el LIST_m, *POST* inmediatamente después de realizar el LIST_m, *24h* un día después de realizar el LIST_m. *SEM* error estándar de la media.

^bNo hubo diferencias significativas entre HMB vs. placebo en ninguna de las variables mostradas.

^cLos valores representados son medias y error estándar de la media (± SEM).

Tabla 7. Datos de la respuesta en la ferritina y la transferrina como marcadores del metabolismo del hierro.

Momento	Ferritina (µg·mL ⁻¹)				Transferrina (mg·dL ⁻¹)			
	placebo		HMB		placebo		HMB	
	Media	SEM	Media	SEM	Media	SEM	Media	SEM
BASAL	54.4 ± 25.05				279.99 ± 31.22			
PRE	56.65	24.14	60.23	28.66	271.95	24.57	276.50	25.51
POST	62.89	28.51	65.26	28.15	289.78	25.62	286.03	29.50
24h	61.75	20.69	64.96	25.78	273.46	32.49	271.15	28.41

^an=8, *HMB* β-hidroxi-β-metilbutirato, *BASAL* antes de comenzar el primer período de suplementación, *PRE* justo antes de realizar el LIST_m, *POST* inmediatamente después de realizar el LIST_m, *24h* un día después de realizar el LIST_m. *SEM* error estándar de la media

^bNo hubo diferencias significativas entre HMB vs. placebo en ninguna de las variables mostradas.

^cLos valores representados son medias y error estándar de la media (± SEM).

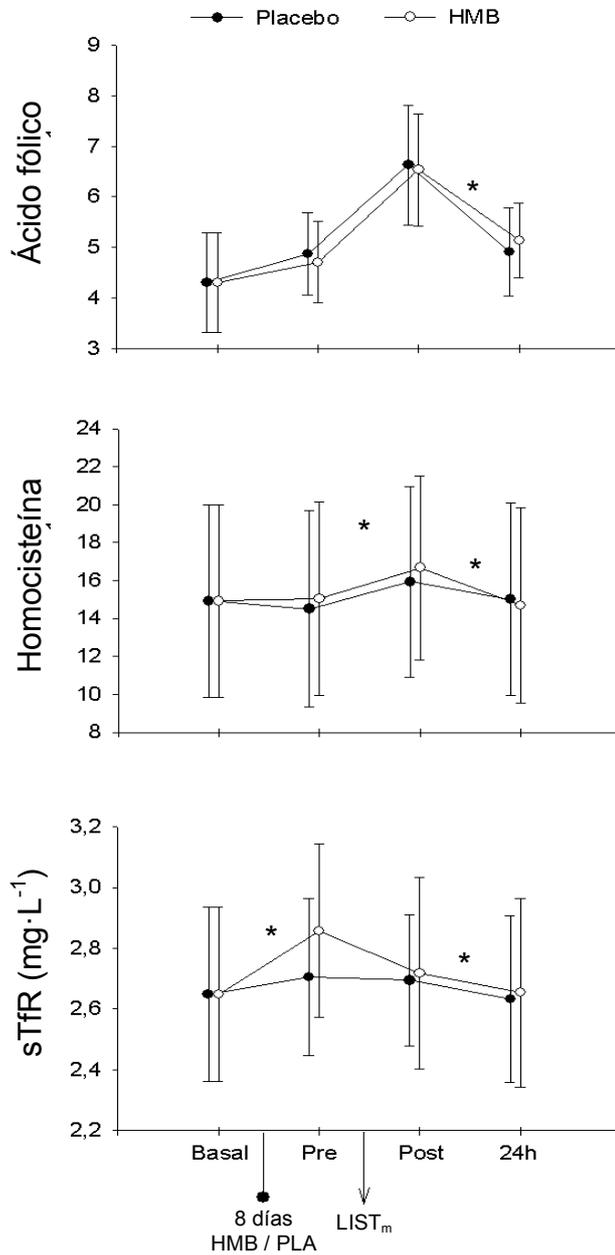


Figura 15. Efectos de la suplementación con β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) sobre índices sanguíneos de inflamación y la respuesta metabólica del hierro como consecuencia del LIST_m.

^an=8, HMB β -hidroxi- β -metilbutirato, LIST_m Loughborough Intermittent Shuttle Test modificado, PLA placebo, sTfR receptor soluble de la transferrina, BASAL antes de comenzar el primer período de suplementación, PRE justo antes de realizar el LIST_m, 24h un día después de realizar el LIST_m

^bSe representan media y error estándar de la media (\pm SEM) para las diferencias entre los resultados para HMB vs. placebo en cada uno de los momentos del estudio; * $p \leq 0.1$ ** $p = 0.05$

4.3. Parte III: datos relacionados con otras pruebas complementarias

4.3.1. Respuesta funcional en las pruebas complementarias durante la realización del LIST_m.

No se observaron interacciones significativas cuando los sujetos tomaron placebo o cuando tomaron HMB en cuanto a los resultados obtenidos en la prueba de agilidad / habilidad con balón, dinamometría, el test de concentración, la medición de lactato o temperatura timpánica, durante ninguno de los momentos en los que se realizó el LIST_m ni en ninguno de los períodos distintos de suplementación ($p=0.8$)

4.3.2. Ingesta nutricional

No se observaron interacciones significativas cuando los sujetos tomaron placebo o cuando tomaron HMB en cuanto a la ingesta media diaria de energía, carbohidratos, proteínas o grasas.

4.3.3. Antropometría

No se apreciaron interacciones significativas en las medidas de composición corporal realizadas antes y después de cada período de suplementación, utilizando como variable principal de análisis, el BF % ($p=0.8$) entre otras.

4.3.4. Respuesta emocional con el modelo circunplejo y bidimensional de Russell¹⁰⁷

No se observaron interacciones significativas cuando los sujetos tomaron placebo o cuando tomaron HMB en cuanto al estado de ánimo y emocional valorado en los cuestionarios utilizados en el estudio en los diferentes momentos establecidos. Las diferencias entre cada una de las dimensiones no fueron consistentes.

4.3.5. Efectos secundarios

Los participantes toleraron el protocolo de suplementación perfectamente sin señalar ningún síntoma o problema médico en los cuestionarios realizados después de cada uno de los períodos de suplementación realizados a doble ciego.

5

DISCUSIÓN

“No hay nada más importante a los ojos de Dios que un hombre que aprendió una ciencia y la enseñó a las gentes.”
Legado Andalusi



DISCUSIÓN

La presente Tesis Doctoral aporta resultados novedosos en relación con los efectos de la suplementación con HMB y su aplicación en el proceso de entrenamiento y, más concretamente en la recuperación posterior.

5.1. Parte I: datos relacionados con la función muscular y medidas de percepción subjetiva

El principal descubrimiento de esta primera parte del estudio es que cuando se realiza un ejercicio intermitente de alta intensidad, la ingesta de HMB durante los 8 días previos a este esfuerzo es efectiva en la optimización del proceso de recuperación. De forma general, los resultados obtenidos demuestran una reducción en la pérdida de función muscular y en la percepción del dolor producido (comúnmente conocido como “agujetas”) después de realizar el LIST_m. Aunque la leucina puede ayudar a aumentar o mantener la masa magra, como aspecto relevante para mantener la función muscular¹¹, las demandas asociadas a un ejercicio intenso necesitan de una suplementación optimizada. Los participantes de este estudio completaron, en dos ocasiones distintas, el LIST_m, donde se alternaban períodos de diferente intensidad durante 90 minutos¹⁰⁹. La relativa ventaja de utilizar el HMB como suplemento, debido a su poderosa acción sobre las vías de señalización anabólicas y catabólicas, radica en que cuando el organismo de un deportista se ve sometido a un período de alta tasa de degradación muscular, viéndose comprometido el proceso de recuperación, la ingesta de este suplemento puede mejorar y optimizar este proceso¹³.

La eficacia de la suplementación con HMB se ha valorado, por un lado, a través de la respuesta en la función muscular, que ha sido analizada utilizando el test de salto vertical y el sprint en 20 metros; y, por otro lado, la respuesta en la percepción del DOMS mediante la utilización de la VAS. Se realizó el LIST_m para causar daño muscular y producir un aumento en los valores del DOMS junto con una disminución de la función muscular^{82,109}, puesto que los resultados de las investigaciones previas sugieren que un ejercicio intenso y

prolongado provoca cambios importantes en los índices de rendimiento y dolor muscular^{20,82,91}.

Rendimiento y dolor muscular percibido

El rendimiento en la habilidad de generar potencia a través del salto vertical y la capacidad de realizar un esfuerzo de 20 metros a máxima velocidad se vio reducido a las 24 horas después del LIST_m por la presencia de daño muscular. Los resultados encontrados con el empeoramiento del rendimiento a las 24 horas coinciden con los encontrados por Byrne et al.⁸⁰, en los que disminuía el rendimiento en la potencia máxima generada tanto a las 24 como 48 y 72 horas.

Los resultados encontrados en la presente Tesis Doctoral sobre la función muscular se centran en el momento de la realización del LIST_m y a las 24 horas del mismo.

Durante la realización del LIST_m, una suplementación de 8 días con HMB no produjo ningún efecto significativo sobre el índice de fatiga tanto en el sprint 20 metros como en el salto vertical. Sin embargo, a las 24 horas del LIST_m se observó que la ingesta de HMB produjo sobre el empeoramiento de la función muscular, un efecto significativo y de carácter positivo en el salto vertical y tendencia a la significación en el sprint 20 metros.

Por otro lado, los resultados encontrados en la presente Tesis Doctoral sobre el dolor muscular percibido se centran en tres momentos después de la realización del LIST_m, tales como a las 24, 48 y 72 horas del mismo.

A las 24 horas de la realización del LIST_m, una suplementación de 8 días con HMB no produjo ningún efecto significativo sobre la musculatura de los isquiotibiales. Sin embargo, sí que se observó que la ingesta de HMB produjo una mejora significativa en la percepción del dolor en la musculatura del cuádriceps y otra mejora con tendencia a la significación en la musculatura del tríceps sural. Por otro lado, no se observaron más diferencias en resto de momentos en ninguno de los grupos musculares analizados.

Estos resultados pueden ser contrastados con los diferentes estudios que han demostrado que la suplementación con HMB permite mejorar y/o mantener la función muscular, que puede ser entendida en términos de fuerza, rango de movimiento y dolor muscular percibido entre otras variables¹⁷⁴, a las 24 horas después de un ejercicio orientado a la fuerza^{13,76,175,176}. Por otro lado, estos mismos efectos se han podido observar a las 24 horas tras la realización de ejercicios orientados hacia la resistencia^{20,67}.

Los resultados aportados por la presente Tesis Doctoral son apoyados por el estudio de Byrd et al.¹⁷⁷ donde demostraron un descenso en la pérdida de fuerza y un menor dolor muscular percibido a las 24 horas cuando los sujetos fueron suplementados con HMB vs. placebo después de realizar un esfuerzo prolongado con un alto componente excéntrico.

Sin embargo, Paddon-Jones et al.³⁵ no encontró resultados positivos en la función muscular a las 24 horas después de un esfuerzo prolongándose hasta 10 días después de realizar un ejercicio excéntrico. .

La acción de uno de los posibles mecanismos atribuidos al HMB, concretamente el que hace referencia a favorecer la síntesis de colesterol para la reparación de membrana celular, permite mantener la integridad de la membrana celular y esto se traduce en diferencias positivas a largo plazo en la ganancia de fuerza y masa muscular, y a corto plazo aporta una potencial resistencia al daño muscular, junto con mejoras en el rendimiento y medidas de percepción subjetivas como se ha podido observar en la presente Tesis Doctoral y en otros estudios^{21,75}. Aunque el mecanismo directo por el que el HMB influye sobre los componentes de rendimiento deportivo sea todavía desconocido, se ha sugerido que el HMB actúe como agente protector de la membrana celular tal y como se demostró en anteriores estudios *in vitro*¹⁷⁸. Los estudios de Nissen et al.¹³ se acercan al concepto de facilitador de la síntesis de colesterol por su aportación continua de sustrato en la forma de HMG-CoA y contribuir así a la estabilidad de la membrana celular. De esta forma, los resultados de la presente Tesis Doctoral permiten afirmar que el HMB puede contribuir a mantener la

integridad la membrana de la célula muscular³ y prevenir el daño muscular asociado a la degradación de proteínas. Por esta razón, el HMB puede tener un efecto beneficioso durante las primeras fases de un programa de entrenamiento. Después de superar esta primera fase, las células se vuelven más resistentes al daño muscular producido por un esfuerzo intenso^{67,179} y no necesitan de la acción del HMB para tolerar ese mismo estímulo.

La habilidad de producir aceleraciones a la máxima velocidad en el fútbol¹⁸⁰, es uno de los factores clave para el rendimiento desde el punto de vista fisiológico. Clarkson y Newham¹⁸¹ sugirieron, desde un punto de vista funcional, que el daño muscular producido se observa en la capacidad de generar potencia por parte de la musculatura dañada más que en la capacidad de generar fuerza isométrica. Las fibras tipo II se suelen contraer y dañar con más frecuencia que las tipo I después de un ejercicio intenso con cierto componente excéntrico^{80,182}, y su contribución durante el rendimiento posterior se ve comprometida. Esto se traduce en un descenso de la velocidad y la potencia, afectando a la función muscular a velocidades angulares altas^{81,182-184}. Esto tiene una implicación tremenda para el deporte. Por ejemplo, ¿cuales serían los efectos del ejercicio intermitente sobre el rendimiento en la habilidad de generar sprints repetidos? El salto vertical se ha utilizado para estudiar la función muscular antes y después de un esfuerzo intenso¹⁸⁵, sin embargo el ciclo de estiramiento-acortamiento debe ser estudiado con mucho detalle¹⁸⁶. Ciertos autores¹⁸⁷ destacan el potencial de la suplementación con HMB sobre esta habilidad, no solo para mantenerla, sino también con cierto componente ergogénico presente.

El rendimiento obtenido, durante el LIST_m, en la función muscular, no ha mostrado diferencias significativas entre tratamientos, HMB vs. placebo. Los estudios de Mc Gregor confirmaron que durante cada *set* del LIST_m en los que se realizaban 11 repeticiones de sprint, el tiempo de cada uno de ellos iba en aumento hacia el final del *set*¹¹². El tiempo medio de sprint en la presente Tesis Doctoral es más lento que en los estudios anteriores (2.36¹⁸⁸, 2.42¹⁰⁹, 2.52¹⁸⁹, 2.70¹⁹⁰) y esto puede ser debido a que el protocolo utilizado

en el LIST_{original} fuera distinto para evaluar los 20 metros, siendo registrado en la presente Tesis Doctoral desde parados ($v=0$) y en los otros estudios mencionados, los registros se hicieron después de 5 metros de aceleración, así como las posibles diferencias existentes entre los sistemas de medición (células fotoeléctricas vs. cronometraje manual) o la superficie de suelo utilizada.

Hay muy pocos estudios que valoren el efecto del HMB sobre el rendimiento en una prueba donde se producen una gran cantidad de esfuerzos repetidos a máxima intensidad^{28,30}. Los resultados de la presente Tesis Doctoral están en la línea de los estudios anteriores que valoran el efecto positivo del HMB sobre la función muscular durante un esfuerzo intermitente que ocasione daño muscular^{22,30,174,191}. Aunque, por otro lado, otros autores no han encontrado ningún efecto positivo sobre este aspecto cuando los sujetos han sido suplementados con HMB (3 g/día) durante 1 día y se ha evaluado la función muscular a través de la ½ sentadilla, peso muerto y paso adelante, así como en las medidas subjetivas del esfuerzo, dolor y recuperación⁷².

Los valores obtenidos en el dolor muscular percibido a las 24 horas después del LIST_m en la presente Tesis Doctoral están en línea con los apreciados por otros autores^{21,174,191}. En esta línea, Wilson et al.¹⁹¹ comprobaron que, con un período de suplementación agudo de 1 hora previa al esfuerzo, era suficiente para que, sujetos varones no entrenados en fuerza fueran capaces de prevenir un aumento del dolor percibido en la musculatura del cuádriceps después de realizar un ejercicio intenso con un alto componente excéntrico. Se utilizaron estos grupos musculares como referencia de estudio porque son los músculos principales, junto con los isquiotibiales, que actúan durante el sprint y el salto. Esos resultados indican que esos sujetos podrían tener una mejor disposición para afrontar la próxima carga de trabajo y acelerar así el proceso de recuperación.

El dolor y el daño muscular se suelen producir de una forma más acusada después de ejercicios con un alto componente excéntrico más que concéntrico^{82,192}. El LIST_{original} está compuesto por un número considerable

de aceleraciones y desaceleraciones. La modificación realizada para la presente Tesis Doctoral, según se explicó en la sección de *Métodos*, no solo atiende a las partes que conforman el test, sino que al desarrollarse en tapiz rodante, se suprimieron todos los cambios de dirección, sin embargo, se introdujo un espacio de desaceleración de 3 metros después de cada sprint realizado. De tal forma, el test seguía manteniendo la esencia original del componente excéntrico, aunque de diferente forma. En un estudio realizado por Friden et al.¹⁹³ se destacó el gran estrés mecánico que sufre la musculatura de los miembros inferiores durante el sprint al estirarse con tensión para desacelerar el centro de masas. En dicho estudio se encontraron niveles elevados de dolor muscular en los isquiotibiales debido a su alta participación durante la fase de desaceleración, mientras que en los resultados de la presente Tesis Doctoral han sido encontrados diferencias significativas y con tendencia a la significación a las 24 horas después del LIST_m, en el cuádriceps y tríceps sural, respectivamente. Esto pudiera ser así porque los participantes cambiaron su superficie habitual para correr sobre un tapiz rodante en lugar de una pista, superficies que alteran la biomecánica de la carrera y/o suponen un impacto fisiológico mayor sobre las articulaciones o músculos^{91,181,194}.

En contraposición, Paddon-Jones et al.³⁵ no apreció estas mejoras en la percepción del DOMS después de un período de suplementación con HMB de 3g/día durante 6 días y después de un esfuerzo intenso con un alto componente excéntrico. Cualquier mecanismo por el que el HMB pueda afectar positivamente a la percepción del dolor no está perfectamente definido¹⁹⁵, aunque parece ser una consecuencia en la reducción del daño miofibrilar debido a la conservación de la integridad de las membranas celulares ocasionada por la suplementación con este metabolito^{13,175}.

Las diferencias entre los resultados encontrados en la función muscular y en la percepción del dolor después de un período de suplementación con HMB pueden residir en que el protocolo de suplementación utilizado (dosis, *temporización*, forma y duración) no haya producido suficiente estímulo para

mejorar la recuperación¹⁸. También cabe pensar que la función muscular y el daño muscular percibido se pueden haber reducido debido a la potencial influencia de protección por parte del efecto de repetición de un mismo esfuerzo como han demostrado estudios anteriores que afirmaron que las contracciones excéntricas máximas generan adaptaciones neurales que contribuyen a este efecto protector¹⁹⁶. Sin embargo, un estudio realizado por Leeder et al.¹⁸⁸ demostró en 8 jugadores de hockey, rugby y fútbol que la realización del LIST_{original}, en 2 ocasiones de forma repetida, separada por 14 días, no tuvo ningún efecto protector en la segunda vez que se hizo. La primera vez que se hizo el LIST_{original}, se produjo dolor y daño muscular junto con un empeoramiento de la función muscular, y esto volvió a suceder en una segunda ocasión. Por lo tanto, debido a la similitud con el presente estudio, que tuvo 1 semana más de separación entre tests, se puede sugerir que el efecto protector encontrado en los resultados de la función muscular y el dolor muscular percibido pueden haberse visto influídos por la ingesta de HMB, y que podrían ser más sólidos si el período de suplementación se hubiera prolongado a 2 semanas como mínimo como indican los diferentes estudios realizados^{13,29,176,197}.

Asimismo, por último, las contradicciones encontradas entre la presente Tesis Doctoral y los estudios anteriores pueden deberse al tipo de participantes y a las diferentes pruebas utilizadas para evaluar el efecto del HMB en un esfuerzo determinado. Además, hay que añadir que el rendimiento humano es multidimensional, donde la motivación y confianza pueden mejorar o empeorar este aspecto¹⁸.

Por todo lo anteriormente expuesto, sin duda alguna, sería interesante investigar la posible relación entre la percepción del dolor muscular y la función muscular durante la fase posterior a un ejercicio intenso y que ocasione cierto grado de daño muscular.

Medidas de percepción subjetiva

En la presente Tesis Doctoral no se han encontrado cambios significativos en la percepción subjetiva del esfuerzo y de la recuperación durante la realización del LIST_m. Esto puede ser debido ya que tanto la RPE como la TQR están influenciadas por diversas variables. El grado con la que la RPE se ve afectada no es constante, ya que puede variar según la intensidad del ejercicio y/o la duración del mismo^{133,198}. La TQR o cualquier otra escala para valorar la recuperación se crearon de forma análoga a la escala de la RPE para servir de índice predictor de la disposición hacia el próximo esfuerzo y que depende en gran medida del tiempo que ha tenido el sujeto para recuperar y del daño muscular producido en su organismo debido a un esfuerzo determinado¹⁹⁹. Otro factor que puede haber influido en no encontrar resultados durante el LIST_m es el corto período de suplementación realizado con anterioridad^{13,191}.

5.2. Parte II: datos relacionados con biomarcadores sanguíneos

Los datos que se muestran en esta sección se van a discutir por separado en tres sub-apartados, tales como (1) la respuesta de los diferentes marcadores sanguíneos sensibles a la degradación de la membrana de la célula muscular; (2) la respuesta hormonal; y, (3) el comportamiento de diversos índices de inflamación junto con el metabolismo del hierro. De esta forma se pretende aportar información lo más valiosa posible para entender el efecto de la ingesta de HMB sobre la cascada de los distintos procesos catabólicos asociados a la realización del LIST_m.

Degradación de la membrana de la célula muscular

Los resultados encontrados en la presente Tesis Doctoral sobre los índices sensibles al daño muscular se centran principalmente en tres momentos: (1) momento *Basal-Pre* o después de completar el período de suplementación previo a la realización del LIST_m; (2) momento *Pre-Post* o inmediatamente después de la realización del LIST_m; y, (3) momento *Post-24h* o al día siguiente de la realización del LIST_m.

