



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO
Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

Efectos diferenciales en la salud a través del uso de un
simbiótico en deportistas profesionales y personas
sedentarias.

Autor:

Carmen Daniela Quero Calero

Directores:

Dr. D. Pedro Manonelles Marqueta

Dr. D. Eduardo Ortega Rincón

Murcia, abril de 2020



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO
Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

Efectos diferenciales en la salud a través del uso de un
simbiótico en deportistas profesionales y personas
sedentarias.

Autor:

Carmen Daniela Quero