Una suplementación de 8 días con HMB no produjo ningún efecto significativo en los marcadores sensibles al daño muscular analizados en el momento *Basal-Pre*, excepto en la CK que experimentó un leve descenso con tendencia a la significación.

Asimismo, una suplementación de 8 días con HMB no produjo ningún efecto significativo en los marcadores sensibles al daño muscular analizados en el momento *Pre-Post*, excepto en los valores de LDH que experimentó un aumento significativo.

Por último, una suplementación de 8 días con HMB no produjo ningún efecto significativo en los marcadores sensibles al daño muscular analizados en el momento *Post-24h*, excepto en la LDH que experimentó un descenso con tendencia a la significación.

Como se comentó en los párrafos anteriores, el dolor y el daño muscular se suelen producir de una forma más dramática después de ejercicios con un alto componente excéntrico más que concéntrico^{82,192}. Deportes como el fútbol, en el que está basado el test que se utilizó en la presente Tesis Doctoral, provocan, dentro de la normalidad, valores incrementados que confirman el daño muscular, como pueden ser la CK y LDH, como elemento intrínseco a esta práctica deportiva, y estos índices tienden a volver a sus niveles iniciales a las 72 horas de la finalización del esfuerzo⁸².

La CK es un índice sanguíneo que se utiliza muy a menudo para valorar la pérdida de integridad de la membrana en la fibra muscular esquelética o cardíaca. Suele alcanzar su pico máximo entre 24-48 horas después de realizar un determinado esfuerzo^{21,81,82,85}. Los resultados obtenidos en la presente Tesis Doctoral están en contraposición con los descritos por Van Someren et al.¹⁷⁴ que demostraron como 2 semanas de suplementación con HMB previas a la realización de un ejercicio de fuerza excéntrica podían atenuar la producción de CK inmediatamente y a las 24 horas después. Asimismo, Wilson et al.¹⁹¹ comprobaron que, con un período de suplementación agudo de 1 hora previa al esfuerzo, en sujetos varones no entrenados en fuerza eran capaces de prevenir un aumento de la CK y LDH inmediatamente y a las 24 horas después de realizar un programa de ejercicios de fuerza.

La falta de significación en los resultados de la concentración de CK después de la suplementación con HMB en la presente Tesis Doctoral, sugiere que el HMB no tiene ningún efecto ergogénico sobre la reducción del daño muscular si atendemos a este enzima. Aunque los estudios que demostraron que sí ocurría este efecto, tenían ciertas limitaciones^{13,20,76,86}, como el tipo de participantes (deportistas populares), tenemos que en los estudios con deportistas profesionales ha sido más complicado apreciarlo^{36,200,201}.

Sin embargo, los valores disminuidos encontrados en la CK en el momento *Basal-Pre* están en la misma línea que los aportados por el estudio

de Wilson et al.⁵⁴ donde se examinaba el efecto de la ingesta del HMB en deportistas entrenados en fuerza con una evaluación cada 4 semanas, durante un total de 12 semanas. No se han apreciado similitudes en el resto de estudios analizados con el resultado analizado después de un período de suplementación inferior a 2 semanas y antes de la realización de un esfuerzo intenso que ocasione daño muscular. Por otro lado, están los resultados encontrados por Knitter et al.²⁰ en sujetos entrenados en resistencia que recibieron HMB vs. placebo durante 6 semanas antes de realizar una prueba de larga distancia (20 km) y donde experimentaron un incremento de los índices sensibles del daño muscular inmediatamente después del esfuerzo y prolongado hasta las 72 horas. En dicho estudio no se encontraron diferencias significativas entre cada tratamiento aunque sí que se produjo un aumento menor en el grupo HMB en los niveles de la CK en cada uno de los momentos después de la prueba de 20 km, y sin embargo no se observó una mejora de rendimiento en prueba de los 20 km.

Es importante señalar que la suplementación con HMB puede conducir a cambios significativos en variables de laboratorio, como son los niveles de marcadores sanguíneos, como la CK, pero a veces no se correlacionan con una mejora del rendimiento¹⁵. Esos cambios producidos pueden ser debidos a que el trabajo concéntrico es clave para reducir los niveles de CK cuando acompaña al trabajo excéntrico, como ocurre en la realización del $LIST_m^{202,203}$.

Aunque la LDH se ha utilizado también como índice para analizar el daño muscular producido por un determinado ejercicio, la literatura científica al respecto muestra resultados contradictorios, ya que mientras algunos estudios observan un aumento del valor de la LDH inmediatamente después de correr una maratón²⁰⁴, hay otros que afirman que no se produce ningún cambio después de correr 45 minutos en descenso²⁰⁵.

Los resultados encontrados en la presente Tesis Doctoral sobre la LDH no concuerdan con los encontrados por Wilson et al.¹⁹¹ en los que se mostraba como la ingesta de HMB previa a la realización de un esfuerzo con orientación a la fuerza podía prevenir un aumento de la concentración

de LDH en sangre inmediatamente después del ejercicio. Esta discrepancia puede deberse al tiempo de suplementación previo, que en la presente Tesis Doctoral ha sido 8 días, con respecto al mínimo de 2 semanas establecidas por algunos estudios^{13,191}, la *temporización* en la ingesta del HMB, ya que en el presente estudio nadie ingirió HMB el día de la prueba antes de realizar el LIST_m, mientras que otros estudios confirman el efecto protector inmediatamente después de un ejercicio de fuerza cuando se ingiere HMB justo antes del mismo^{27,29,191}.

Asimismo, los resultados obtenidos en la presente Tesis Doctoral sobre el comportamiento de la LDH inmediatamente después del LIST_m se contraponen con el estudio realizado por Knitter et al.²⁰ donde se analizó la ingesta de HMB durante 1 semana antes de un esfuerzo prolongado de carrera con cierto grado de componente excéntrico y se observó un aumento de la actividad ligeramente inferior de este enzima, sin ser significativa. Sin embargo, los resultados presentes se correlacionan con los de este mismo autor cuando examinamos lo que ocurre en el momento *Post-24h*, produciéndose un descenso de la liberación de este enzima. Este comportamiento se puede deber a que la ingesta de HMB puede ofrecer una resistencia superior al daño muscular expresado en este enzima sensible a la duración y la intensidad del LIST_m.

Cuando relacionamos los resultados obtenidos en la función muscular en los diferentes momentos analizados con los encontrados en la respuesta de la CK y LDH, podemos observar que no siguen una evolución paralela, es decir, a menor daño muscular, mejor respuesta funcional. Los resultados de esta Tesis Doctoral ponen de manifiesto que tener unos valores más elevados en índices sensibles al daño muscular, la LDH inmediatamente después del LIST_m, puede proporcionar la señal necesaria para que se activen las diferentes vías que promueven los procesos anabólicos y frenando lo antes posible los procesos catabólicos. Si esto fuera así, el HMB tendría la capacidad de actuar como una molécula de señalización donde contactaría dentro de las diferentes cascadas de reacciones químicas con el

sensor específico para desencadenar una respuesta que incite a recuperar lo antes posible (véase *Figura 16*)

La afirmación del párrafo anterior se puede relacionar con los resultados encontrados en los estudios de Halson et al.²⁰⁶ y Yamane et al.²⁰⁷ en el campo de la aplicación de frío como estrategia de recuperación. El primero de los autores examinó el efecto de la inmersión en agua fría como medida de recuperación en ciclistas a través de entrenamientos interválicos de alta intensidad y sobre los índices sensibles a las adaptaciones al entrenamiento, tales como la CK, DOMS, función muscular, perímetros musculares y rango de movimiento, en la fase posterior a la realización de este tipo de entrenamiento, observando que se producía un efecto positivo sobre los diversos aspectos mencionados en las líneas anteriores durante un largo período de tiempo. Mientras, los trabajos de Yamane et al.²⁰⁷ señalaban todo lo contrario. Este autor demostró que la inmersión en agua fría durante 6 semanas de forma regular después de realizar entrenamientos de fuerza en jóvenes, producía una menor adaptación vascular y muscular al entrenamiento de fuerza. Esto lo observó analizando el comportamiento de la temperatura después del ejercicio realizado. El aumento de temperatura corporal aumenta la activación de la vía Akt/mTOR²⁰⁸. Si se disminuye drásticamente la temperatura drásticamente de la musculatura trabajada, se consigue disminuir la capacidad de generar diversas adaptaciones. Por lo tanto la respuesta metabólica a un determinado ejercicio está marcada por el entorno muscular, que influye en los procesos moleculares para las adaptaciones a largo plazo durante el período de recuperación^{207,209} Ese estudio, a diferencia del realizado por Halson et al.²⁰⁶, utilizó como muestra jóvenes deportistas frente a deportistas experimentados, así como el protocolo de ejercicio utilizado también fue distinto, principalmente observado en una menor duración y exposición al aumento de temperatura corporal, que es un factor clave para que sucedan los efectos descritos anteriormente²⁰⁶.

En la presente Tesis Doctoral, y en línea con los estudios de Yamane et al.²⁰⁷, los resultados obtenidos en la respuesta de la LDH a las 24 horas

después del $LIST_m$, pueden deberse a que el HMB puede interactuar con un importante regulador de la función mitocondrial, del metabolismo oxidativo y de la homeostasis, que es el gen PGC-1 α ⁷⁹. El aumento de esta expresión supone una mejora del rendimiento²¹⁰, a lo que hay que añadir que esta expresión es sensible a la presencia de HMB⁵⁰, produciéndose una activación del metabolismo de grasa marrón y músculo²¹¹. Y para que aumente la presencia de HMB, como se ha mencionado en los párrafos anteriores, debe verse aumentada la respuesta, en una primera fase, de los índices que indican el inicio de procesos catabólicos en el organismo. Sin embargo, aunque no se ha estudiado la expresión del gen PGC-1 α en la presente Tesis Doctoral, éste puede ser un posible mecanismo por el que se generen adaptaciones positivas al entrenamiento después de un período de suplementación con HMB y se puede convertir en un área importante de investigación en el futuro, ya que supondría un avance en los estudios sobre obesidad, control de peso, diabetes y resistencia a la insulina, así como en el rendimiento deportivo en pruebas de larga duración y con una alta contribución aeróbica^{50,206}.

Por último, la literatura científica que examina el daño muscular producido por un esfuerzo físico^{139,140} muestra la alta sensibilidad del marcador de daño muscular α -actina. Según estos estudios, se suele producir un aumento de este índice después de un esfuerzo para proporcionar un diagnóstico temprano y efectivo del daño muscular producido y el riesgo potencial de sufrir lesión. Efectivamente, se obtienen estos resultados en la presente Tesis Doctoral, y están en línea con los encontrados en los otros marcadores de daño muscular, tales como la CK y LDH. Sin embargo, no se observa ningún cambio significativo entre el grupo HMB vs. placebo.

Acelerar la recuperación se ha convertido en un tema principal en el fútbol actual debido a la alta densidad competitiva. Sin embargo, es fundamental optimizar y aportar calidad al proceso de recuperación para mejorar las adaptaciones a un determinado estrés metabólico y/o mecánico.

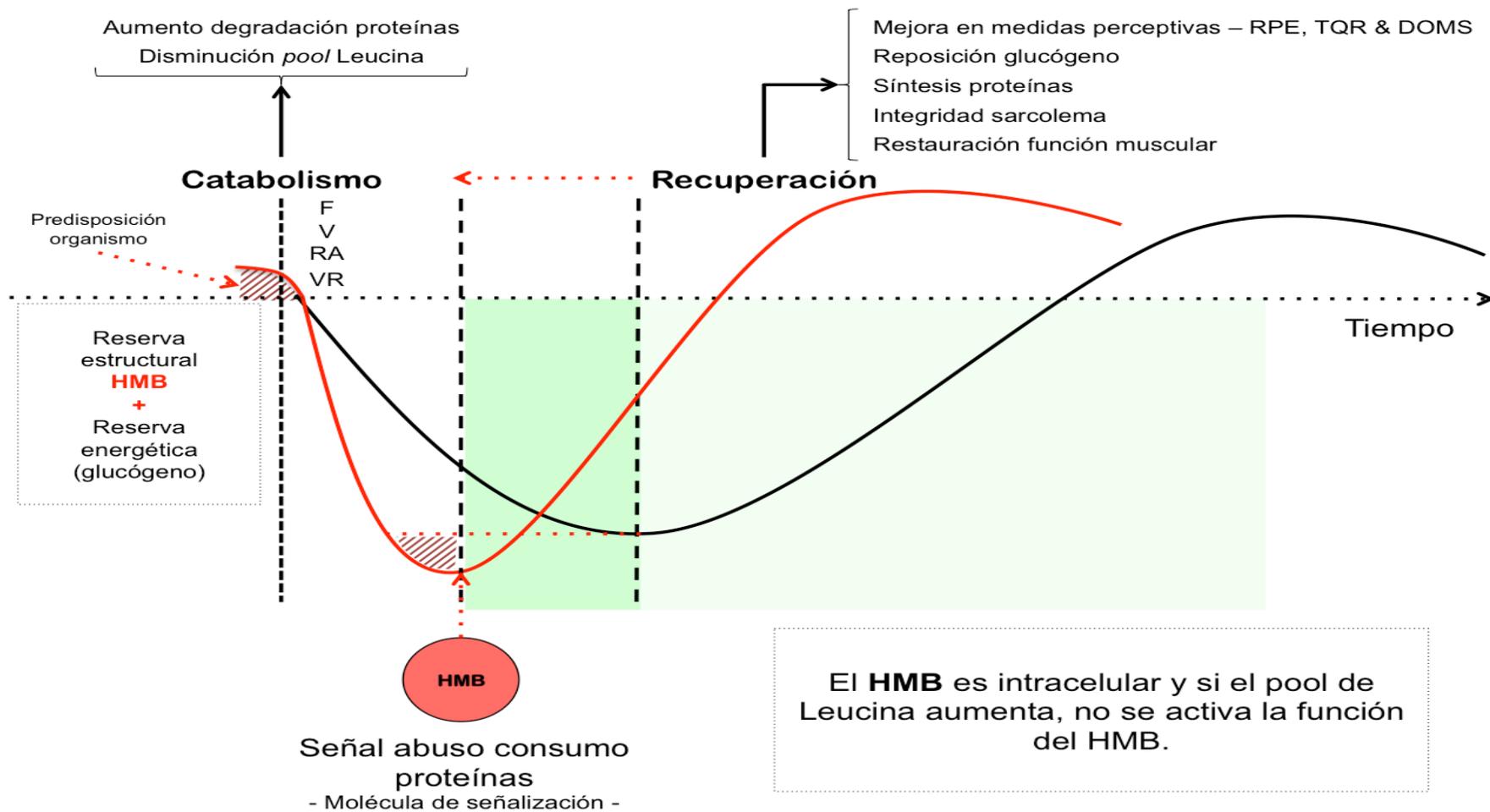


Figura 16. Representación gráfica del papel potencial del HMB como molécula de señalización según el modelo del Síndrome General de Adaptación de Selye²¹². *HMB* β-hidroxi-β-metilbutirato, *F* fuerza, *V* velocidad, *RA* resistencia aeróbica, *VR* velocidad-resistencia, *RPE* percepción subjetiva del esfuerzo, *TQR* percepción de la recuperación, *DOMS* dolor muscular post-esfuerzo.

Respuesta hormonal

Los hallazgos más importantes encontrados en la presente Tesis Doctoral sobre la respuesta hormonal se centran principalmente en tres momentos: (1) momento *Basal-Pre* o después de completar el período de suplementación previo a la realización del LIST_m; (2) momento *Pre-Post* o inmediatamente después de la realización del LIST_m; y, (3) momento *Post-24h* o al día siguiente de la realización del LIST_m.

Una suplementación de 8 días con HMB no produjo ningún efecto significativo en la respuesta de todas las hormonas analizadas en el momento *Basal-Pre* de la presente Tesis Doctoral.

Asimismo, una suplementación de 8 días con HMB no produjo ningún efecto significativo en la respuesta de las hormonas analizadas en el momento *Pre-Post*, excepto en la expresión de la GH y la insulina, que experimentaron ambas un descenso con tendencia a la significación.

Por último, una suplementación de 8 días con HMB no produjo ningún efecto significativo en la respuesta de las hormonas analizadas en el momento *Post-24h*, excepto en la GH que experimentó un aumento con tendencia a la significación; y la insulina que mostró un aumento significativo para placebo vs. HMB.

La evidencia mostrada sobre el HMB y su influencia sobre los procesos anabólicos y catabólicos conduce a que ciertas hormonas o mediadores de inflamación puedan jugar un papel muy importante en crear un efecto sinérgico para lograr las adaptaciones necesarias a un esfuerzo determinado.

Los resultados encontrados en la respuesta de la GH en el momento *Pre-Post* están en contraposición a los encontrados por Townsend et al.⁶⁵, donde los sujetos que se suplementaron justo antes de un ejercicio intenso de fuerza con HMB o placebo, mostraron que aumentaban la respuesta de otras hormonas anabólicas, como la testosterona, IGF-1 e insulina para el HMB vs. placebo, inmediatamente después de este esfuerzo. En esta línea se encuentran también los estudios de Gerlinger-Romero et al.⁴⁸ que demostró que se producía un aumento en la respuesta de la GH e IGF-1

inmediatamente después de un ejercicio intenso de fuerza en ratas y después de la ingesta de HMB unos 30 minutos antes del comienzo del ejercicio.

Los resultados de la presente Tesis Doctoral no han podido mostrar la habilidad del HMB para generar una respuesta hormonal anabólica, asociada a esta suplementación inmediatamente después del LIST_m en todas las variables estudiadas, como han explicado otros autores^{54,89,176,200}. Los estudios de Hoffman et al.²⁰⁰ confirmaron que no se producía ningún efecto positivo tras la ingesta de HMB durante un período de 10 días en jóvenes futbolistas al finalizar una pretemporada de fútbol americano sobre los niveles de hormonas como la testosterona y el cortisol, que son indicadores del estado anabólico y catabólico de los deportistas. Existe una relación documentada en la literatura científica sobre el volumen de entrenamiento y la elevación en la secreción de GH^{120,213}, de tal forma que un alto volumen de entrenamiento con un período corto de descanso influye a que se produzca una elevación en la respuesta de la GH.

En la presente Tesis Doctoral, los resultados encontrados en la GH a las 24 horas después LIST_m se relacionan con los descritos por Wilson et al.¹⁹¹ donde sí que se produce un aumento de la respuesta de la GH como respuesta al daño muscular producido, haciendo referencia a esa habilidad de activar las vías de señalización anabólicas para frenar la degradación de proteínas. Se puede dar esta respuesta de la GH en el momento *Post-24h* porque el HMB tarda más en actuar ya que en la presente Tesis Doctoral se ingirió en forma de sal cálcica (Ca-HMB) mientras que los estudios de Wilson et al.¹⁹¹ lo hicieron con HMB-FA, que muestra una respuesta más rápida en el tiempo. Asimismo, si la respuesta no fue tan pronunciada también puede ser porque el período de suplementación no fue lo suficientemente largo, así como el no haber ingerido cierta cantidad de HMB justo antes a la realización del LIST_m¹⁹¹.

Los estudios realizados por Kraemer et al.²⁶ confirman los resultados encontrados en la presente Tesis Doctoral en que una suplementación crónica con HMB produce un aumento de los niveles testosterona a las 24

horas después de realizar un ejercicio intenso de fuerza con demanda excéntrica, sin embargo no se apreció la misma respuesta en la disminución de la concentración de cortisol en ese mismo momento. Si se aplica este concepto a una población deportista, Hakkinen et al.²¹⁴ demostró que se producían cambios *Post-24h* y que se relacionan con las adaptaciones neuromusculares creadas.

La falta de significación en los resultados de la concentración de ciertas hormonas analizadas en la esta Tesis Doctoral, en cada uno de los momentos establecidos, sugiere que el HMB no tiene efecto ergogénico inmediatamente después de la realización del LIST_m. Los estudios que demostraron que sí se producía este efecto, presentaban un mayor período de suplementación^{54,65,75}. En la literatura científica, cuando se ha incrementado el tiempo de suplementación previo al daño muscular generado por un esfuerzo, se ha producido una adaptación favorable hacia el aumento de la respuesta de la testosterona y hormona de crecimiento, sin cambios en la insulina o IGF-1^{26,75}. Sin embargo, la presente Tesis Doctoral, basada en un ejercicio de naturaleza intermitente, lleva a pensar que no se rige por la misma regla. Si bien es importante destacar que si se desea promover un aumento significativo de la respuesta hormonal, tales como la GH y la IGF-1, después del LIST_m, la suplementación con HMB, de forma crónica o aguda, puede ayudar a conseguirlo, atendiendo a la *temporización* en la ingesta⁶⁵, es decir, tomar HMB justo antes del LIST_m, 60 minutos o 30 minutos dependiendo si es Ca-HMB o HMB-FA, respectivamente.

Por otro lado, el cambio en la concentración de GH a las 24 horas después del LIST_m se podría explicar a través de los estudios que demuestran que el aumento de esta hormona favorece los procesos ligados a la lipólisis⁹⁰, y mediante esta vía, el HMB podría actuar activando aquellas vías de señalización que favorecieran la biogénesis mitocondrial, evitando así la degradación de proteínas y proporcionando una importante fuente de substrato energético, según se ha descrito anteriormente en los mecanismos de acción del HMB^{79,215}.

La respuesta mostrada en esta Tesis Doctoral por la GH tiene una repercusión directa sobre los cambios producidos en la inflamación después del LIST_m^{21,216,217} como se verá en los siguientes párrafos cuando se hable de la respuesta inflamatoria.

Por otro lado, la tendencia a la significación en el descenso de la insulina inmediatamente después del LIST_m, sugiere que no se ha generado un efecto anabólico en el organismo como confirmaban los estudios de Townsend et al.⁶⁵, donde inmediatamente después de realizar un ejercicio de fuerza intenso se lograba aumentar la respuesta de la insulina inmediatamente después del mismo y tras la ingesta de HMB 30 minutos antes de la prueba. La insulina se ha demostrado que afecta a la síntesis de proteínas cuando hay disponible una adecuada concentración de aminoácidos, especialmente cuando se ha reducido el catabolismo proteico²¹⁸. Sin embargo, el aumento atenuado significativo en la concentración de insulina a las 24 horas del LIST_m puede explicar el efecto ergogénico del HMB en ese momento, sensible al catabolismo proteico por ser un derivado de un aminoácido, como lo hizo el trabajo de Hung et al.²¹⁹ que estudió a judokas femeninas después de un período de suplementación con 3 g/día de HMB durante 3 días y realizaron una serie de esfuerzos cortos e intensos, tales como el test de Wingate y repeticiones de 10 metros sprint. Los resultados obtenidos con las judokas mostraron una respuesta atenuada de la insulina al no tener ningún efecto sobre la glucosa en sangre para el grupo HMB a las 24 horas después de la realización de las pruebas mencionadas. Similar a la leucina, el HMB puede ocasionar aumentos atenuados de la insulina desde el páncreas²¹⁸.

Desde una visión práctica, cuando un deportista comienza un programa de entrenamiento, una de las primeras cosas que sucede es un aumento de la respuesta de las citocinas proinflamatorias y como consecuencia una disminución de los niveles de GH y IGF-1²¹³. Si el entrenamiento está acompañado de una inadecuada nutrición, se produce un balance negativo de energía que puede acentuar esta respuesta. Sin embargo, si se produce una adaptación positiva al entrenamiento o ejercicio, se alcanza un nuevo

estado de equilibrio donde disminuye la acción de las citocinas proinflamatorias. En este estado, vuelve a aumentar la liberación de la hormona de crecimiento hacia los niveles iniciales. Según los resultados de la presente Tesis Doctoral, el cuándo y el cómo ocurre y si fuera necesaria esa primera fase catabólica acentuada para acelerar la recuperación, es desconocida^{40,213}.

Respuesta de los marcadores de inflamación y metabolismo del hierro

Los hallazgos más importantes encontrados en la presente Tesis Doctoral sobre la respuesta de los marcadores de inflamación se centran principalmente en tres momentos: (1) momento *Basal-Pre* o después de completar el período de suplementación previo a la realización del LIST_m; (2) momento *Pre-Post* o inmediatamente después de la realización del LIST_m; y, (3) momento *Post-24h* o al día siguiente de la realización del LIST_m.

Una suplementación de 8 días con HMB no produjo ningún efecto significativo en la respuesta inflamatoria de todos los parámetros analizados en el momento *Basal-Pre* de la presente Tesis Doctoral.

Asimismo, una suplementación de 8 días con HMB no produjo ningún efecto significativo en la respuesta inflamatoria de algunos parámetros analizados en el momento *Pre-Post*, excepto en la expresión de la homocisteína, que experimentó un aumento con tendencia a la significación.

Por último, una suplementación de 8 días con HMB no produjo ningún efecto significativo en la respuesta inflamatoria de todos los parámetros analizados en el momento *Post-24h*, excepto en la homocisteína y el ácido fólico que mostraron un descenso con tendencia a la significación en ambas.

Por otro lado, los resultados más importantes encontrados en la presente Tesis Doctoral sobre la respuesta del metabolismo del hierro después de un período suplementación de 8 días con HMB se observan en el comportamiento del sTfR durante el período *Basal-Pre* y *Post-24h*. El resto de marcadores del metabolismo del hierro analizados, como la transferrina y la ferritina, no mostraron ningún efecto de significación en

ninguno de los momentos analizados sobre su respuesta de inflamación después del LIST_m²²⁰.

La tendencia a la significación de la respuesta mostrada por la homocisteína inmediatamente después del LIST_m se puede relacionar con los estudios de König et al.²²¹ donde se analizaron los efectos de un ejercicio intenso y prolongado sobre los niveles de homocisteína, ácido fólico y vitamina B₁₂, descubriendo que el ejercicio intenso y prolongado produce un aumento de los niveles de homocisteína en sangre. Este aumento de la concentración de homocisteína puede deberse a varios mecanismos²²². Un ejercicio intenso puede alterar la cantidad de homocisteína producida en el organismo debido a su influencia sobre el *turn over* de proteínas. Si durante este ejercicio se produce una mayor degradación de proteínas se produce un aumento de los niveles de homocisteína en sangre así como disminuye la disponibilidad de vitaminas del complejo B^{223,224}, que se ven afectadas, sobre todo la vitamina B₆, por la depleción de los depósitos de glucógeno²²⁵. Los trabajos de investigación suelen enfatizar que existe una correlación fuerte entre el ácido fólico y los niveles de homocisteína en sangre^{222,226}.

El descenso con tendencia a la significación encontrado en la expresión del ácido fólico a las 24 horas después de realizar el LIST_m en la presente Tesis Doctoral, puede ser debido a que exista una correlación negativa entre la concentración de ácido fólico y homocisteína antes y después del LIST_m. Esta correlación ha sido demostrada por varios autores^{221,222} en la que un pequeño aumento en la concentración de homocisteína después del LIST_m puede ocasionar un descenso más atenuado en la concentración de ácido fólico a las 24 horas del LIST_m. En otros términos, el HMB podría favorecer a que la acción de la homocisteína sea más larga en el tiempo con el objetivo de proporcionar al organismo el substrato metabólico y la energía necesaria para poder acelerar los procesos de adaptación²²².

El sTfR es un marcador de la actividad eritropoyética que disminuye progresivamente hasta alcanzar su mínimo a las 48 horas después del daño muscular producido⁹⁵. En la presente Tesis Doctoral, los resultados del sTfR encontrados en el momento *Basal-Pre* con un efecto con tendencia a la

significación de aumento, sugiere un descenso de la actividad eritropoyética, que aumenta cuando se estimula esta actividad a través de hemólisis o eritropoyesis inefectiva²²⁷. Sin embargo, el descenso que sufre el sTfR a las 24 horas después del LIST_m refleja que ha disminuido la actividad de la médula ósea eritrocitaria. Las unidades de formadores de colonias de eritroblastos suelen disminuir en número cuando se recupera el daño muscular generado, y volver a sus valores iniciales hacia las 48 horas. Por el contrario, la concentración de sTfR no vuelve a sus niveles iniciales a las 48 horas y puede seguir disminuyendo²²⁸.

Aunque en la presente Tesis Doctoral no se ha medido la expresión del sTfR a las 48 horas, la hipótesis de que la inflamación producida por el daño muscular generado influye en la cantidad de células que circulan por el torrente sanguíneo es apoyada por la correlación negativa existente entre los marcadores de inflamación y las células progenitoras circulantes²²⁹.

Los resultados encontrados en la presente Tesis Doctoral sobre el sTfR en el momento *Basal-Pre* y *Post-24h*, se relacionan con el estudio realizado por Wing-Gaia²³⁰, donde se describe el efecto de la suplementación con leucina además de otros amino ácidos para lograr atenuar con éxito la pérdida de masa magra en una situación de hipoxia en los momentos descritos en las líneas anteriores^{231,232}. Se sabe que la hipoxia produce un balance energético negativo y conduce a una insuficiente capacidad para sintetizar proteínas ya que la vía de señalización mTOR^{43,230,233} está inhibida, acelerando así los procesos proteolíticos mediante la vía ubiquitina-proteosoma²³⁰. En función de esta base científica, el efecto con tendencia a la significación en el momento *Post-24h* del sTfR sugiere que se ha podido producir un ligero incremento en la eritropoyesis para enviar una señal a la vía mTOR y que pueda desencadenar todas las reacciones necesarias para activar los procesos anabólicos e inhibiendo la vía ubiquitina-proteosoma para frenar los procesos catabólicos²³⁴. Esto puede dar solidez a la hipótesis de que el HMB tenga un papel clave como molécula de señalización donde, en este contexto, provoque una predisposición en el organismo a afrontar una situación de estrés, aumentando la producción de glóbulos rojos,

sabiendo que después se inhibirá este proceso en gran medida (véase *Figura 16*)

La falta de significación de resultados en la mayor parte de las variables del metabolismo de hierro analizadas puede deberse, en parte a que un esfuerzo puntual no ocasiona un empeoramiento en su metabolismo, sino que estos efectos se podrían observar cuando se acumulan varios días de esfuerzos intensos sin el tiempo necesario de descanso o mostrando un déficit en las estrategias de recuperación empleadas⁹⁶.

El daño muscular producido por el LIST_m en la presente Tesis Doctoral conduce a un aumento de los marcadores de inflamación o también llamados citokinas, tales como la ferritina, el TNF- α , la IL-6 y la CRP, iniciándose una serie de proceso inflamatorios que facilitan la reparación del músculo^{235,236}. En esta Tesis Doctoral, no ha habido diferencias significativas en la expresión de la ferritina entre cada tratamiento, HMB vs. placebo, en ninguno de los momentos descritos. Hacen falta más investigaciones que corroboren este resultado, pero la falta de sensibilidad de este marcador después del LIST_m y la suplementación con HMB pueden ser los factores responsables, según indican otros estudios^{73,75}

Por otro lado, la falta de significación en la respuesta obtenida en la inflamación del resto de marcadores en la presente Tesis Doctoral en cada momento se relaciona con el estudio realizado por Kraemer et al.⁷⁵ donde se analizó la relación entre la suplementación con un compuesto solamente con proteína y otro con más complejo que contenía HMB e isomaltulosa, que es muy parecido a la sacarosa y está presente en la caña de azúcar o miel de abeja. Sus resultados confirmaron y sugieren que si no existen diferencias muy grandes en la repuesta hormonal como mecanismo de acción para favorecer la mejora de la integridad de la membrana celular, en particular, y la recuperación en general, tras la suplementación de HMB, es importante observar los resultados obtenidos en los índices sensibles al daño muscular, rendimiento y factores de percepción subjetiva, como ya se hizo en estudios anteriores²¹. Además este autor hace referencia que en períodos de alto volumen de entrenamiento tanto en actividades de resistencia como de

fuerza^{242,243}, si se le suman carbohidratos a la ingesta de HMB como puede ser la isomaltulosa, esto favorece la reducción de la respuesta inflamatoria⁷⁵, en su caso la de IL-6, ya que este marcador aumenta cuando se ha producido una depleción de glucógeno^{244,245}.

El análisis de la literatura científica en la presente Tesis Doctoral dentro de esta sección, crea la necesidad de incluir, la importancia de la medición del factor de necrosis tumoral α (*tumor necrosis factor- α* , TNF- α) después de un ejercicio intenso y tras un período de suplementación con HMB, además de su relación con la respuesta en la concentración de GH, debido a la especificidad de este marcador²¹⁶. El TNF- α participa en la señalización de la migración de neutrófilos y macrófagos al lugar donde se inició el daño para iniciar la recuperación del tejido²³⁷, produciéndose una temporal disfunción contráctil temporal, aumento del catabolismo y descenso de la miogénesis inmediatamente después del daño muscular generado²³⁸.

El estudio realizado por Townsend et al.²¹⁷ comprobó los efectos del HMB-FA y la inmersión en agua fría sobre la respuesta en la expresión de TNF- α después de daño producido por un ejercicio intenso orientado hacia la fuerza se logró atenuar la expresión TNF- α durante la fase de recuperación en comparación con placebo e inmersión en agua fría, es decir, el HMB disminuyó la respuesta inmune inicial al ejercicio intenso y esto produjo una reducción del tiempo de recuperación después del daño muscular generado. Esta idea puede ser clave para poder enunciar una de las conclusiones que se pueden desprender en la presente Tesis Doctoral. Si el HMB afecta a la respuesta inmune facilitándose la circulación en sangre de monocitos y macrófagos, activándose por tanto el sistema autofágico-lisosomal^{42,91}, esto tiene una correlación negativa con la GH²¹⁶, donde un aumento de la expresión del TNF- α produce una disminución de la respuesta en la GH, que es el resultado que se pudo ver en esta Tesis Doctoral inmediatamente después del LIST_m. De esta forma, esta acción conjunta produce que se inicie una fase de alarma, según describió Selye²¹² en su modelo de síndrome de adaptación general, en la que en las próximas horas se invierta el proceso. Esto significaría que el HMB contribuiría de forma potencial a

inhibir la respuesta del sistema autofágico-lisosomal, produciéndose una inhibición del TNF- α , aumentando entonces la concentración de GH y obteniendo una mayor tasa de reparación celular, restauración de la función muscular y atenuación en la pérdida de masa muscular en otros casos, según han demostrado los estudios anteriores^{42,65,217}, junto con los resultados encontrados en la presente Tesis Doctoral a las 24 horas después del LIST_m.

Sin embargo, el no haber estudiado el comportamiento del TNF- α en el tiempo en esta Tesis Doctoral, así como otras citocinas como la IL-6, que pueden verse afectadas por la anterior, lo convierte en una limitación potencial para confirmar esta hipótesis, junto con la no valoración de la respuesta de la GH durante las 48 y 72 horas después del LIST_m. El factor tiempo es fundamental para valorar el efecto del daño muscular en la respuesta inmune, ya que una reducción de la inflamación inmediata puede perjudicar la recuperación en algunos casos, como el de Vaile et al.²³⁹, donde se valoró una intervención con hidroterapia sobre la recuperación del rendimiento después del daño muscular generado por un esfuerzo. Ambas citocinas, tanto las proinflamatorias como las antiinflamatorias son necesarias para una adecuada recuperación de la estructura morfológica y función muscular²³⁵. En un estudio realizado con futbolistas, se analizó la respuesta pro y antiinflamatoria después de un partido y se observó que se produjo un aumento paralelo en ambas considerándose una característica normal para generar adaptación²⁴⁰. Sin embargo, otro estudio²⁴¹ afirmó que es necesario aclarar la cascada de efectos producidos por las acciones pro y anti-inflamatorias en el tiempo para determinar si son beneficiosas o no para el proceso de recuperación. Esto significa que dependiendo del momento, si se atenúa la respuesta inflamatoria puede conducir a un retraso en la reparación del daño muscular, y por tanto, no se produciría una aceleración de los procesos de recuperación, sino todo lo contrario.

En resumen, se necesitan más estudios que aclaren y expliquen la conexión entre los procesos inflamatorios y el daño muscular después de la ingesta de HMB y un esfuerzo intenso de naturaleza intermitente.

5.3. Parte III: datos relacionados con otras pruebas complementarias

De todos los resultados encontrados en las pruebas complementarias descritas en la presente Tesis Doctoral, se realizará un breve comentario a modo de discusión de las más relevantes para el lector, tales como las medidas antropométricas, la respuesta funcional en la prueba de agilidad / habilidad con balón y test de concentración.

Medidas antropométricas

Una suplementación de 8 días con HMB no produjo ningún efecto significativo en las características antropométricas de los participantes en las mediciones realizadas después de cada uno de los períodos de suplementación completados en el diseño experimental de la presente Tesis Doctoral.

Por lo tanto, se necesitan estudios con una duración más larga para confirmar cambios posibles sobre la composición corporal después de generar daño muscular⁶⁷. Sin embargo, si otros estudios han encontrado cambios en la composición corporal asociado a una reducción en el porcentaje de grasa corporal, es importante tener en cuenta también, el estado inicial de entrenamiento como un factor crítico para que esto suceda^{29,36,121,201}.

Test de concentración y respuesta funcional en el test de agilidad / habilidad con balón

Una suplementación de 8 días con HMB no produjo ningún efecto significativo en el test de concentración y test de agilidad / habilidad con balón después de cada uno de los períodos de suplementación completados y analizado antes y después del LIST_m como aparece en el diseño experimental de la presente Tesis Doctoral.

Este resultado puede ser debido a que el deterioro de una habilidad después de un ejercicio muy intenso suele venir asociado a la depleción de glucógeno^{134,246}. Jacobs²⁴⁷ demostró que un ejercicio a máxima intensidad de menos de 1 minuto de duración se ve afectado cuando existe una

deplección de glucógeno, y sugirió que este efecto puede ser causado por una reducción de la glucogenolisis. Ya que tanto el componente aeróbico como la potencia y fuerza explosiva son clave para el rendimiento en el fútbol, ya que una concentración de glucógeno intramuscular baja puede estar relacionada con el detrimento del rendimiento, en términos de factores biológicos²⁴⁸. Este mismo autor sugirió que la concentración crítica, por debajo de la cual empeora la resíntesis de ATP, es sobre $175 \text{ mmol}\cdot\text{kg}^{-1}$. Durante el $\text{LIST}_{\text{original}}$, la concentración de glucógeno muscular estuvo por debajo de ese umbral¹¹². Por lo tanto, es razonable pensar que al final del LIST_m , la concentración de glucógeno muscular de los participantes fuera baja.

Otro factor importante que influye en los datos encontrados en esta sección en la presente Tesis Doctoral es que la ingesta de agua *ad libitum* durante un esfuerzo prolongado mejora la resistencia a la fatiga en comparación a cuando no se ingiere ningún fluido. La no ingesta de líquido provoca un aumento de la oxidación de hidratos de carbono y se inhibe la oxidación de ácidos grasos²⁴⁹. Por otro lado, la percepción subjetiva del esfuerzo también era más baja si el sujeto no ingería líquido, y quizá por este motivo no se pudieron mostrar cambios significativos en la presente Tesis Doctoral. En esta línea, un estudio de Hargreaves et al.²⁵⁰ demostró que la ingesta de agua lograba atenuar la concentración de adrenalina plasmática que normalmente ocurre durante el ejercicio en ausencia de agua, y que puede explicar una reducción de la utilización de glucógeno. En contraste, un aumento de la contribución de hidratos de carbono al metabolismo energético cuando no se ingiere líquido conduciría a un aumento de la tasa de glucogenolisis y la aparición de fatiga temprana¹³⁴. En la presente Tesis Doctoral, aunque la duración media de cada sprint fuera de 3.15s, existe evidencia científica que sugiere una influencia negativa sobre el rendimiento cuando el sujeto no ha ingerido líquido. Durante un *set*, según los resultados descritos en la presente Tesis Doctoral en el sub-apartado de Resultados de la función muscular, el último sprint del último *set* es más lento que el primero, aunque no existan diferencias significativas entre tratamientos; por

otro lado, durante el LIST_m completo, si se atiende al índice de fatiga, el valor medio del último sprint es mayor que el primero, es decir, más lento, para placebo vs. HMB, como se ha analizado en los párrafos anteriores.

Por otro lado, la falta de significación después de un periodo de suplementación con HMB vs. placebo en el test de agilidad / habilidad con balón después de LIST_m puede estar causado por ciertos factores periféricos como la hipoglucemia o deshidratación, ya que el aporte de glucosa al cerebro tiene un papel clave como sustrato principal del metabolismo energético dentro del sistema nervioso central. Sin embargo, estos resultados están en contraposición a los encontrados por Bruckbauer et al.⁵⁰, que confirman que el HMB influye sobre un sensor del balance energético celular llamado AMPK para provocar una respuesta rápida en el organismo, actuando así como molécula de señalización, con el objetivo de desencadenar una cascada de reacciones bioquímicas donde se metabolice de forma eficiente glucosa y ácidos grasos, generando así más energía y contribuyendo a una regulación positiva de los procesos celulares. Esta actuación suministra al organismo una potencial resistencia a la degradación celular por el estrés inducido por el ejercicio físico intenso⁵⁰.

De esta forma, aunque no se han podido apreciar efectos significativos inmediatamente después del LIST_m, se hace necesario que futuras investigaciones analicen lo que ocurre en los otros momentos propuestos, como puede ser a las 24, 48 y 72 horas después del LIST_m.

Por otro lado, los resultados encontrados en el test de concentración en cada uno de los momentos analizado están en contraposición de nuevas teorías que destacan el papel positivo del HMB dentro de la función cerebral²⁵³, sugiriendo que se necesitan más estudios que demuestren que se pueden encontrar diferencias significativas en este test. Sin embargo, es posible que esto no haya sido así debido al corto período de suplementación realizado, a la forma o al momento ingerido de la dosis^{16,19}.

5.4. Limitaciones del estudio

A pesar de que los resultados mostrados exponen novedosas relaciones entre la suplementación con HMB, función muscular, medidas de percepción subjetiva, daño muscular y otros aspectos biomédicos durante un período de suplementación de 8 días en futbolistas, la presente Tesis Doctoral no está exenta de limitaciones que merecen ser comentadas.

En primer lugar, el tamaño de la muestra utilizado fue relativamente pequeño, lo que se traduce en una menor potencia estadística y sólo aquellos tamaños del efecto grande han alcanzado la significación. Es por ello, que en esta Tesis Doctoral se destaquen también aquellos efectos en los que el valor de P fuera igual o inferior a 0.1, puesto que estos son efectos que de aumentarse el tamaño muestral serían susceptibles de ser significativos.

Otra de las principales limitaciones de la presente Tesis Doctoral ha sido el período durante el cual los sujetos han sido suplementados. Es posible que de haber usado un período de suplementación más amplio previo a la realización del LIST_m, los efectos obtenidos sobre la reducción del daño y la proteólisis generada en el músculo habrían sido mayores.

Otra de las limitaciones de esta Tesis Doctoral es la propia naturaleza del fútbol que, en muchas ocasiones reacios en el cambio de dinámicas de entrenamiento no se ha podido controlar la carga de una forma más rigurosa. La variabilidad que ofrece las tareas de fútbol en la carga fisiológica del entrenamiento hace complicado la labor de control de la misma. Sin embargo, es posible tener un índice que aporte un valor individual de la respuesta de cada futbolista al ejercicio a través de los llamados impulsos de entrenamiento (*training impulses*, TRIMPS). Aunque existen varias fórmulas para calcularlos, los TRIMPS se basan en la medición de la frecuencia cardiaca durante el ejercicio para después multiplicarla por el tiempo del mismo, extendiendo los resultados a la sesión también, aportando información individual de la carga interna de futbolista^{254–256}. La medición de los TRIMPS junto con la RPE²⁵⁵ en cada una de las sesiones hubiera aportado información de gran relevancia a la presente Tesis Doctoral para una más completa interpretación de los datos obtenidos después del período de suplementación y realización del LIST_m.

Por último, otra de las posibles limitaciones de este Tesis Doctoral es la falta de sensibilidad en ciertos marcadores sanguíneos utilizados para valorar la respuesta inflamatoria del organismo sobre la célula muscular. Asimismo, este aspecto está en relación con la importancia del factor tiempo transcurrido después del LIST_m para valorar el efecto de la suplementación con HMB, sobre la respuesta inflamatoria y hormonal, pudiendo esclarecer la falta de significación de algunos marcadores según el protocolo utilizado en esta Tesis Doctoral.

Asimismo, los resultados obtenidos pueden no ser generalizables a otro tipo de esfuerzos o disciplinas deportivas.

Es conveniente también destacar algunas aportaciones importantes de la presente Tesis Doctoral, entre las que se encuentran las condiciones muy controladas de laboratorio en la que se realizó gran parte del experimento, así como el diseño cruzado intra-sujeto, en el que cada participante hace de control consigo mismo, al someterse a dos condiciones diferentes de suplementación. Al mismo tiempo, la utilización del LIST_m como ejercicio diana para provocar la actuación del HMB debido al daño muscular producido, puede considerarse un punto fuerte de la presente Tesis Doctoral, puesto que es un ejercicio con cierto carácter de especificidad en los esfuerzos que se suceden durante un partido de fútbol, y los resultados que de aquí se derivan pueden ser extendidos y puestos a debate en investigaciones que aborden la problemática que relaciona la suplementación nutricional, el proceso de recuperación y este tipo de esfuerzos intermitentes de alta intensidad.

5.5. Perspectivas de futuro

En coherencia con las principales limitaciones metodológicas de la presente Tesis Doctoral descritas anteriormente, se pueden plantear al menos tres vías de desarrollo mediante las que el conocimiento sobre la suplementación con HMB en futbolistas puede verse ampliado sustancialmente en el futuro, que se describen a continuación.

5.5.1. Ampliación del tamaño de la muestra

Por la propia dinámica del fútbol durante una temporada, es muy complicado encontrar sujetos que puedan participar en investigaciones de este tipo, especialmente si consisten en utilizar sustancias para la suplementación y en realizar un seguimiento muy cercano a la hora de evaluar, además del daño muscular producido por el LIST_m. Por otra parte, según la experiencia encontrada, muchos entrenadores tienden a ser reacios a permitir que sus jugadores participen en estudios como este donde se comprometa el rendimiento del jugador en el próximo partido, lo que complica aún más la selección de participantes.

Por todo ello, las dificultades en el reclutamiento de la muestra ha impedido realizar análisis comparativos entre las diversas posiciones en el campo desempeñadas que con un número mayor de sujetos podría haberse estudiado.

Asimismo, otro aspecto muy importante es que no se han podido establecer comparaciones entre géneros, y este sería un factor vital a tener en cuenta para futuras investigaciones. Debido a que el papel de la mujer en el fútbol profesional a nivel mundial se está consolidando cada día más en la actualidad, y sería interesante saber si se pueden extender los resultados de esta investigación para poder evaluar el papel del HMB como molécula de señalización que mejora los procesos de recuperación en futbolistas de género femenino.

Por otro lado, un paso lógico en el horizonte investigador es conseguir un mayor número de participantes para poder asociarlos por demarcación en el terreno de juego y su respuesta en función de su género.

5.5.2. Determinación de la dosis y temporización en la suplementación con HMB

A lo largo de toda la literatura científica citada en la presente Tesis Doctoral, se ha sugerido una cantidad óptima de 3 g/día de HMB para obtener una serie de beneficios descritos anteriormente. Sin embargo, se sugiere que esta dosis pueda cambiar en función del grado de daño muscular producido o el estrés catabólico al que se enfrenta el organismo; por ejemplo, sería interesante saber si es necesario tomar la misma cantidad de HMB de forma aguda cuando no se tiene entrenamiento.

Por otro lado, para comprobar esto, las nuevas investigaciones podrían dirigirse hacia comprobar esta cuestión de formas, tales como a) combinar 2 estímulos catabólicos muy próximos (por ejemplo, jugar 2 partidos en menos de 72 horas) y b) incluir varios grados de daño muscular (por ejemplo, 5 series de ½ sentadilla vs. 10 series; partidos en normoxia vs. hipoxia). Asimismo, debido a que los resultados encontrados en los estudios anteriores en relación a que los deportistas entrenados tienen una mayor resistencia al daño muscular por las adaptaciones generadas, se hace necesario en las investigaciones futuras una monitorización cercana para diseñar programaciones y planificaciones del entrenamiento que ayuden a mejorar el entorno anabólico del organismo y combatir así los procesos catabólicos generados para acelerar la recuperación en la medida que sea posible.

En relación a la temporización en la suplementación con HMB sería interesante saber cuándo se debe tomar para optimizar la recuperación, analizando por ejemplo los marcadores indirectos del daño muscular. Los estudios realizados con amino ácidos para la mejora de los procesos anabólicos demuestran que es más efectivo tomarlos inmediatamente después del ejercicio realizado ya que su respuesta está asociada al flujo sanguíneo y a la disposición de nutriente en el músculo^{218,257}. Sería interesante saber si estos resultados se pueden extender a la suplementación con el HMB, o bien se tienen en cuenta solamente los realizados con el HMB, donde se busca tomarlo antes del ejercicio alrededor de 1 hora o 30 minutos en función de su pico en plasma, y dependiendo de si se toma en la forma Ca-HMB o HMB-FA,

respectivamente. Además, se debe hacer referencia a cuánto tiempo antes se debe tomar, ya que los diversos estudios citados en la presente Tesis Doctoral han establecido un mínimo de 2 semanas, pero atendiendo a las variabilidades individuales de cada persona y el tipo de actividad que realiza puede ser que este período de carga para saturar el músculo sea variable.

Por todo ello, y para una mejor comprensión de cómo utilizar la suplementación con HMB en el fútbol, sería necesario aclarar esta cuestión de una forma más sólida.

5.5.3. Control del entrenamiento, medidas de percepción subjetiva y función muscular

Puesto que la fatiga es un fenómeno complejo y multifactorial que tiene una gran variedad de posibles mecanismos, se hace fundamental el control del estado fisiológico y nivel de entrenamiento de cada deportista así como las condiciones que le rodean²⁵⁸. Debido al período en el que se elaboró y se realizó la investigación de la presente Tesis Doctoral, después de utilizar la escala de TQR para analizar de una forma práctica la predisposición y el potencial rendimiento del deportista para comenzar un entrenamiento de una determinada duración o intensidad, sería interesante utilizar la escala del estado de recuperación percibida (*Perceived Recovery Status*, PRS)¹⁹⁹ durante un período de suplementación con HMB no inferior a 2 semanas y acompañado de un ciclo de entrenamientos y partidos en un momento concreto de la temporada, puesto que es mucho más simple. Este momento puede coincidir con la pretemporada o un período competitivo muy denso donde hay un gran número de estímulos catabólicos. Además, aplicada durante la semana de entrenamiento, y a lo largo de una temporada, podría proporcionar una información muy valiosa para evitar el síndrome de bajo rendimiento inexplicado (*unexplained underperformance syndrome*, UUPS) con el objetivo de prevenir lesiones o crear un contexto de readaptación más apropiado para aquellos futbolistas que regresan a una dinámica de grupo después de sufrir

una lesión que les mantuvo apartados durante un período de tiempo más o menos prolongado.

Un mayor control del rendimiento y el estado de salud del deportista puede ser el siguiente paso para valorar la respuesta del organismo del deportista a la suplementación con HMB con el objetivo de optimizar el proceso de recuperación. Para controlar este proceso de forma rigurosa, y determinar el efecto del HMB en futbolistas entrenados, se puede utilizar de forma individualizada el uso de los llamados TRIMPS.

5.5.4. Ampliación del tiempo de registro en el diseño experimental de determinadas variables relacionadas con la respuesta hormonal e inflamatoria

Debido a la falta de sensibilidad de ciertos marcadores sanguíneos utilizados en la presente Tesis Doctoral para valorar la inflamación, se necesitan nuevas investigaciones que examinen la respuesta de diversas citocinas pro-inflamatorias, tales como la TNF- α , después de un período de suplementación con HMB junto con su comportamiento en los diferentes momentos después de completar el LIST_m.

Asimismo, estos futuros estudios podrían complementarse con el análisis ampliado del factor tiempo transcurrido después del LIST_m en la respuesta de los diferentes marcadores de inflamación y en la respuesta hormonal descritas en la presente Tesis Doctoral con el objeto de poder comprender cuál puede ser la dinámica de adaptación del organismo a esos procesos inflamatorios y/o hormonales para seleccionar de la forma más eficaz posible las estrategias de recuperación adecuadas para acelerar este proceso.

6

CONCLUSIONES

“No entiendes realmente algo a menos que seas capaz de explicárselo a tu abuela”
Albert Einstein



CONCLUSIONES

- i. La administración a un grupo de futbolistas jóvenes y sanos de 3 g/día de HMB durante 8 días, comparado con placebo,
 - a. No ha demostrado tener efectos adversos sobre la salud ni ocasiona efectos secundarios.
 - b. No afecta la función muscular, composición corporal, perfil endocrino-metabólico, biomarcadores de inflamación y miolisis en condiciones de reposo.

- ii. En futbolistas, un ejercicio de alta intensidad y carácter intermitente (*Loughborough Intermittent Shuttle Test modificado*) afecta la función muscular, ocasiona dolor, miolisis y cambios en marcadores de inflamación y perfil endocrino-metabólico tanto al finalizar el ejercicio como a las 24h del mismo.

La suplementación con 3 g/día de HMB en los 8 días previos al ejercicio, comparada con placebo,

 - a. No modifica significativamente los marcadores de inflamación, miolisis o perfil endocrino-metabólico, ni al finalizar el ejercicio ni a las 24h del mismo,
 - b. Sin embargo, sí consigue mejorar la función muscular (mayor salto vertical), y atenuar el dolor muscular percibido (en cuádriceps) a las 24h de hacer ejercicio.

INTERPRETACIÓN DE LAS CONCLUSIONES

Los hallazgos obtenidos en la presente Tesis Doctoral, puestos en contexto con la literatura existente, llevan a la siguiente interpretación de las conclusiones.

- i. Después de un período de suplementación de 8 días con 3 g/día de HMB interpretamos que este metabolito puede actuar como molécula de señalización frenando la respuesta catabólica al ejercicio y predisponiendo el inicio de la fase anabólica o regeneradora.
- ii. El objeto de la suplementación con 3 g/día de HMB es que el futbolista acumule el menor daño posible en el organismo, permitiéndole una mejor adaptación a las cargas de trabajo y completando una eficaz recuperación.
- iii. La ingesta de 3 g/día con HMB puede ser una estrategia de suplementación efectiva, en futbolistas y otros deportistas sometidos a ejercicios lesivos, para disminuir el riesgo de sufrir lesión debido al mantenimiento de la función muscular en estados de fatiga durante períodos de alta densidad competitiva o entrenamientos de una temporada muy demandante, así como otras situaciones que puedan generar un entorno altamente catabólico.

7

APLICACIONES PRÁCTICAS

*“Las ideas no duran mucho. Hay
que hacer algo con ellas.”*
Santiago Ramón y Cajal



APLICACIONES PRÁCTICAS

7.1. Importancia de la suplementación nutricional en el de alto rendimiento

El fútbol ha recorrido un camino muy largo, que aún prosigue puesto que siempre habrá mucho trabajo que hacer para elevar el nivel de juego. Según describió el último informe la Fédération Internationale de Football Association (FIFA)²⁵⁹ hay 265 millones de jugadores, entre hombres y mujeres en todo el mundo, convirtiendo el fútbol en uno de los deportes más populares además de ser un potente motor económico. La comercialización del deporte es uno de los factores más importantes que ha influido en el cambio de la estructura de las competiciones, llegando a jugar en ocasiones hasta 3 partidos en 7 días. Este condicionante necesita de la evolución paralela del jugador del fútbol, que ha pasado a convertirse en un jugador de alto rendimiento deportivo. Sin duda, este concepto engloba el cuidado tanto del proceso del entrenamiento como el de la recuperación. El efecto de una recuperación corta entre varios partidos afecta a un descenso potencial del rendimiento y un aumento del riesgo de sufrir lesión, y esto es algo que debe concienciar no solo a los médicos sino también a preparadores físicos y entrenadores. Acelerar la recuperación se ha convertido en un aspecto fundamental en el fútbol actual debido a la alta densidad competitiva, y la suplementación deportiva junto con unos adecuados hábitos nutricionales pueden ser una estrategia efectiva y eficiente para contribuir a optimizar este período, combinadas con otras estrategias que aparecen en la guía que se adjunta en la presente Tesis Doctoral.

La nutrición y suplementación en deportes colectivos requiere de un conocimiento específico del juego, su fisiología en relación al entrenamiento y competición así como el aspecto social intrínseco que en muchas ocasiones condiciona las diferentes recomendaciones realizadas. De esta forma, para atender a las necesidades individuales de cada jugador, en relación a este tema, se debe abordar, siempre y cuando sea posible, bajo el enfoque multidisciplinar de un potente grupo de trabajo formado por profesionales de la

medicina y ciencias del deporte. Según la FIFA²⁶⁰ la importancia y el uso de la suplementación está bien extendido en el fútbol. Dentro de los objetivos principales en la utilización de esta estrategia, está presente la creación de las mejores adaptaciones posibles al entrenamiento, el aumento en el aporte de energía, la optimización del proceso de recuperación para entrenar de forma más intensa en cada sesión, el mantenimiento de un buen estado de salud retrasando la aparición de fatiga aguda y acumulada a lo largo de una temporada y, la mejora del rendimiento deportivo. Asimismo, dicha organización les advierte de la importancia de prestar mucha atención sobre el control en el uso de suplementos para que no contengan sustancias dopantes además de la creación de una conciencia ética y responsable en su utilización y consumo.

Una vez visto la importancia que puede tener la suplementación deportiva, bajo un consumo responsable, la presente Tesis Doctoral expone las posibles aplicaciones prácticas de la utilización del HMB como estrategia de suplementación para optimizar el rendimiento deportivo:

- i. La producción endógena de HMB es pequeña, entre 0.2-0.4 g/día HMB para una persona de 70 kg. Esta producción depende del contenido de leucina presente en la dieta. Para promover la inhibición de la proteólisis y favorecer los procesos anabólicos del organismo de un deportista, se hace por tanto necesaria la suplementación con HMB, que puede ser utilizada como una estrategia para optimizar los procesos de recuperación en deportistas sometidos a cargas de alto volumen e intensidad con un alto estrés metabólico y energético en la musculatura, mejorando así su predisposición funcional al próximo entrenamiento o competición.

- ii. Debido al posible carácter protector y reparador de la suplementación con HMB sobre la membrana de la célula muscular en actividades que generen daño muscular, se recomienda la ingesta de HMB para el comienzo de la pretemporada o cualquier otro período sensible al cambio de cargas o ejercicios de entrenamiento, para favorecer las adaptaciones del organismo a este estímulo.

- iii. Debido al posible carácter promotor del HMB sobre los procesos anabólicos, se recomienda tomar este metabolito bioactivo de la leucina para afrontar períodos largos inactividad, sobre todo si ocurre por lesión, períodos en los que la masa muscular sufra una degradación severa por su desuso y este suponga un gran estímulo catabólico en el organismo del deportista.

7.2. Resumen del manuscrito “Guía para la optimización del proceso de recuperación en el fútbol”

Actualmente, el doctorando está elaborando una “*Guía para la optimización del proceso de recuperación en el fútbol*” que aborda el tratamiento del proceso de recuperación. A continuación se presenta un resumen de los contenidos a tratar en esta guía, a modo de contribución a las aplicaciones prácticas de esta Tesis Doctoral.

El objetivo principal de esta guía es orientar a los entrenadores/as y jugadores/as de fútbol a través de una serie de recomendaciones prácticas basadas en la evidencia científica y experiencia personal sobre cómo optimizar el proceso de recuperación estableciendo los hábitos más apropiados durante cada semana de entrenamiento y durante el calendario de partidos.

De forma resumida, las diferentes secciones desarrolladas en esta guía son las siguientes: (1) Introducción, que relaciona la alta densidad de partidos de hoy en día con la fatiga, el riesgo de sufrir lesión y el proceso de recuperación; (2) Estrategias de recuperación, donde se enumeran las distintas fórmulas para optimizar este proceso, tales como los aspectos nutricionales, inmersión en agua fría, el sueño, la ropa de compresión, la recuperación activa, el masaje y la estimulación eléctrica; (3) Herramientas para el control de la recuperación, con el objeto de cuantificar la calidad de este proceso a lo largo de una temporada; (4) Cronobiología aplicada al entrenamiento en fútbol, que pretende exponer las diferentes conclusiones sobre los posibles horarios de entrenamiento; y, (5) Recomendaciones prácticas para el partido, donde se han diseñado diferentes protocolos de actuación para la utilización de cada una de las diferentes estrategias de recuperación.

REFERENCIAS

1. Harper, A., Miller, R. & Block, K. Branched-chain amino acid metabolism. *Annu Rev Nutr* 1984; **4**: 409–454.
2. Garlick, P. J. The role of leucine in the regulation of protein metabolism. *J Nutr* 2005; **135**: 1553S–1556S.
3. Norton, L. E. & Layman, D. K. Leucine regulates translation initiation of protein synthesis in skeletal muscle after exercise. *J Nutr* 2006; **136**: 533S–537S.
4. Wilson, G. & Wilson, G. J. Contemporary issues in protein requirements and consumption for resistance trained athletes. *J Int Soc Sports Nutr* 2006; **3**: 7–27.
5. Layman, D. K. The role of leucine in weight loss diets and glucose homeostasis. *J Nutr* 2003; **133**: 261S–267S.
6. Patti, M. E., Brambilla, E., Luzi, L., Landaker, E. J. & Kahn, C. R. Bidirectional modulation of insulin action by amino acids. *J Clin Invest* 1998; **101**: 1519.
7. Anthony, J. C., Anthony, T. G. & Layman, D. K. Leucine supplementation enhances skeletal muscle recovery in rats following exercise. *J Nutr* 1999; **129**: 1102–1106.
8. Mero, A. Leucine supplementation and intensive training. *Sports Med* 1999; **27**: 347–358.
9. Nissen, S. *et al.* Effect of leucine metabolite β -hydroxy- β -methylbutyrate on muscle metabolism during resistance-exercise training. *J Appl Physiol* 1996; **81**: 2095–2104.

10. Van Koevering, M. & Nissen, S. Oxidation of leucine and alpha-ketoisocaproate to beta-hydroxy-beta-methylbutyrate in vivo. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 1992; **262**: E27–E31.
11. Palisin, T. & Stacy, J. J. β -Hydroxy- β -methylbutyrate and its use in athletics. *Curr Sports Med Rep* 2005; **4**: 220–223.
12. Momaya, A., Fawal, M. & Estes, R. Performance enhancing substances in sports: A Review of the Literature. *Sports Med* 2015; **45**: 517–531.
13. Zanchi, N. *et al.* HMB supplementation: clinical and athletic performance related effects and mechanisms of action. *Amino Acids* 2011; **40**: 1015–1025.
14. Wilson, G., 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 Lond* 2008; **5**: 1.
15. Wilson, G. *et al.* International Society of Sports Nutrition Position Stand: beta-hydroxy-betamethylbutyrate (HMB). *J Int Soc Sports Nutr* 2013; **10**: 1–14.
16. Knitter, A., Panton, L., Rathmacher, J., Petersen, A. & Sharp, R. Effects of β -hydroxy- β -methylbutyrate on muscle damage after a prolonged run. *J Appl Physiol* 2000; **89**: 1340–1344.
17. Wilson, G. *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.
18. Portal, S. *et al.* 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.

19. Rowlands, D. S. & Thomson, J. S. Effects of β -hydroxy- β -methylbutyrate supplementation during resistance training on strength, body composition, and muscle damage in trained and untrained young men: a meta-analysis. *J Strength Cond Res* 2009; **23**: 836–846.
20. Thomson, J., Watson, P. E. & Rowlands, D. S. Effects of Nine Weeks of β -Hydroxy- β -Methylbutyrate supplementation on strength and body composition in resistance trained men. *J Strength Cond Res* 2009; **23**: 827–835.
21. Anthony, J. C. *et al.* Leucine stimulates translation initiation in skeletal muscle of postabsorptive rats via a rapamycin-sensitive pathway. *J Nutr* 2000; **130**: 2413–2419.
22. Kraemer, W. J. *et al.* Effects of amino acids supplement on physiological adaptations to resistance training. *Med Sci Sports Exerc* 2009; **41**: 1111–21.
23. Lowery, R. P. *et al.* Interaction of Beta-Hydroxy-Beta-Methylbutyrate free acid (HMB-FA) and Adenosine Triphosphate (ATP) on muscle mass, strength, and power in resistance trained individuals. *J Strength Cond Res* 2014; **4** [Epub ahead of print]
24. Robinson IV, Edward H *et al.* High-intensity interval training and β -hydroxy- β -methylbutyric free acid improves aerobic power and metabolic thresholds. *J Int Soc Sports Nutr* 2014; **11**:16
25. Vukovich, M. & Dreifort, G. D. Effect of β -Hydroxy β -Methylbutyrate on the Onset of Blood Lactate Accumulation and VO_{2peak} in endurance-trained cyclists. *J Strength Cond Res* 2001; **15**: 491–497.
26. Faramarzi, M., Nuri, R. & Banitalebi, E. The effects of short-term combination of β -Hydroxy- β -Methylbutyrate (HMB) and creatine supplementation on anaerobic performance and muscle injury markers in soccer players. *Braz J Biomotricity* 2009; **3**: 366–375.
27. Marcora, S., Lemmey, A. & Maddison, P. Dietary treatment of rheumatoid cachexia with β -hydroxy- β -methylbutyrate, glutamine and arginine: A

randomised controlled trial. *Clin Nutr* ; 2005; **24**: 442–454.

28. Mirza, K. A., Pereira, S. L., Voss, A. C. & Tisdale, M. J. Comparison of the anticatabolic effects of leucine and Ca- β -Hydroxy- β -Methylbutyrate (HMB) in experimental models of cancer cachexia. *Nutrition* 2013; **30**(7): 807-813.

29. Baptista, I. L. *et al.* Leucine and HMB differentially modulate proteasome system in skeletal muscle under different sarcopenic conditions. *PLoS One* 2013; **8**: e76752.

30. Fuller, J. C. *et al.* Vitamin D status affects strength gains in older adults supplemented with a combination of β -Hydroxy- β -Methylbutyrate, arginine, and lysine. A cohort study. *J Parenter Enter Nutr* 2011; **35**: 757–762.

31. Paddon-Jones, D., Keech, A. & Jenkins, D. Short-term β -hydroxy- β -methylbutyrate supplementation does not reduce symptoms of eccentric muscle damage. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2001; **11**: 442–450.

32. Slater, G. *et al.* Beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation does not affect changes in strength or body composition during resistance training in trained men. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2001; **11**: 384–396.

33. Kreider, R. B. *et al.* Effects of calcium β -HMB supplementation during training on markers of catabolism, body composition, strength and sprint performance. *J Exerc Physiol online* 2000; **3**(4): 48-59.

34. Manjarrez-Montes-de-Oca, R., Torres-Vaca, M., González-Gallego, J. & Alvear-Ordenes, I. El β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) como suplemento nutricional (I): Metabolismo y toxicidad. *Nutr Hosp* 2015; **31**(2): 590-596.

35. Sabourin, P. J. & Bieber, L. L. The mechanism of alpha-ketoisocaproate oxygenase. Formation of beta-hydroxyisovalerate from alpha-ketoisocaproate. *J Biol Chem* 1982; **257**: 7468–7471.

36. Nissen, S. L. & Abumrad, N. N. Nutritional role of the leucine metabolite β -hydroxy β -methylbutyrate (HMB). *J Nutr Biochem* 1997; **8**: 300–311.

37. Da Justa Pinheiro, C. H. *et al.* Metabolic and functional effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation in skeletal muscle. *Eur J Appl Physiol* 2012; **112**: 2531–2537.
38. Pinheiro, C. H. J., Guimaraes-Ferreira, L., Gerlinger-Romero, F. & Curi, R. in *Nutrition and enhanced sports performance* 2014; **8**: 455.
39. Portal, S., Eliakim, A., Nemet, D., Halevy, O. & Zadik, Z. Effect of HMB supplementation on body composition, fitness, hormonal profile and muscle damage indices. *J Pediatr Endocrinol Metab* 2010; **23**: 641–650.
40. Manjarrez-Montes-de-Oca, R., Torres-Vaca, M., González-Gallego, J. & Alvear-Ordenes, I. El β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) como suplemento nutricional (II): mecanismos de acción moleculares y celulares. *Nutr Hosp* 2015; **31(2)**: 597-605.
41. Giron, M. D. *et al.* β -Hydroxy- β -Methylbutyrate (HMB) Normalizes Dexamethasone-Induced Autophagy-Lysosomal Pathway in Skeletal Muscle. *PloS One* 2015; **10**: e0117520.
42. Stancliffe, Eades, M., Smart, K. & Zemel, M. B. Role of mTOR and β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) in leucine stimulation of muscle mitochondrial biogenesis and fatty acid oxidation. *FASEB J* 2011; **25**: 601–1.
43. Ortiz, A. β -Hydroxy- β -Methylbutyrate Supplementation in Special Populations. *Strength Cond. J* 2013; **35**: 73–77.
44. Smith, A., 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.
45. Hasselgren, P.-O. β -Hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) and prevention of muscle wasting. *Metabolism* 2014; **63**: 5.
46. Kornasio, R. *et al.* β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) stimulates myogenic cell proliferation, differentiation and survival via the MAPK/ERK and PI3K/Akt

pathways. *Biochem Biophys Acta BBA Mol Cell Res* 2009; **179(3)**: 755–763.

47. Gerlinger-Romero, F., Guimarães-Ferreira, L., Giannocco, G. & Nunes, M. T. Chronic supplementation of β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) increases the activity of the GH/IGF-I axis and induces hyperinsulinemia in rats. *Growth Horm IGF Res* 2011; **21**: 57–62.

48. Hardie, D. G. Minireview: the AMP-activated protein kinase cascade: the key sensor of cellular energy status. *Endocrinology* 2003; **144**: 5179–5183.

49. Bruckbauer, A. *et al.* Synergistic effects of leucine and resveratrol on insulin sensitivity and fat metabolism in adipocytes and mice. *Nutr Metab* 2012; **9**: 77.

50. Verdin, E., Hirschey, M. D., Finley, L. W. & Haigis, M. C. Sirtuin regulation of mitochondria: energy production, apoptosis, and signaling. *Trends Biochem Sci* 2010; **35**: 669–675.

51. Baxter, J. H., Voss, A. C., Mukerji, P. & Tisdale, M. J. Method of using β -hydroxy- β -methylbutyrate for reducing tumor growth rate. *Patent US 8785496 B2*. Abbott Laboratories, 2013.

52. Fitschen, P. J., Wilson, G. J., Wilson, J. M. & Wilund, K. R. Efficacy of β -hydroxy- β -methylbutyrate supplementation in elderly and clinical populations. *Nutrition* 2013; **29**: 29–36.

53. Wilson, G. *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.

54. Hawley, J. A., Hargreaves, M., Joyner, M. J. & Zierath, J. R. Integrative Biology of Exercise. *Cell* 2014; **159**: 738–749.

55. Gallagher, P.M. Carrithers, J.A., Godard, M.P., Schulze, K.E. & Trappe, S.W. β -hydroxy- β -methylbutyrate ingestion, Part I: effects on strength and fat free mass. *Med Sci Sports Exerc* 2000; **32**: 2109-2115.

56. Flakoll, P. *et al.* Effect of β -hydroxy- β -methylbutyrate, arginine, and lysine supplementation on strength, functionality, body composition, and protein metabolism in elderly women. *Nutrition* 2004; **20**: 445–451.
57. Silver, M. D. Use of ergogenic aids by athletes. *J Am Acad Orthop Surg* 2001; **9**: 61–70.
58. Bucci, L. R. *Nutrients as ergogenic aids for sports and exercise*. **2**, (Crc Press, 1993).
59. Nissen, S. *et al.* β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) supplementation in humans is safe and may decrease cardiovascular risk factors. *J Nutr* 2000; **130**: 1937–1945.
60. O'Connor, D. M. & Crowe, M. J. Effects of six weeks of β -Hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) and HMB/Creatine supplementation on strength, power, and anthropometry of highly trained athletes. *J Strength Cond Res* 2007; **21**: 419–423.
61. Dunsmore, K. *et al.* Effects of 12 weeks of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate free acid Gel supplementation on muscle mass, strength, and power in resistance trained individuals. *J Int Soc Sports Nutr* 2012; **9**: 5.
62. Bartolomei, S., Stout, J. R., Fukuda, D. H., Hoffman, J. R. & Merni, F. Block versus weekly undulating periodized resistance training programs in women. *J Strength Cond Res* 2015. [Epub ahead of print]
63. Ullrich, B. *et al.* Neuromuscular Responses to 14 Weeks of Traditional and Daily Undulating Resistance Training. *Int. J. Sports Med.* (2015).
64. Fuller, J. C., Sharp, R. L., Angus, H. F., Baier, S. M. & Rathmacher, J. A. Free acid gel form of β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) improves HMB clearance from plasma in human subjects compared with the calcium HMB salt. *Br J Nutr* 2011; **105**: 367–372.
65. Townsend, J. R. *et al.* Effects of β -Hydroxy- β -methylbutyrate Free Acid

Ingestion and Resistance Exercise on the Acute Endocrine Response. *Int J Endocrinol* 2015. [Epub ahead of print]

66. Kenney, W. L., Wilmore, J. & Costill, D. *Physiology of Sport and Exercise*, 5E. (Human kinetics, 1999).

67. Lamboley, C. R., 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.

68. Robbins, D. W. & Docherty, D. Effect of loading on enhancement of power performance over three consecutive trials. *J Strength Cond Res* 2005; **19**: 898–902.

69. Wilson, G. *et al.* Beta-hydroxy-beta-methyl-butyrate blunts negative age-related changes in body composition, functionality and myofiber dimensions in rats. *J Int Soc Sports Nutr* 2012; **9**: 18.

70. Phillips, S. M. A Brief Review of Critical Processes in Exercise-Induced Muscular Hypertrophy. *Sports Med* 2014; **44**: 71–77.

71. Drummond, M. J. *et al.* Rapamycin administration in humans blocks the contraction-induced increase in skeletal muscle protein synthesis. *J Physiol* 2009; **587**: 1535–1546.

72. Gonzalez, A. M. *et al.* Effects of β -hydroxy- β -methylbutyrate free acid and cold water immersion on post-exercise markers of muscle damage. *Amino Acids* 2014; **46**: 1501–1511.

73. Kraemer, W. J. *et al.* Influence of HMB supplementation and resistance training on cytokine responses to resistance exercise. *J Am Coll Nutr* 2014; **33**: 247–255.

74. Kenttä, G. & Hassmen, P. Underrecovery and overtraining: A conceptual model. *Enhancing Recovery Prev. Underperformance Athletes* 57–79 (2002).

75. Kraemer, W. J. *et al.* The addition of β -hydroxy- β -methylbutyrate and

isomaltulose to whey protein improves recovery from highly demanding resistance exercise. *J Am Coll Nutr* 2015; **0**: 1–9.

76. Gallagher, P. M., Carrithers, J. A., Godard, M. P., Schulze, K. E. & Trappe, S. W. β -Hydroxy- β -Methylbutyrate supplementation during resistance training. *Med Sci Sports Exerc* 1999; **31**: 402-408.

77. O'Connor, D. & Crowe, M. Effects of β -hydroxy- β -methylbutyrate and creatine monohydrate supplementation on the aerobic and anaerobic capacity of highly trained athletes. *J Sports Med Phys Fitness* 2003; **43**: 64–68.

78. Zagatto, A. M., Beck, W. R. & Gobatto, C. A. Validity of the running anaerobic sprint test for assessing anaerobic power and predicting short-distance performances. *J Strength Cond Res* 2009; **23**: 1820–1827.

79. Stancliffe, R. Role of Beta-Hydroxy-Beta-Methylbutyrate (HMB) in leucine stimulation of mitochondrial biogenesis and fatty acid oxidation. *Master Thesis* (2012).

80. Byrne, C., Twist, C. & Eston, R. Neuromuscular function after exercise-induced muscle damage. *Sports Med* 2004; **34**: 49–69 (2004).

81. Twist, C. & Eston, R. The effects of exercise-induced muscle damage on maximal intensity intermittent exercise performance. *Eur J Appl Physiol* 2005; **94**: 652–658.

82. Thompson, J., Nicholas, C. & Williams, C. Muscular soreness following prolonged intermittent high-intensity shuttle running. *J Sports Sci* 1999; **17**: 387–395.

83. Vukovich, M. & Adams, G. D. Effect of β -Hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) ON VO_{2Peak} and maximal lactate in endurance trained cyclists. *Med Sci Sports Exerc* 1997; **29**: 252-254.

84. Appell, H. J., Soares, J. & Duarte, J. Exercise, muscle damage and fatigue. *Sports Med* 1992; **13**: 108–115.

85. Armstrong, R., Ogilvie, R. & Schwane, J. Eccentric exercise-induced injury to rat skeletal muscle. *J Appl Physiol* 1983; **54**: 80–93.
86. Nissen, S. *et al.* Effect of feeding beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) on body composition and strength of women. in **11**, 875–875 (FEDERATION AMER SOC EXP BIOL 9650 ROCKVILLE PIKE, BETHESDA, MD 20814-3998 USA, 1997).
87. Janssen, G. *et al.* Plasma activity of muscle enzymes: quantification of skeletal muscle damage and relationship with metabolic variables. *Int J Sports Med* 1989; **10**: S160–8.
88. Eley, H. L., Russell, S. T., Baxter, J. H., Mukerji, P. & Tisdale, M. J. Signaling pathways initiated by β -hydroxy- β -methylbutyrate to attenuate the depression of protein synthesis in skeletal muscle in response to cachectic stimuli. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2007; **293**: E923–E931.
89. Wilkinson, D. *et al.* Effects of leucine and its metabolite β -hydroxy- β -methylbutyrate on human skeletal muscle protein metabolism. *J Physiol* 2013; **591**: 2911–2923.
90. Møller, N., Gjedsted, J., Gormsen, L., Fuglsang, J. & Djurhuus, C. Effects of growth hormone on lipid metabolism in humans. *Growth Horm IGF Res* 2003; **13**: S18–S21.
91. Peake, J. M. *et al.* Plasma cytokine changes in relation to exercise intensity and muscle damage. *Eur J Appl Physiol* 2005; **95**: 514–521.
92. Moldoveanu, A. I., Shephard, R. J. & Shek, P. N. The cytokine response to physical activity and training. *Sports Med* 2001; **31**: 115–144.
93. Hsieh, L., Chien, S., Huang, M., Tseng, H. & Chang, C. Anti-inflammatory and anticatabolic effects of short-term beta-hydroxy-beta-methylbutyrate supplementation on chronic obstructive pulmonary disease patients in intensive care unit. *Asia Pac J Clin Nutr* 2006; **15**: 544-50.
94. Ostrowski, K., Rohde, T., Asp, S., Schjerling, P. & Pedersen, B. K. Pro-

and anti-inflammatory cytokine balance in strenuous exercise in humans. *J Physiol* 1999; **515**: 287–291.

95. Spiropoulos, A. *et al.* Effect of inflammation induced by prolonged exercise on circulating erythroid progenitors and markers of erythropoiesis. *Clin Chem Lab Med* 2010; **48**: 199–203.

96. Skarpańska-Stejnborn, A., Basta, P., Trzeciak, J. & Szcześniak-Pilaczyńska, Ł. Effect of intense physical exercise on hepcidin levels and selected parameters of iron metabolism in rowing athletes. *Eur J Appl Physiol* 2015; **115**: 345–351.

97. Reinke, S. *et al.* Absolute and functional iron deficiency in professional athletes during training and recovery. *Int J Cardiol* 2012; **156**: 186–191.

98. Nemeth, E. *et al.* IL-6 mediates hypoferrremia of inflammation by inducing the synthesis of the iron regulatory hormone hepcidin. *J Clin Invest* 2004; **113**: 1271-1276.

99. Rietjens, G. *et al.* Physiological, biochemical and psychological markers of strenuous training-induced fatigue. *Int J Sports Med* 2005; **26**: 16-26.

100. Skikne, B. S. Serum transferrin receptor. *Am J Hematol* 2008; **83**: 872–875.

101. Schumacher, Y., Schmid, A., König, D. & Berg, A. Effects of exercise on soluble transferrin receptor and other variables of the iron status. *Br J Sports Med* 2002; **36**: 195–199.

102. Kreider, R. B. & Campbell, B. Protein for exercise and recovery. *Phys Sportsmed* 2009; **37**: 13–21.

103. Catlin, D., Fitch, K. & Ljungqvist, A. Medicine and science in the fight against doping in sport. *J Intern Med* 2008; **264**: 99–114.

104. Dvorak, J., Junge, A. & Grimm, K. F-MARC football medicine manual. (2009).

105. Rathmacher, J. *et al.* Supplementation with a combination of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB), arginine, and glutamine is safe and could improve hematological parameters. *J Parenter Enter Nutr* 2004; **28**: 65–75.
106. Pérez-Llamas, F. *et al.* Una aplicación informática multivalente para estudios del estado nutricional de grupos de población: Valoración de la ingesta alimentaria. *Nutr Hosp* 2004; **19**: 160–166.
107. Russell, J. A. A circumplex model of affect. *J Pers Soc Psychol* 1980; **39**: 1161.
108. Harris, D. V. & Harris, B. L. *The athlete's guide to sports psychology: Mental skills for physical people*. **1**, (Human Kinetics, 1984).
109. Nicholas, C. W., Nuttall, F. E. & Williams, C. The Loughborough Intermittent Shuttle Test: a field test that simulates the activity pattern of soccer. *J Sports Sci* 2000; **18**: 97–104.
110. Reilly, T. & Thomas, V. A motion analysis of work-rate in different positional roles in professional football match-play. *J Hum Mov Stud* 1976; **2**: 87–97.
111. Stølen, T., Chamari, K., Castagna, C. & Wisløff, U. Physiology of soccer. *Sports Med* 2005; **35**: 501–536.
112. McGregor, S., Nicholas, C., Lakomy, H. & Williams, C. The influence of intermittent high-intensity shuttle running and fluid ingestion on the performance of a soccer skill. *J Sports Sci* 1999; **17**: 895–903.
113. Afman, G. *et al.* Effect of carbohydrate or sodium bicarbonate ingestion on performance during a validated basketball simulation test. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2014 [Epub]
114. Glaister, M. Multiple sprint work. *Sports Med* 2005; **35**: 757–777.
115. Dorling, J. L. & Earnest, C. P. Effect of carbohydrate mouth rinsing on multiple sprint performance. *J Int Soc Sports Nutr* 2013; **10**: 41.

116. Hamilton, A., Nevill, M., Brooks, S. & Williams, C. Physiological responses to maximal intermittent exercise: Differences between endurance-trained runners and games players. *J Sports Sci* 1991; **9**: 371–382.
117. Fitzsimons, M., Dawson, B., Ward, D. & Wilkinson, A. Cycling and running tests of repeated sprint ability. *Aust J Sci Med Sport* 1993; **25**: 82–82.
118. Baker, J., Ramsbottom, R. & Hazeldine, R. Maximal shuttle running over 40 m as a measure of anaerobic performance. *Br J Sports Med* 1993; **27**: 228–232.
119. Psotta, R., Blahus, P., Cochrane, D. & Martin, A. The assessment of an intermittent high intensity running test. *J Sports Med Phys Fitness* 2005; **45**: 248–256.
120. Brooks, S. *et al.* The hormonal responses to repetitive brief maximal exercise in humans. *Eur J Appl Physiol* 1990; **60**: 144–148.
121. Ransone, J., Neighbors, K., Lefavi, R. & Chromiak, J. The effect of β -hydroxy- β -methylbutyrate on muscular strength and body composition in collegiate football players. *J Strength Cond Res* 2003; **17**: 34–39.
122. Balagué, N., Torrents, C. & Seirul-lo, F. Entrenamiento integrado. Principios dinámicos y aplicaciones. *Apunts Educ Física Deport* 2014; **116**: 60–68.
123. Bosco, C. *La valutazione della forza con il test di Bosco*. (Società Stampa Sportiva, 1992).
124. Ardizzone, I. La escala visual analógica. *Clínica Odontológica Integrada de Adultos* 2012; **1**: 1-46.
125. Huskisson, E. Measurement of pain. *The Lancet* 1974; **304**: 1127–1131.
126. Ferreira-Valente, M. A., Pais-Ribeiro, J. L. & Jensen, M. P. Validity of four pain intensity rating scales. *Pain* 2011; **152**: 2399–2404.

127. Downie, W. *et al.* Studies with pain rating scales. *Ann Rheum Dis* 1978; **37**: 378–381.
128. Kendall, B. & Eston, R. Exercise-induced muscle damage and the potential protective role of estrogen. *Sports Med* 2002; **32**: 103–123.
129. Marginson, V. & Eston, R. Symptoms of exercise-induced muscle damage in boys and men following two bouts of eighty plyometric jumps. in **539**, 75P–75P (CAMBRIDGE UNIV PRESS 40 WEST 20TH ST, NEW YORK, NY 10011-4221 USA, 2002).
130. Borg, G. Simple rating methods for estimation of perceived exertion. *Phys Work Effort* 1976; **0**: 39–46.
131. Gomez-Piriz, P. T., Jiménez-Reyes, P. & Ruiz-Ruiz, C. Relation between total body load and session rating of perceived exertion in professional soccer players. *J Strength Cond Res* 2011; **25**: 2100–2103.
132. Foster, C. *et al.* A new approach to monitoring exercise training. *J Strength Cond Res* 2001; **15**: 109–115.
133. Impellizzeri, F. M., Rampinini, E., Coutts, A. J., Sassi, A. & Marcora, S. M. Use of RPE-based training load in soccer. *Med Sci Sports Exerc* 2004; **36**(6): 1042–7.
134. Reilly, T. Energetics of high-intensity exercise (soccer) with particular reference to fatigue. *J Sports Sci* 1997; **15**: 257–263.
135. Kenttä, G. & Hassmén, P. Overtraining and recovery. *Sports Med* 1998; **26**: 1–16.
136. Suzuki, S., Sato, T., Maeda, A. & Takahashi, Y. Program design based on a mathematical model using rating of perceived exertion for an elite Japanese sprinter: A case Study. *J Strength Cond Res* 2006; **20**: 36–42.
137. Brink, M. S., Nederhof, E., Visscher, C., Schmikli, S. L. & Lemmink, K. A. Monitoring load, recovery, and performance in young elite soccer players. *J*

Strength Cond Res 2010; **24**: 597–603.

138. Webster, D. Improved automated methods of protein determination. *Ibid* 1960; **13**: 246.

139. Martínez-Amat, A. *et al.* Release of α -actin into serum after skeletal muscle damage. *Br J Sports Med* 2005; **39**: 830–834.

140. Martínez-Amat, A. *et al.* Release of muscle α -actin into serum after intensive exercise. *Biol Sport* 2010; **27**: 263–268.

141. Aranega, A. *et al.* Modulation of alpha-actin and alpha-actinin proteins in cardiomyocytes by retinoic acid during development. *Cells Tissues Organs* 1998; **164**: 82–89.

142. Amat, A. M. *et al.* Role of α -actin in muscle damage of injured athletes in comparison with traditional markers. *Br J Sports Med* 2007; **41**: 442–446.

143. Friedewald, W. T., Levy, R. I. & Fredrickson, D. S. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem* 1972; **18**: 499–502.

144. Norton, K. & Olds, T. *Anthropometrica: a textbook of body measurement for sports and health courses.* (UNSW press, 1996).

145. Carter, J. L., Ross, W., Aubry, S. P., Hebbelinck, M. & Borms, J. Anthropometry of Montreal olympic athletes. *Phys Struct Olymp Athletes* 1982; **1**: 25–52.

146. Gil, S., Gil, J., Ruiz, F., Irazusta, A. & Irazusta, J. Anthropometrical characteristics and somatotype of young soccer players and their comparison with the general population. *Biol Sport* 2010; **27**:17–24.

147. Faulkner, J. A. Physiology of swimming and diving. *Exerc Physiol.* Baltimore Academic Press (1968).

148. Würch, A. La femme et le sport. *Med Sport Francaise* 1974; **4**: 441–5.

149. Lee, R. C. *et al.* Total-body skeletal muscle mass: development and cross-validation of anthropometric prediction models. *Am J Clin Nutr* 2000; **72**: 796–803.
150. Rocha, M. Peso ósseo do brasileiro de ambos os sexos de 17 a 25 años. *Arq Anat E Antropol* 1975; **1**: 445–451.
151. Von Döblen, W. Determination of body constituents in: occurrences, causes and prevention of overnutrition. *G Blix Upsala Almquist Wilksell* (1964).
152. Carter, J. The heath-carter anthropometric somatotype-instruction manual. *San Diego USA* (2002).
153. Albert, F., Ortega, F., Ruiz, J., Castillo, M. & Gutierrez, A. Software for anthropometric assessment providing indexes of interest for health and sport. *Int J Comput Sci Sport* 2003; **2**: 142–4.
154. Shephard, R. J. Tests of maximum oxygen intake a critical review. *Sports Med* 1984; **1**: 99–124.
155. Casajús-Mallén, J. A., Piedrafita, E. & Aragonés, M. T. Criterios de maximalidad en pruebas de esfuerzo. *Rev Int Med Cienc Act Física Deporte* 2009; **9**(35): 217-231.
156. Gaskell, S. E. *et al.* Validity and reliability of combining three methods to determine ventilatory threshold. *Med Sci Sports Exerc* 2001; **33**: 1841–1848.
157. Wasserman, K., Whipp, B., Koysl, S. & Beaver, W. Anaerobic threshold and respiratory gas exchange during exercise. *J Appl Physiol* 1973; **35**: 236–243.
158. Beaver, W. L., Wasserman, K. & Whipp, B. J. A new method for detecting anaerobic threshold by gas exchange. *J Appl Physiol* 1986; **60**: 2020–2027.
159. Valentin, H. Spiroergometry by Brauer and Knipping; an objective and quantitative test for the evaluation of cardiac and pulmonary function. I. Methodology. *Acta Med Scand Suppl* 1953; **277**: 90.
160. Venrath, H. [Spiroergometry by Brauer and Knipping; an objective and

- quantitative test for evaluation of cardiac and pulmonary functional ability. II. Its clinical and practical application.]. *Acta Med Scand Suppl* 1952; **277**: 95–98.
161. Ramos Álvarez, J. J. Valoración ergoespirométrica en futbolistas profesionales: estudio de la recuperación tras prueba de esfuerzo máxima. *Tesis Doctoral*. Universidad Complutense de Madrid, 2009.
162. España-Romero, V. *et al.* Hand span influences optimal grip span in boys and girls aged 6 to 12 years. *J Hand Surg* 2008; **33**: 378–384.
163. Ruiz, J. R. *et al.* Hand span influences optimal grip span in male and female teenagers. *J Hand Surg* 2006; **31**: 1367–1372.
164. Gleeson, M., Blannin, A. K., Walsh, N. P., Field, C. N. & Pritchard, J. C. Effect of exercise-induced muscle damage on the blood lactate response to incremental exercise in humans. *Eur J Appl Physiol* 1998; **77**: 292–295.
165. Kinugasa, T. & Kilding, A. E. A comparison of post-match recovery strategies in youth soccer players. *J Strength Cond Res* 2009; **23**: 1402–1407.
166. García-Concepción, M., Peinado, A., Paredes Hernández, V. & Alvero-Cruz, J. Eficacia de diferentes estrategias de recuperación en jugadores de fútbol de élite. *Rev Int Med Cienc Act Fis Deporte* 2012 [In press]
167. Crowe, M. J., O Connor, D. M. & Lukins, J. E. The effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) and HMB/creatine supplementation on indices of health in highly trained athletes. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2003; **13**: 184–197.
168. Serrano, B. Inducción de relajación en un ambiente de realidad virtual y la influencia de los sentidos. *Tesis Doctoral*. Universidad Jaume I, 2012.
169. González-Cross, M. *et al.* Alimentación y valoración del estado nutricional de los adolescentes españoles (estudio AVENA). *Nutr Hosp* 2003; **23**: 15–28.
170. Martin-Moreno, J. M. *et al.* Development and validation of a food frequency questionnaire in Spain. *Int J Epidemiol* 1993; **22**: 512–519.

171. González-Cross, M. *et al.* Alimentación y valoración del estado nutricional de los adolescentes españoles (estudio AVENA). *Nutr Hosp* 2003; **23**: 15–28.
172. Ferrari, M. A. Estimación de la Ingesta por Recordatorio de 24 Horas. *Diaeta* 2013; **31**: 20–25.
173. Mataix, J. *et al.* Tablas de composición de alimentos españoles. *Univ. Granada* (1998).
174. Van Someren, K., Edwards, A. J. & Howatson, G. Supplementation with β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) and alpha-ketoisocaproic acid (KIC) reduces signs and symptoms of exercise-induced muscle damage in man. *Int J Sport Nutr Exerc Metab* 2005; **15**: 413–424.
175. Jówko, E. *et al.* 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.
176. Panton, L. B., Rathmacher, J. A., Baier, S. & Nissen, S. Nutritional supplementation of the leucine metabolite β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) during resistance training. *Nutrition* 2000; **16**: 734–739.
177. Byrd, P. L., Mehta, P. M., DeVita, P., Dyck, D. & Hickner, R. C. Changes in muscle soreness and strength following downhill running: effects of creatine, HMB, and Betagen supplementation. *Med Sci Sports Exerc* 1999; **31**: 5.
178. Cheng, W., Phillips, B. & Abumrad, N. Effect of HMB on fuel utilization, membrane stability and creatine kinase content of cultured muscle cells. in **12**, A950–A950 (FEDERATION AMER SOC EXP BIOL 9650 ROCKVILLE PIKE, BETHESDA, MD 20814-3998 USA, 1998).
179. Ebbeling, C. B. & Clarkson, P. M. Exercise-induced muscle damage and adaptation. *Sports Med* 1989; **7**: 207–234.
180. Girard, O., Mendez-Villanueva, A. & Bishop, D. Repeated-Sprint Ability—Part I. *Sports Med* 2011; **41**: 673–694.

181. Clarkson, P. & Newham, D. Associations between muscle soreness, damage, and fatigue. *Adv Exp Med Biol* 1995; **384**: 457-69.
182. Friden, J., Sjöström, M. & Ekblom, B. Myofibrillar damage following intense eccentric exercise in man. *Int J Sports Med* 1983; **4**: 170–176.
183. Stauber, W. Eccentric action of muscles: physiology, injury, and adaptation. *Exerc Sport Sci Rev* 1988; **17**: 157–185.
184. Eston, R. G., Finney, S., Baker, S. & Baltzopoulos, V. Muscle tenderness and peak torque changes after downhill running following a prior bout of isokinetic eccentric exercise. *J Sports Sci* 1996; **14**: 291–299.
185. Komi, P. V. Stretch-shortening cycle: a powerful model to study normal and fatigued muscle. *J Biomech* 2000; **33**: 1197–1206.
186. Gathercole, R., Sporer, B., Stellingwerff, T. & Sleivert, G. Alternative countermovement-jump analysis to quantify acute neuromuscular fatigue. *Int J Sports Physiol Perform* 2015; **10**: 84–92.
187. Almada, A. *et al.* Effects of calcium beta-HMB supplementation with or without creatine during training on strength & sprint capacity. in **11**, 2167–2167 (FEDERATION AMER SOC EXP BIOL 9650 ROCKVILLE PIKE, BETHESDA, MD 20814-3998 USA, 1997).
188. Leeder, J. D. *et al.* Recovery and adaptation from repeated intermittent-sprint exercise. *Int J Sports Physiol Perform* 2014; **9**: 489–496.
189. Thompson, D. *et al.* Post-exercise vitamin C supplementation and recovery from demanding exercise. *Eur J Appl Physiol* 2003; **89**: 393–400.
190. Bailey, D. *et al.* Influence of cold-water immersion on indices of muscle damage following prolonged intermittent shuttle running. *J Sports Sci* 2007; **25**: 1163–1170.
191. Wilson, G. *et al.* Acute and timing effects of beta-hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) on indirect markers of skeletal muscle damage. *Nutr*

Metab 2009; **6**: 1–8.

192. Newham, D., McPhail, G., Mills, K. & Edwards, R. Ultrastructural changes after concentric and eccentric contractions of human muscle. *J Neurol Sci* 1983; **61**: 109–122.

193. Fridén, J., Seger, J. & Ekblom, B. Sublethal muscle fibre injuries after high-tension anaerobic exercise. *Eur J Appl Physiol* 1988; **57**: 360–368.

194. Unfried, B., Aguinaldo, A. & Cipriani, D. What is the influence of cambered running surface on lower extremity muscle activity? *J Appl Biomech* 2013; **29**: 421-427.

195. Slater, G. J. & Jenkins, D. β -hydroxy- β -methylbutyrate (HMB) supplementation and the promotion of muscle growth and strength. *Sports Med* 2000; **30**: 105–116.

196. Howatson, G., Van Someren, K. & Hortobagyi, T. Repeated bout effect after maximal eccentric exercise. *Int. J. Sports Med.* **28**, 557–563 (2007).

197. 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.

198. Robertson, R. J. & Noble, B. J. 15 Perception of Physical Exertion: Methods, Mediators, and Applications. *Exerc Sport Sci Rev* 1997; **25**: 407–452.

199. Sikorski, E. M. *et al.* Changes in perceived recovery status scale following high-volume muscle damaging resistance exercise. *J Strength Cond Res* 2013; **27**: 2079–2085.

200. Hoffman, J. R., Cooper, J., Wendell, M. & Kang, J. Effects of beta-hydroxy beta-methylbutyrate on power performance and indices of muscle damage and stress during high-intensity training. *J Strength Cond Res* 2004; **18**(4): 747-752.

201. Kreider, R., Ferreira, M., Wilson, M. & Almada, A. Effects of Calcium beta-Hydroxy-beta-methylbutyrate (HMB) supplementation during resistance-training

- on markers of catabolism, body composition and strength. *Int J Sports Med* 1999; **20**: 503–509.
202. Nunan, D., Howatson, G. & van Someren, K. A. Exercise-Induced Muscle Damage Is Not Attenuated by β -Hydroxy- β -Methylbutyrate and α -Ketoisocaproic Acid Supplementation. *J Strength Cond Res* 2010; **24**(2): 531–537.
203. Saxton, J. & Donnelly, A. Light concentric exercise during recovery from exercise-induced muscle damage. *Int J Sports Med* 1995; **16**: 347–351.
204. Nuviala, R., Roda, L., Lapieza, M., Boned, B. & Giner, A. Serum enzymes activities at rest and after a marathon race. *J Sports Med Phys Fitness* 1992; **32**: 180–186.
205. Schwane, J. A., Johnson, S. R., Vandenakker, C. B. & Armstrong, R. B. Delayed-onset muscular soreness and plasma CPK and LDH activities after downhill running. *Med Sci Sports Exerc* 1982; **15**: 51–56.
206. Halson, S. L. *et al.* Does Hydrotherapy Help or Hinder Adaptation to Training in Competitive Cyclists? *Med Sci Sports Exerc* 2014; **46**(8): 1631–1639.
207. Yamane, M., Ohnishi, N. & Matsumoto, T. Does Regular Post-exercise Cold Application Attenuate Trained Muscle Adaptation? *Int J Sports Med* 2015 [Epub ahead of print]
208. Yoshihara, T. *et al.* Heat stress activates the Akt/mTOR signalling pathway in rat skeletal muscle. *Acta Physiol* 2013; **207**: 416–426.
209. Crewther, B., Keogh, J., Cronin, J. & Cook, C. Possible stimuli for strength and power adaptation. *Sports Med* 2006; **36**: 215–238.
210. Lin, J., Handschin, C. & Spiegelman, B. M. Metabolic control through the PGC-1 family of transcription coactivators. *Cell Metab* 2005; **1**: 361–370.
211. Wu, J. *et al.* The unfolded protein response mediates adaptation to

exercise in skeletal muscle through a PGC-1 α /ATF6 α complex. *Cell Metab* 2011; **13**: 160–169.

212. Selye, H. Stress and the general adaptation syndrome. *Br Med J* 1950; **1**: 1383.

213. Kraemer, W. J. & Ratamess, N. A. Hormonal responses and adaptations to resistance exercise and training. *Sports Med* 2005; **35**: 339–361.

214. Hakkinen, K., Pakarinen, A., Alen, M., Kauhanen, H. & Komi, P. Neuromuscular and hormonal adaptations in athletes to strength training in two years. *J Appl Physiol* 1988; **65**: 2406–2412.

215. Bruckbauer, A. & Zemel, M. B. Effects of dairy consumption on SIRT1 and mitochondrial biogenesis in adipocytes and muscle cells. *Nutr Metab Lond* 2011; **8**: 91-103.

216. Walton, P. E. & Cronin, M. J. Tumor necrosis factor- α inhibits growth hormone secretion from cultured anterior pituitary cells. *Endocrinology* 1989; **125**: 925–929.

217. Townsend, J. *et al.* β -Hydroxy- β -methylbutyrate (HMB)-free acid attenuates circulating TNF- α and TNFR1 expression postresistance exercise. *J Appl Physiol* 2013; **115**: 1173–1182.

218. Biolo, G., Tipton, K. D., Klein, S. & Wolfe, R. R. An abundant supply of amino acids enhances the metabolic effect of exercise on muscle protein. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 1997; **273**: E122–E129.

219. Hung, W., Liu, T.-H., Chen, C.-Y. & Chang, C.-K. Effect of β -hydroxy- β -methylbutyrate supplementation during energy restriction in female judo athletes. *J Exerc Sci Fit* 2010; **8**: 50–53.

220. Kell, D. B. & Pretorius, E. Serum ferritin is an important inflammatory disease marker, as it is mainly a leakage product from damaged cells. *Metallomics* 2014; **6**: 748–773.

221. König, D. *et al.* Influence of training volume and acute physical exercise on the homocysteine levels in endurance-trained men: interactions with plasma folate and vitamin B₁₂. *Ann Nutr Metab* 2003; **47**(3-4):114–8.
222. Murawska-Ciałowicz, E. The impact of wingate and progressive tests on homocysteine, vitamin B₆, B₁₂ and folic acid levels in athletes' blood. *Cent Eur J Sport Sci Med* 2014; **8**: 5–17.
223. Forslund, A. H. *et al.* Inverse relationship between protein intake and plasma free amino acids in healthy men at physical exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2000; **278**: E857–E867.
224. Joubert, L. M. *Exercise, nutrition, and homocysteine*. (ProQuest, 2008).
225. Okada, M., Goda, H., Kondo, Y., Murakami, Y. & Shibuya, M. Effect of exercise on the metabolism of vitamin B₆ and some PLP-dependent enzymes in young rats fed a restricted vitamin B₆ diet. *J Nutr Sci Vitaminol* 2001; **47**: 116–121.
226. Boushey, C. J., Beresford, S. A., Omenn, G. S. & Motulsky, A. G. A quantitative assessment of plasma homocysteine as a risk factor for vascular disease: probable benefits of increasing folic acid intakes. *JAMA* 1995; **274**: 1049–1057.
227. Beguin, Y. Soluble transferrin receptor for the evaluation of erythropoiesis and iron status. *Clin Chim Acta* 2003; **329**: 9–22.
228. Iacopetta, B., Morgan, E. & Yeoh, G. Transferrin receptors and iron uptake during erythroid cell development. *Biochim Biophys Acta BBA Biomembr* 1982; **687**: 204–210.
229. Adams, V. *et al.* Circulating progenitor cells decrease immediately after marathon race in advanced-age marathon runners. *Eur J Cardiovasc Prev Rehabil* 2008; **15**: 602–607.
230. Wing-Gaia, S. L. Nutritional Strategies for the Preservation of Fat Free Mass at High Altitude. *Nutrients* 2014; **6**: 665–681.

231. Schena, F., Guerrini, F., Tregnaghi, P. & Kayser, B. Branched-chain amino acid supplementation during trekking at high altitude. *Eur J Appl Physiol* 1992; **65**: 394–398.
232. Bigard, A. X. *et al.* Branched-chain amino acid supplementation during repeated prolonged skiing exercises at altitude. *Int J Sport Nutr* 1996; **6**: 295–306.
233. Lynch, C. J. *et al.* Potential role of leucine metabolism in the leucine-signaling pathway involving mTOR. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2003; **285**: E854–E863.
234. Carbone, J. W., McClung, J. P. & Pasiakos, S. M. Skeletal muscle responses to negative energy balance: effects of dietary protein. *Adv Nutr Int Rev J* 2012; **3**: 119–126.
235. Peake, J. *et al.* Body temperature and its effect on leukocyte mobilization, cytokines and markers of neutrophil activation during and after exercise. *Eur J Appl Physiol* 2008; **102**: 391–401.
236. Zaldivar, F. *et al.* Constitutive pro- and anti-inflammatory cytokine and growth factor response to exercise in leukocytes. *J Appl Physiol* 2006; **100**: 1124–1133.
237. Nieman, D. C. *et al.* Influence of carbohydrate ingestion on immune changes after 2 h of intensive resistance training. *J Appl Physiol* 2004; **96**: 1292–1298.
238. Smith, L. *et al.* Cytokines and cell adhesion molecules associated with high-intensity eccentric exercise. *Eur J Appl Physiol* 2000; **82**: 61–67.
239. Keller, C. *et al.* Transcriptional activation of the IL-6 gene in human contracting skeletal muscle: influence of muscle glycogen content. *FASEB J* 2001; **15**: 2748–2750.

240. Nieman, D. C. *et al.* Carbohydrate ingestion influences skeletal muscle cytokine mRNA and plasma cytokine levels after a 3-h run. *J Appl Physiol* 2003; **94**: 1917–1925.
241. Peterson, J. M., Feedback, K. D., Baas, J. H. & Pizza, F. X. Tumor necrosis factor- α promotes the accumulation of neutrophils and macrophages in skeletal muscle. *J Appl Physiol* 2006; **101**: 1394–1399.
242. Li, Y.-P. & Reid, M. B. Effect of tumor necrosis factor- α on skeletal muscle metabolism. *Curr Opin Rheumatol* 2001; **13**: 483–487.
243. Vaile, J., Halson, S., Gill, N. & Dawson, B. Effect of hydrotherapy on the signs and symptoms of delayed onset muscle soreness. *Eur J Appl Physiol* 2008; **102**: 447–455.
244. Andersson, H. *et al.* Differences in the inflammatory plasma cytokine response following two elite female soccer games separated by a 72-h recovery. *Scand J Med Sci Sports* 2010; **20**: 740–747.
245. Urso, M. L. Anti-inflammatory interventions and skeletal muscle injury: benefit or detriment? *J Appl Physiol* 2013; **115**: 920–928.
246. Saltin, B. Metabolic fundamentals in exercise. *Med Sci Sports* 1972; **5**: 137–146.
247. Jacobs, I. Lactate, muscle glycogen and exercise performance in man. *Acta Physiol Scand Suppl* 1981; **495**: 1-35.
248. Jacobs, I., Westlin, N., Karlsson, J., Rasmusson, M. & Houghton, B. Muscle glycogen and diet in elite soccer players. *Eur J Appl Physiol* 1982; **48**: 297–302.
249. Fallowfield, J. L., Williams, C., Booth, J., Choo, B. H. & Grouns, S. Effect of water ingestion on endurance capacity during prolonged running. *J Sports Sci* 1996; **14**: 497–502.
250. Hargreaves, M., Dillo, P., Angus, D. & Febbraio, M. Effect of fluid ingestion

on muscle metabolism during prolonged exercise. *J Appl Physiol* 1996; **80**: 363–366.

251. Santos-Fandila, A. *et al.* Quantitative determination of β -hydroxymethylbutyrate and leucine in culture media and microdialysates from rat brain by UHPLC-tandem mass spectrometry. *Anal Bioanal Chem* 2014; **406**: 2863–2872.

252. Porres, D. M., de Paz Fernández, J. A., Gonzalo, R. F., Cervera, J. M. & José, M. Variabilidad de la carga fisiológica en los pequeños juegos de fútbol en función del espacio. *Apunts Educ Física Deport* 2010; **102**: 70–77.

253. Akubat, I., Barrett, S. & Abt, G. Integrating the internal and external training loads in soccer. *Int J Sports Physiol Perform* 2014; **9**: 457–462.

254. Wallace, L., Slattery, K. & Coutts, A. J. A comparison of methods for quantifying training load: relationships between modelled and actual training responses. *Eur J Appl Physiol* 2014; **114**: 11–20.

255. Tipton, K. D. *et al.* Timing of amino acid-carbohydrate ingestion alters anabolic response of muscle to resistance exercise. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2001; **281**: E197–E206.

256. Halson, S. L. Monitoring Training Load to Understand Fatigue in Athletes. *Sports Med* 2014; **44**: 139–147.

257. Federation Internationale de Football Association. FIFA big count 2006: 270 million people active in football. *Retrieved Febr. 20*, 2012 (2007).

258. Maughan, R. *Nutrition and football: the FIFA/FMARC consensus on sports nutrition*. (Routledge, 2006).

AGRADECIMIENTOS

La presente Tesis Doctoral, como una temporada de fútbol, ha necesitado de numerosas horas de entrenamiento llenas de ilusión y entrega para alcanzar un gran sueño. La posibilidad de volver a Granada después de tantos años y poder pasar tiempo con mis amigos y familia en una de las ciudades que amo, es sin duda alguna, una de los mejores efectos derivados de esta Tesis porque les he echado mucho de menos.

Aunque este trabajo solo tenga un protagonista, no se podría haber realizado sin el apoyo y cariño incondicional de muchas personas. Todas ellas, han contribuido en la medida de sus posibilidades, y de diferente forma, a que haya podido terminar esta *temporada académica* con una gran cita y de la que me gustaría que todos estuvieran orgullosos del trabajo realizado.

Empezaré dando las gracias a los futbolistas de la primera plantilla del CD Santa Fe de la temporada 2003/2004, y especialmente a los que participaron en el presente trabajo, como son Marcos, David, Andrés, Pablo, Edilberto, Jose Manuel, Sergio y Carlos, que sin vuestro apoyo desinteresado, esto no habría sido posible. Muchísimas gracias.

Cada día me gusta acordarme del CD Santa Fe porque me permitió desarrollar este proyecto proporcionandome un gran momento de felicidad a mi vida, me sentí siempre como en mi casa, y por eso me quedo sin palabras de agradecimiento hacia Juanjo, Casares, Francis, Piqui, la familia Juani, Alberto, Pellejero, ... muchas gracias a todos.

Asimismo, me gustaría nombrar a las personas que se volcaron con la fase experimental de esta Tesis y aportaron su esfuerzo para que todo saliera muy bien. Esto significó para mí algo de muchísimo valor, y quiero mostrar todo mi respeto y agradecimiento a Jonatan Ruiz y Marcela González-Gross.

No me puedo olvidar de todas las personas del Hospital Clínico Universitario San Cecilio, especialmente del Servicio de Hematología y del Servicio de Bioquímica que aportaron numerosas horas de trabajo en la obtención y procesamiento de todas y cada una de las diferentes muestras

sanguíneas realizadas. Mi más sincero reconocimiento y cariño hacia “*las niñas*”, Ricardo Sola, Rosa Sánchez y Lola Cano.

A Jaime Morente porque tu profesionalidad e integridad en el apoyo prestado durante esta Tesis junto con tus ánimos, me han ayudado cada día para llegar al final. Gracias.

En este momento del camino, me gustaría agradecer a todos los compañeros con los que comparto o he compartido vestuario su cariño y comprensión hacia mi por dejarme aprender de vosotros y permitir expresarme en cada día de entrenamiento además de tener la posibilidad de aportar al fútbol, al menos un 1% de lo que esta pasión me aporta a mí directa e indirectamente. No me puedo olvidar de Alberto Salazar, Francis Lozano, Juanjo Rodríguez, Miguel Torrecilla, Fran Castelló, Vicente Ruso, Jose Luis Montes, Juan Ignacio Martínez, Javier Pereira, Asier Garitano, Titín Marquez, Perico Arango, Juan Carlos Balaguer, Toño Torrecilla, Andrés Ubieto, Mikel Insausti, Ángel Rodríguez, Jose Manuel Santisteban, Paco Herrera, David Amaral y especialmente de Chema Rodríguez, al que admiro y respeto porque nuestra temporada en el Granada “B” fue el comienzo de una historia de fútbol de las de verdad. Eternamente gracias a todos.

Me gustaría agradecer y dedicar la presente Tesis Doctoral a los profesores de la Facultad del Deporte de la Universidad de Querétaro (México) “*Educa en la verdad y el honor*”, Deyanira, Anita, Lupe, Aurea, ... por acogerme en vuestra familia con tanto cariño, y en especial a mi querido amigo y tutor Antonio Palacios (*In memoriam*).

A todos los profesores que han influido en mi vida por los valores transmitidos como persona en el amplio sentido de la palabra, y especialmente a Carmen Rosa, mi profesora de primaria (*In memoriam*). Muchísimas gracias.

A mis profesores de la Facultad de Ciencias de la Actividad Física y el Deporte, y en especial a Luis Fradua y Antonio Raya porque sois el ejemplo que me sirve de guía en mi vida personal y profesional. Muchísimas gracias.

A mis directores de Tesis sin los que no hubiera podido volver a retomar este proyecto. Muchísimas gracias a Manuel Castillo por confiar en mi en esta empresa y por darme la oportunidad junto con la cercanía de poder compartir

además de ideas una gran amistad. Has sido y eres elemento imprescindible de esta Tesis y durante ella, cualquier momento juntos ha sido una enorme oportunidad para disfrutar de tus consejos.

Muchísimas gracias Ángel por que desde que te conocí me has animado a mejorar como persona y profesional, y además tengo la suerte de poder disfrutar tiempo con tu gran familia, Carol, Ángel, Abel y Sara. Venir a Granada y pasar tiempo juntos hablando de muchísimas cosas es algo que me encanta.

Y eternamente agradecido a Fran Ortega porque he sentido que he recuperado el tiempo sin vernos y hemos vuelto a hablar de ciencia mientras nos comíamos un shawarma por tan bella ciudad como es Granada y junto con tu maravillosa familia, Signe, Iris y Ami, la peque que acaba de nacer mientras escribo estas líneas. Todavía recuerdo aquellas mañanas hacia el laboratorio con “La Lola” en la radio y con enormes ganas de comenzar el día de pruebas. Cada momento a tu lado durante esta Tesis, y junto a tu familia, ha sido único e irrepetible. Sin ti esto no hubiera sido posible.

Gracias a mis amigos, Ángel, Juanmi, Dani, Miguelón, Oscar, Peña's, Atrio, Montse, Victoria, Palma, Miguel, Jonatan, Puri, ... porque sin vosotros “chaveas y compaes” la vida no es lo mismo. A lo largo de estos años os he echado mucho de menos. Cada momento vivido con vosotros es un momento de felicidad. Las carreras por Granada a las faldas de La Alhambra por la noche, las salidas a la Sierra, los ratos de tertulia donde soñábamos que hacer con nuestras vidas, las últimas reuniones en las que he podido estar con vosotros, ... Gracias por cada uno de esos magníficos momentos.

A todos mis amigos que han tenido palabras de aliento esta última parte de la Tesis, como Ángel Giner, Mariví, Victoria, Carol, Luis Marcos, Charo, Inma, Mar, Toñi, María, Ángela, Alfonso, Juanma, ... Gracias por vuestra sonrisa cada día porque me ha permitido superar las dificultades de este último tramo.

A mis padres porque son mis héroes y ejemplo a seguir. Gracias por vuestra forma de ser, vuestra dedicación hacia nosotros, vuestros hijos, por apoyarnos en todo momento, y especialmente por haberme enseñado de pequeño, la importancia de esforzarse y saber valorar las cosas que uno consigue con sacrificio, ... por enseñarnos a vivir. A mi hermano y su familia, Sandra, Carla y Julio, porque me alegra e ilusiona verles crecer, mientras me habéis animado en cada proyecto que he llevado a cabo. Gracias a mis tíos Paqui y Paco junto con mis primas Almudena y Merce por vuestros ánimos continuos. Gracias a Pili, mi cuñada, y a María, mi suegra, porque me ha cuidado como si fuera su hijo en esta última parte de la Tesis.

Y gracias a mi abuelita, en la que he estado pensando mientras escribía esta Tesis Doctoral (*In memoriam*)

Y sobre todo, a mi mujer Dori me gustaría agradecerle la paciencia que ha tenido en estos meses. Eres el motor principal de mi vida y te quiero. Sin tu ayuda y comprensión, esto hubiera sido muchísimo más difícil.

APÉNDICES



GRUPO EFFECTS – 262

Evaluación Funcional y Fisiología del Ejercicio. Ciencia y Tecnología para la Salud 262
Facultad de Medicina – Universidad de Granada

HOJA DE INFORMACIÓN DEL ESTUDIO PARA LOS PARTICIPANTES

“Efectos de un período de suplementación con β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) sobre parámetros de dolor y daño muscular después de la realización de un esfuerzo intermitente de alta intensidad en futbolistas”

Has sido seleccionado para la participación en un estudio que pretende valorar la respuesta del organismo del deportista tras un esfuerzo similar al de un partido de fútbol habiendo realizado un período previo de suplementación con HMB o placebo.

Como deportista participante recibirás, en cápsulas de 750 mg, una sustancia placebo (maltodextrina) o β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) en una dosis de 3 g/día. Se tomará placebo o HMB durante 8 días. Luego, tras un descanso de 14 días, se cruzará el tratamiento. El orden será aleatorio y estará codificado por una tercera persona independiente a la investigación.

Información de utilidad:

1. Beneficios derivados del estudio.

El interés de suministrar HMB radica en la importancia que tiene esta sustancia como agente anticatabólico en la destrucción muscular y, además, su función reparadora de ese daño producido para mejorar el proceso de recuperación muscular. No se han descrito efectos secundarios tras la ingesta de HMB. HMB es una sustancia legal no dopante, ni registrada en la lista de sustancias prohibidas de la Agencia Mundial Anti-Dopaje.

Para controlar los parámetros bioquímicos, se extraerá 20 ml de sangre en siete ocasiones distintas.

Este proyecto contribuirá de forma sustancial al conocimiento existente y puede tener un gran impacto en la sociedad, ya que no solo puede ser aplicado al deportista en particular sino a la población en general, ya que el efecto anticatabólico del HMB puede ayudar a comprender las diferentes situaciones catabólicas generadas por entrenamiento y/o enfermedades.

2. Posibles acontecimientos adversos.

No se prevé ningún acontecimiento adverso, más allá de los propios de la actividad física.

3. Voluntariedad.

El participante lo hace de forma voluntaria, pudiéndose retirar del estudio en cualquier momento, habiendo sido informado explícitamente de la finalidad del mismo. Esto no conllevará ningún tipo de discriminación ni consecuencias.

4. Confidencialidad.

Los datos obtenidos en el estudio pertenecen tan solo a la persona voluntaria y al entorno investigador, manteniéndose siempre la más estricta confidencialidad. El participante decidirá si quiere conocer o no los datos de la investigación y será informado, si así lo desea, de los resultados durante el proceso. Al finalizar el mismo, obtendrá un informe detallado elaborado por especialistas del área.

A continuación se detallan brevemente las pruebas que se le van a realizar como participante del estudio:

- Prueba de Evaluación Funcional
- Valoración de la función neuromuscular a través del salto vertical y el sprint
- Extracciones sanguíneas
- Test intermitente de alta intensidad (*Loughborough Intermittent Shuttle Test modificado*, LIST_m)
- Registro de la ingesta dietética y hábitos alimentarios
- Registro de la percepción subjetiva del esfuerzo (*Rated Perceived Exertion*, RPE)
- Registro de la calidad en la recuperación total (*Total Quality Recovery*, TQR)
- Registro del dolor muscular percibido con la Escala Visual Analógica (*Visual Analogue Scale*, VAS)
- Test circunplejo de las emociones
- Test de concentración
- Test de efectos adversos

Para más información puede contactar directamente con el investigador responsable:

Francisco J. Albert García
Doctorando en Fisiología del Ejercicio
Facultad de Medicina
Universidad de Granada



GRUPO EFFECTS – 262

Evaluación Funcional y Fisiología del Ejercicio. Ciencia y Tecnología para la Salud 262
Facultad de Medicina – Universidad de Granada

HOJA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA LA PARTICIPACIÓN EN EL ESTUDIO

“Efectos de un período de suplementación con β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) sobre parámetros de dolor y daño muscular después de la realización de un esfuerzo intermitente de alta intensidad en futbolistas”

D. / Dña. con D.N.I. nº..... , mayor de edad y con fecha de nacimiento declaro que:

He leído y comprendo la información que se me ha entregado.

Comprendo que la participación es voluntaria.

Comprendo que me puedo retirar del estudio:

1. Cuando quiera.
2. Sin tener que dar explicaciones.
3. Sin que esto repercuta en los cuidados médicos caso de enfermedad o lesión derivadas del estudio.

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio y me comprometo a seguir las pautas de ingesta de suplementos, así como la realización de las diferentes pruebas tal y como se describe en la hoja informativa del estudio.

Firma del participante

Fecha y lugar

Firma del investigador que informa



GRUPO EFFECTS – 262

Evaluación Funcional y Fisiología del Ejercicio. Ciencia y Tecnología para la Salud 262
Facultad de Medicina – Universidad de Granada

**FÓRMULA DE CONSENTIMIENTO DE EVALUACIÓN
FUNCIONAL**

Una prueba de esfuerzo convencional es una prueba diagnóstica que nos permite comprobar la respuesta del corazón al ejercicio físico controlado (ergometría). Sirve además para valorar la capacidad global de su organismo ante dicho esfuerzo y para poder medir, si procede, el consumo de oxígeno espirado.

Se realiza caminando o corriendo sobre una cinta rodante, o pedaleando en bicicleta ergométrica. Mientras tanto, se aumenta progresivamente la velocidad, la pendiente o ambas de la cinta, o el nivel de carga de la bicicleta, en períodos de tiempo determinados. Durante toda la exploración se controlan la presión arterial, la frecuencia del pulso y el electrocardiograma, para analizar sus variaciones. La prueba se detendrá si aparecieran síntomas o signos alarmantes.

Pueden existir síntomas (cansancio muscular, mareo, angina de pecho o dolor en las piernas) o bien signos (aumento de la presión arterial o alteraciones del electrocardiograma) que habitualmente desaparecen al cesar la actividad física. En ciertos casos de enfermedad coronaria importante pueden presentarse trastornos del ritmo graves. El riesgo de muerte es excepcional (una de cada 10.000 pruebas).

Yo, D./Dña. con DNI:.....

en pleno uso de mis facultades, libre y voluntariamente declaro que he sido debidamente informado/a en virtud de los derechos que marca la Ley General de Sanidad y, en consecuencia autorizo para que me sea realizada la prueba anteriormente descrita.

He comprendido la naturaleza y el propósito de la prueba, estoy satisfecho/a con la información que se me ha proporcionado.

Granada, a de de 20....

Firma del interesado

Firma del testigo

Firma y nº col. del médico



GRUPO EFFECTS – 262

Evaluación Funcional y Fisiología del Ejercicio. Ciencia y Tecnología para la Salud 262
Facultad de Medicina – Universidad de Granada

INFORME PRUEBA DE ESFUERZO MÁXIMA INCREMENTAL

“Efectos de un período de suplementación con β-hidroxi-β-metilbutirato (HMB) sobre parámetros de dolor y daño muscular después de la realización de un esfuerzo intermitente de alta intensidad en futbolistas”

Fecha:

Hora:

Código:

Nombre y Apellidos:

Peso:

Talla:

Fecha de Nacimiento:

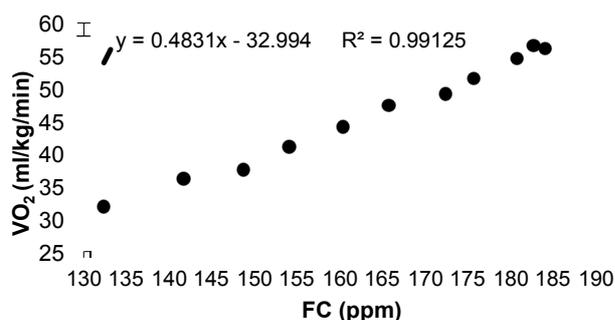
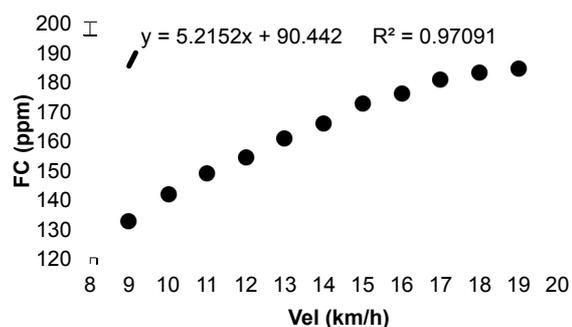
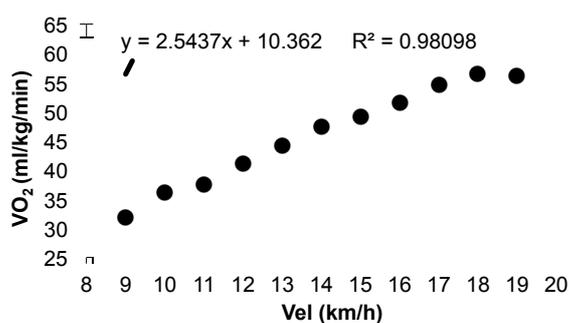
Sexo:

Protocolo: Incremental Máximo: 2 km/h cada 3 min - pendiente 1º inclinación - ($V_0=8$ km/h)

Temperatura: 18 C° Presión Atmosférica: 697.56 mmHg Humedad Relativa: ~61%

Resultados

	VO ₂ (ml/kg/min)	%VO ₂ max	Velocidad (km/h)	% v VO ₂ max	FC (ppm)	% FC max
Máximo	56.9	100	19.5	100	186	100
Umbral Aerobio	38.7	68	11.1	56.9	147	79
Umbral Anaerobio	52.2	91.7	16.5	84.6	181	96





GRUPO EFFECTS – 262

Evaluación Funcional y Fisiología del Ejercicio. Ciencia y Tecnología para la Salud 262
Facultad de Medicina – Universidad de Granada

CONSEJOS DE APLICACIÓN - RECORDATORIO 24 horas & REGISTRO DE 3 DÍAS -

(González-Gross et al.)^a

“Efectos de un período de suplementación con β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) sobre parámetros de dolor y daño muscular después de la realización de un esfuerzo intermitente de alta intensidad en futbolistas”

1. Tiempo necesario estimado:
 - Explicación y ejemplo práctico del recordatorio 24 horas: 1 hora
 - Aclaración de dudas del recordatorio y explicación del registro de 3 días: 1 hora
2. Se entregará a los participantes las plantillas de los cuestionarios y las tablas de estimación a gramos, que se devuelven junto con los cuestionarios completos.
3. Las raciones que se expresan en el cuestionario deben aproximarse lo posible a las que aparecen en las tablas. Hay que procurar emplear “cucharadas” en lugar de “chorros (de aceite)”, “1 loncha” o “una rodaja” en lugar de “un poco”, etc.
4. Para pasar a gramos se utilizarán las tablas de estimación como referencia principal; en caso de que hubiese alguna duda, se puede recurrir a la pesada. En caso de alimentos envasados anotar el peso que aparece en la etiqueta o el peso proporcional a la parte consumida.
5. Si no se conoce el peso de algún alimento o ingrediente, y no se puede pesar, se dejará en blanco, con un signo de interrogación; el nutricionista realizará la estimación oportuna. Insistir en este punto.
6. Se debe especificar también el tipo de aceite o grasa que se utiliza en casa para cocinar, así como el tipo de leche que toman (entera, desnatada, etc.) En caso de que siempre sea el mismo tipo, pueden indicarlo al principio del cuestionario.
7. Hay que indicar también la forma de cocinado o preparación de los alimentos (fritos, rebozados, empanados, cocidos, etc.)
8. No es necesario especificar los condimentos empleados (sal, pimiento, ajo, ...)
9. Es muy importante no se olvide indicar el consumo de snacks, golosinas, bebidas alcohólicas y por supuesto, el pan en las comidas.
10. Se tomará en cuenta única y exclusivamente lo que se come, no lo que se tenía en el plato, o lo que se debería comer.
11. Durante el registro de 3 días cada participante no debe modificar sus hábitos de alimentación para que el cuestionario sea lo más representativo posible.
12. Cada participante debe intentar realizar el registro al finalizar cada comida para no olvidar ningún alimento y su cantidad, aunque luego se compruebe con el investigador.
13. Si falta espacio al rellenar el cuestionario y añaden algún alimento a pie de página o al dorso del folio, que lo indiquen bien a qué comida pertenece.

^a González-Cross, M. *et al.* Alimentación y valoración del estado nutricional de los adolescentes españoles (estudio AVENA). *Nutr Hosp* **23**, 15–28 (2003).

REGISTRO CONSUMO DE ALIMENTOS DURANTE 3 DÍAS

“Efectos de un período de suplementación con β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) sobre parámetros de dolor y daño muscular después de la realización de un esfuerzo intermitente de alta intensidad en futbolistas”

Fecha	Hora	Código Prueba	Nombre y Apellidos
-------	------	---------------	--------------------

En primer lugar, te queremos dar las gracias por participar en el estudio. Con los datos obtenidos, te podremos dar información sobre tu alimentación, además de estar contribuyendo al avance del conocimiento científico.

En este cuestionario, debes anotar todos los alimentos, bebidas (alcohólicas y no alcohólicas), suplementos (vitaminas, aminoácidos, etc.) y agua que consumas a lo largo de **3 días**.

Debes registrar todos los alimentos, bebidas y preparados, sin olvidar aquellos que hayas tomado entre horas: cafés, aperitivos, golosinas, etc. No olvides apuntar los vasos de agua o de otras bebidas tomados en la comida o entre comidas.

En la primera columna de cada hoja se deberán apuntar la hora del día a la que se hizo la comida, el lugar (casa, cafetería, restaurante, etc.) y el menú global, indicando el modo de cocinado de los alimentos (patatas fritas, filete a la plancha...)

En la segunda columna se detallarán todos los ingredientes de cada una de las comidas del día aportando el máximo número de datos que sea posible sobre los alimentos consumidos:

- Indica, en caso de tenerla, la marca comercial.
- Especifica si la leche es entera, desnatada o semidesnatada
- Tipo de queso: en porciones, manchego, roquefort
- Tipo de aceite (oliva, girasol)
- Mantequilla o margarina
- Pan blanco, integral o de molde.

En la última de las columnas debes indicar la cantidad de cada alimento que se ha tomado con la mayor precisión posible. Debes especificar la cantidad de todos los alimentos consumidos en medidas caseras (vasos, tazas, cucharadas...) y no olvides descontar, o anotar las sobras y los restos que dejes de consumir.

¡Debes anotar los alimentos consumidos mientras estás comiendo o justo al terminar!

No importa que el cuestionario se manche.

¡Por favor, en esta semana come como lo haces habitualmente, sigue con tus costumbres de siempre!

Alimentos de la A - Z

A continuación citamos algunos ejemplos de cómo indicar los alimentos:

Cualquier duda o aclaración que quieras hacer constar al ir rellenando el cuestionario puedes anotarla en la parte superior de las hojas y preguntarlo al asesor.

Aceites y grasas	Indicar exactamente el tipo de aceite o grasa que se emplea para cocinar, en ensaladas y en crudo, por ejemplo, aceite de oliva, aceite de girasol, mantequilla, margarina. Indicar la cantidad en cucharadas o el grosor con el que se unta.
Agua	Indicar el número de vasos y si es mineral o del grifo
Bebidas no alcohólicas	Indicar el nombre que ponga en la etiqueta, como por ejemplo, refresco, bebida de zumo de fruta, néctar, etc., Cantidad en vasos, copas, briks, etc
Bebidas alcohólicas	Indicar tipo (licores, cognac, whisky, wodka, ginebra, ron, etc.), cantidad y contenido en alcohol % que indica la etiqueta
Bollería y repostería	Citar el nombre del producto o describirlo.
Café y Té	Describir si es café o descafeinado, y no olvidar anotar el azúcar o edulcorante
Carne	Indicar el animal de procedencia (cerdo, ternera, etc.), la pieza (cadera, muslo, etc.) y si es magra, semigrasa o grasa, y si lo comiste con grasa o sin grasa.
Cerveza	Indicar el tipo, sin alcohol, de malta, etc.
Condimentos y especias	Calcular lo mejor que se pueda las cantidades. No olvidar indicar lo que contenga el guiso (sal, albahaca, etc.)
Embutidos	Indicar el tipo (jamón york, chorizo, etc.), el número de lonchas y su grosor
Ensaladas	Indicar la variedad (lechuga, endivia, etc.) y demás ingredientes, además del aliño
Frutas y verduras	Anotar el tipo y el tamaño de la ración o de la pieza
Huevos	En caso de no ser de gallina, indicar. Especificar peso, si se sabe
Leche y productos lácteos	Escribir el tipo (leche entera, queso manchego, etc.) y anotar el % de grasa que venga indicado en el envase
Pan	Indicar si se trata de pan blanco, pan integral, etc., y si es de barra o de molde. Anotar el número de rebanadas o trozos y el tamaño aproximado de las porciones.
Pescado	Anotar el nombre y el modo de preparación
Productos precocinados	Indicar la marca comercial y adjuntar el envase al cuestionario.
Purés y sopas	Indicar la composición. Para indicar la cantidad, emplea tazas, platos, etc.
Salsas	Indicar composición y la cantidad en cucharadas. Especificar si se toman o se dejan en el plato.
Suplementos	Vitaminas, minerales, etc. Indica la marca comercial, la forma de presentación (pastillas, bebida, granulado, etc.) y la cantidad. Si puedes, adjunta fotocopia de la composición.
Vino	Indicar el tipo (de mesa, crianza, reserva, gran reserva), la marca y el año de cosecha. Cantidad en copas.

REGISTRO CONSUMO DE ALIMENTOS DURANTE 3 DÍAS

“Efectos de un período de suplementación con β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) sobre parámetros de dolor y daño muscular después de la realización de un esfuerzo intermitente de alta intensidad en futbolistas”

Fecha

Código Prueba

Tachar el día de la semana que corresponde a la encuesta

1	2	3
---	---	---

DESAYUNO	ALIMENTOS	CANTIDAD (g) ó TAMAÑO
Hora de inicio:		
Hora de finalización:		
Lugar:		
Menú:		
MEDIA MAÑANA		
Hora de inicio:		
Hora de finalización:		
Lugar:		
Menú:		
COMIDA		
Hora de inicio:		
Hora de finalización:		
Lugar:		
Menú:		
MERIENDA		
Hora de inicio:		
Hora de finalización:		
Lugar:		
Menú:		
ENTRE HORAS		
Hora de inicio:		
Hora de finalización:		
Lugar:		
Menú:		
CENA		
Hora de inicio:		
Hora de finalización:		
Lugar:		
Menú:		

REGISTRO RECUERDO DIETÉTICO DE 24 HORAS

“Efectos de un período de suplementación con β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) sobre parámetros de dolor y daño muscular después de la realización de un esfuerzo intermitente de alta intensidad en futbolistas”

Fecha

Código Prueba

En primer lugar, te queremos dar las gracias por participar en el estudio. Con los datos obtenidos, te podremos dar información sobre tu alimentación, además de estar contribuyendo al avance del conocimiento científico.

En este cuestionario, debes anotar todos los alimentos, bebidas (alcohólicas y no alcohólicas), suplementos (vitaminas, aminoácidos, etc.) y agua que hayas consumido en el **día de ayer**.

Debes registrar todos los alimentos, bebidas y preparados, sin olvidar aquellos que hayas tomado entre horas: cafés, aperitivos, golosinas, etc. No olvides apuntar los vasos de agua o de otras bebidas tomados en la comida o entre comidas.

En la primera columna de cada hoja se deberán apuntar la hora del día a la que se hizo la comida, el lugar (casa, cafetería, restaurante, etc.) y el menú global, indicando el modo de cocinado de los alimentos (patatas fritas, filete a la plancha...)

En la segunda columna se detallarán todos los ingredientes de cada una de las comidas del día aportando el máximo número de datos que sea posible sobre los alimentos consumidos:

- Indica, en caso de tenerla, la marca comercial.
- Especifica si la leche es entera, desnatada o semidesnatada
- Tipo de queso: en porciones, manchego, roquefort
- Tipo de aceite (oliva, girasol)
- Mantequilla o margarina
- Pan blanco, integral o de molde

En la última de las columnas debes indicar la cantidad de cada alimento que se ha tomado con la mayor precisión posible. Debes especificar la cantidad de todos los alimentos consumidos en medidas caseras (vasos, tazas, cucharadas...) y no olvides descontar, o anotar las sobras y los restos que dejes de consumir.

REGISTRO RECUERDO DIETÉTICO DE 24 HORAS

“Efectos de un período de suplementación con β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) sobre parámetros de dolor y daño muscular después de la realización de un esfuerzo intermitente de alta intensidad en futbolistas”

Fecha

Código Prueba

Tachar el día de la semana que corresponde a la encuesta

1	2	3
---	---	---

DESAYUNO	ALIMENTOS	CANTIDAD (g) ó TAMAÑO
Hora de inicio:		
Hora de finalización:		
Lugar:		
Menú:		
MEDIA MAÑANA		
Hora de inicio:		
Hora de finalización:		
Lugar:		
Menú:		
COMIDA		
Hora de inicio:		
Hora de finalización:		
Lugar:		
Menú:		
MERIENDA		
Hora de inicio:		
Hora de finalización:		
Lugar:		
Menú:		
ENTRE HORAS		
Hora de inicio:		
Hora de finalización:		
Lugar:		
Menú:		
CENA		
Hora de inicio:		
Hora de finalización:		
Lugar:		
Menú:		



GRUPO EFFECTS – 262
Evaluación Funcional y Fisiología del Ejercicio. Ciencia y Tecnología para la Salud 262
Facultad de Medicina – Universidad de Granada

INFORME ANTROPOMÉTRICO

(Norton^a & Albert et al.^b)

“Efectos de un período de suplementación con β-hidroxi-β-metilbutirato (HMB) sobre parámetros de dolor y daño muscular después de la realización de un esfuerzo intermitente de alta intensidad en futbolistas”

FECHA			
HORA			
EVALUADOR			
JUGADOR [♦]			
DEMARCACIÓN			

Universidad de Granada

Temporada
2014/15

Evaluación Funcional
Cineantropometría

Estatura (cm)	Masa corporal (Kg)	Edad	Sexo (m/f)
COMPOSICIÓN CORPORAL			
Pliegues (mm)		Diámetros (cm)	
Tricipital		Biepicondíleo humeral	Brazo contraído
Subescapular		Biestiloideo de muñeca	Pierna máxima
Suprailíaco		Bicondíleo femoral	Muslo medio
Abdominal			Antebrazo máx.
Muslo anterior			
Medial de la pierna			
		Σ Pliegues (mm)	
			% Grasa Deseado 10

PESO ÓPTIMO COMPETICIÓN [Kg]

PESO MUSCULAR IDEAL [Kg]

SOMATOCARTA

SOMATOTIPO		
Endomorfia	Mesomorfia	Ectomorfia
BAJO	BAJO	MODERADO
Peso graso	% Graso	
Peso muscular	% Muscular	
Peso óseo	% Óseo	
Peso residual	% Residual	

		Masa Adiposa	
		Adecuado	Excesivo
Masa Muscular	Adecuado	X	
	Insuficiente		

IMC [mc/h²]

Consideraciones para el entrenamiento

Distribución Trabajo Muscular [%]	
	Miembros Superiores
	Miembros Inferiores

[% Óseo] Von Döbeln-Rocha

[% Residual] Würch

[% Grasa] Yuhasz-Faulkner

[% Muscular] Lee

^a Norton K and Olds T (1996). Anthropometrica: a textbook of body measurement for sports and health courses. UNSW Press.

^b Albert FJ et al. (2003). Software for anthropometric assessment providing indexes of interest for health and sport. International Journal of Computer Science in Sport 2: 142-4.



GRUPO EFFECTS – 262

Evaluación Funcional y Fisiología del Ejercicio. Ciencia y Tecnología para la Salud 262
Facultad de Medicina – Universidad de Granada

DIARIO DE ENTRENAMIENTO ESTÁNDAR

(Thompson, 1999)^a

“Efectos de un período de suplementación con β -hidroxi- β -metilbutirato (HMB) sobre parámetros de dolor y daño muscular después de la realización de un esfuerzo intermitente de alta intensidad en futbolistas”

Día -8		Nombre: _____	Código Prueba: _____
ENTRENAMIENTO	Hora	Duración (min)	RPE (1-10)
Comentarios:			

Día -6		Nombre: _____	Código Prueba: _____
ENTRENAMIENTO	Hora	Duración (min)	RPE (1-10)
Comentarios:			

Día -4		Nombre: _____	Código Prueba: _____
ENTRENAMIENTO	Hora	Duración (min)	RPE (1-10)
Comentarios:			

Día -3		Nombre: _____	Código Prueba: _____
PARTIDO	Hora	Participación (min)	RPE (1-10)
Comentarios:			

^a Thompson JS, Nicholas CW, Williams C (1999). Muscular soreness following prolonged intermittent high-intensity shuttle running. *Journal of Sports Sciences* 17(5):387-395.

^b En los dos días restantes para completar los 7 días de suplementación no se realizará ejercicio físico.

^c Posibles opciones para el tipo de entrenamiento:

F – fútbol

O – otro tipo de entrenamiento (fuerza, resistencia, recuperación)

FO – combinación de fútbol con otro tipo de entrenamiento durante la misma sesión (ej. fútbol + actividades complementarias orientadas a la resistencia, fuerza o velocidad)



GRUPO EFFECTS – 262

Evaluación Funcional y Fisiología del Ejercicio. Ciencia y Tecnología para la Salud 262
 Facultad de Medicina – Universidad de Granada

RPE & TQR

(Borg, 1976^a & Kenttä-Hassmén, 1998^b)

“Efectos de un período de suplementación con β-hidroxi-β-metilbutirato (HMB) sobre parámetros de dolor y daño muscular después de la realización de un esfuerzo intermitente de alta intensidad en futbolistas”

Nombre y Apellidos

Código Prueba

Indica con una “X” el valor que defina tu percepción subjetiva del esfuerzo (RPE) y tu percepción subjetiva del grado de recuperación al esfuerzo (TQR) en cada una de las escalas establecidas a continuación durante el último minuto del período de recuperación del LIST_m y antes de comenzar el mismo.

RPE

TQR

		PRE	R1	R2	R3	R4	R5	R6			PRE	R1	R2	R3	R4	R5	R6	
6	Muy muy ligero								6	Nada								
7									7									
8	Muy ligero								8	Muy poca								
9									9									
10	Bastante ligero								10	Poca								
11									11									
12	Algo duro								12	Razonable								
13									13									
14	Duro								14	Buena								
15									15									
16	Muy duro								16	Muy buena								
17									17									
18	Muy muy duro								18	Completa								
19									19									
20									20									

^a Borg, G. Simple rating methods for estimation of perceived exertion. *Phys. Work Effort* 39–46 (1976).

^b Kenttä, G. & Hassmén, P. Overtraining and recovery. *Sports Med.* 26, 1–16 (1998).



GRUPO EFFECTS – 262

Evaluación Funcional y Fisiología del Ejercicio. Ciencia y Tecnología para la Salud 262
 Facultad de Medicina – Universidad de Granada

VISUAL ANALOGUE SCALE -11

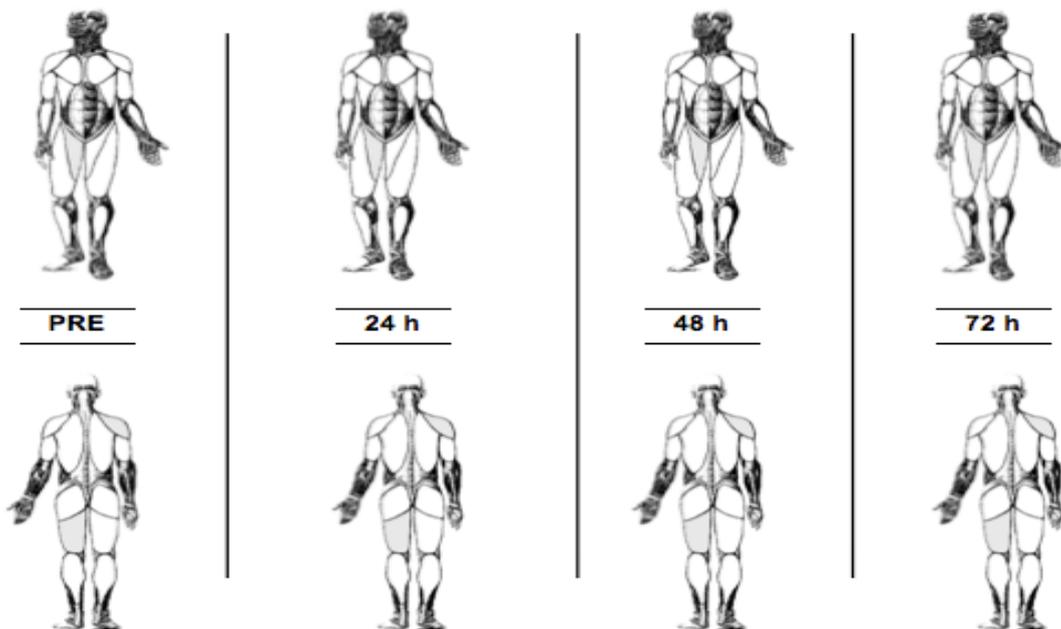
(Huskisson, 1974^a; Downie et al. 1978^b; Wong, 1996^c & Thompson, 1999^d)

“Efectos de un período de suplementación con β-hidroxi-β-metilbutirato (HMB) sobre parámetros de dolor y daño muscular después de la realización de un esfuerzo intermitente de alta intensidad en futbolistas”

Nombre y Apellidos

Código Prueba

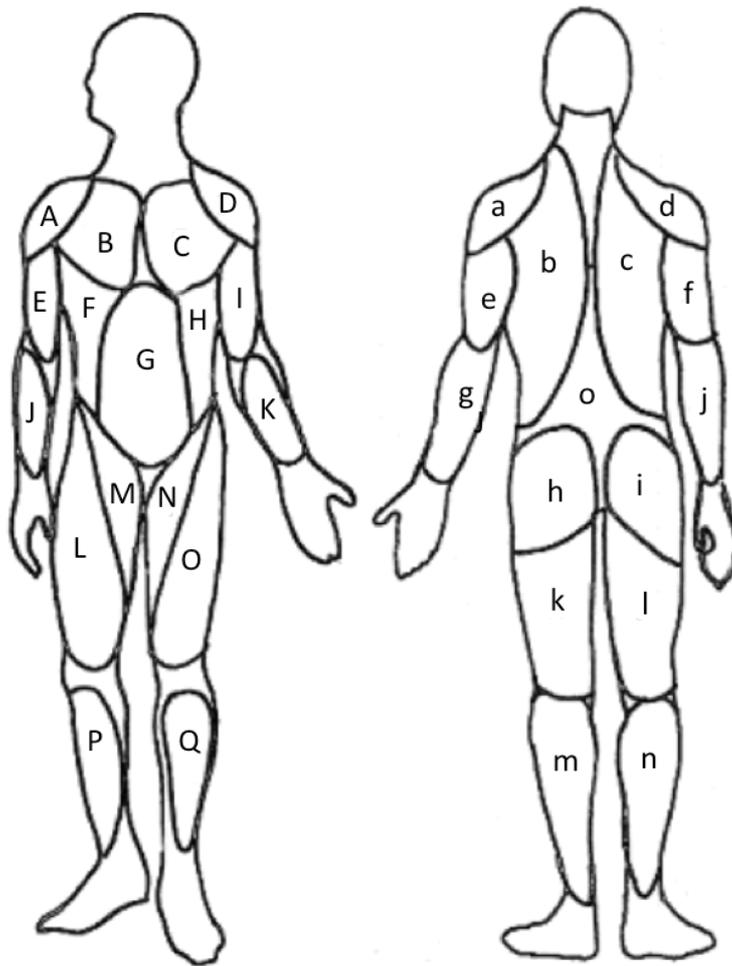
Indica en cada músculo en concreto, miembros inferiores, con un número, según la escala numérica de registro, la musculatura y el grado de dolor experimentado en la realización de un movimiento de media sentadilla o *squat* con una angulación de rodilla de aproximadamente 90° y donde se solicita la musculatura dañada por la realización del LIST_m.



0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Nada	Moderado		Molesto		Importante		Intenso		Insoportable	

VISUAL ANALOGUE SCALE – LOCALIZACIÓN

Utiliza un rotulador y haz un círculo en la letra que representa las partes del cuerpo en las que sientes dolor (miembros inferiores). Después anota la intensidad de dolor que tienes en ese músculo según la escala numérica de registro establecida de cada una de las partes del cuerpo señalada.



REGISTRO DEL INVESTIGADOR																
A	B	C	D	E	F	G	H	I	J	K	L	M	N	O	P	Q
a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l	m	n	o	-	-

^a. Huskisson, E. Measurement of pain. *The Lancet* 304, 1127–1131 (1974).

^b. Downie, W. *et al.* Studies with pain rating scales. *Ann. Rheum. Dis.* 37, 378–381 (1978).

^c. Wong, D. Wong-Baker faces pain rating scale. *Home Health Focus* 2, 62 (1996).

^d. Thompson, J., Nicholas, C. & Williams, C. Muscular soreness following prolonged intermittent high-intensity shuttle running. *J. Sports Sci.* 17, 387–395 (1999).



GRUPO EFFECTS – 262

Evaluación Funcional y Fisiología del Ejercicio. Ciencia y Tecnología para la Salud 262
 Facultad de Medicina – Universidad de Granada

TEST CIRCUMPLEJO BIDIMENSIONAL DE LAS EMOCIONES

(Russell, 1980)^a

“Efectos de un período de suplementación con β-hidroxi-β-metilbutirato (HMB) sobre parámetros de dolor y daño muscular después de la realización de un esfuerzo intermitente de alta intensidad en futbolistas”

Fecha Hora Código Prueba Nombre y Apellidos

Indica con una “X” con qué grado de la escala establecida te identificas en este momento en relación a cada valor emocional descrito en el test.

Categoría emocional	Categorías	1 nada	2 un poco	3 moderado	4 bastante	5 mucho	TOTAL
Alta activación	Despierto						
	Asombrado						
	Estimulado						
	Sorprendido						
	Activo						
	Tenso						
Sensación agradable de activación	Entusiasta						
	Regocijado						
	Excitado						
	Eufórico						
	Alegre						
	Vivo						
Sensación agradable de inactivación	Relajado						
	Satisfecho						
	Descansado						
	Calmado						
	Sereno						
	Cómodo						
Sensación agradable	Alegre						
	Encantado						
	Contento						
	Animado						
	Afectuoso						
	Satisfecho						

(Continuación)

Categoría emocional	Categorías	1 nada	2 un poco	3 moderado	4 bastante	5 mucho	TOTAL
Baja Activación	Calmando						
	Tranquilo						
	Quieto						
	Inactivo						
	Holgazán						
	Pasivo						
Sensación desagradable de inactivación	Apagado						
	Cansado						
	Soñoliento						
	Perezoso						
	Aburrido						
	Desanimado						
Sensación desagradable	Infeliz						
	Sentirse miserable						
	Triste						
	Quejica						
	Pesimista						
	Sin ilusión						
Sensación desagradable de activación	Angustiado						
	Molesto						
	Temeroso						
	Nervioso						
	Inquieto						
	Con ansiedad						

^a Russell J (1980). A circumplex model of affect. Journal of personality and social psychology 39(6): 1161.



GRUPO EFFECTS – 262

Evaluación Funcional y Fisiología del Ejercicio. Ciencia y Tecnología para la Salud 262
Facultad de Medicina – Universidad de Granada

TEST DE EFECTOS ADVERSOS

(Nissen et al., 2000)^a

“Efectos de un período de suplementación con β-hidroxi-β-metilbutirato (HMB) sobre parámetros de dolor y daño muscular después de la realización de un esfuerzo intermitente de alta intensidad en futbolistas”

Fecha	Hora	Código Prueba	Nombre y Apellidos
-------	------	---------------	--------------------

Indicar con una “X” en la casilla correspondiente si has experimentado alguno de estos síntomas durante los tres últimos días.

	SI	NO		SI	NO
Dolor de estómago			Hinchazón		
Náusea / Vómito			Diarrea		
Vértigo			Rigidez articular		
Tos			Sangrado de nariz		
Respiración ruidosa			Angustia zona pectoral		
Dolor en el pecho			Entumecimiento		
Debilidad muscular			Pitar los oídos		
Dolor de cabeza			Stress		
Mal humor			Disminución de la libido		
Erupción cutánea			Estreñimiento		
Cabello áspero			Respiraciones cortas		
Fractura de uñas			Pérdida de apetito		
Dolor de oídos			Pérdida de energía		
Disminución memoria			Sangre en la orina		
Prurito			Sangre en las heces		

^a Nissen, S. *et al.* β-hydroxy-β-methylbutyrate (HMB) supplementation in humans is safe and may decrease cardiovascular risk factors. *J. Nutr.* **130**, 1937–1945 (2000)



GRUPO EFFECTS – 262

Evaluación Funcional y Fisiología del Ejercicio. Ciencia y Tecnología para la Salud 262
Facultad de Medicina – Universidad de Granada

TEST DE CONCENTRACIÓN

(Harris & Harris, 1984)^a

“Efectos de un período de suplementación con β-hidroxi-β-metilbutirato (HMB) sobre parámetros de dolor y daño muscular después de la realización de un esfuerzo intermitente de alta intensidad en futbolistas”

Fecha	Hora	Código Prueba	Nombre y Apellidos
-------	------	---------------	--------------------

Indicar el mayor número posible de números en orden ascendente en 1 minuto de duración.

58	11	52	59	62	41	81	94	30	84
5	67	24	78	4	95	20	88	70	6
27	83	10	50	75	54	97	15	29	93
72	19	31	80	71	21	49	66	76	48
64	51	3	87	32	1	38	55	91	96
57	8	61	14	28	90	98	16	25	7
44	35	22	39	86	65	42	60	69	99
100	79	56	45	33	17	46	40	34	47
26	12	68	2	74	23	82	13	89	92
85	9	43	36	53	37	63	73	18	77

Resultado último número encontrado [□]

^a Harris D and Harris B (1984). The Athlete's guide to sports psychology: mental skills for physical people. Human kinetics.

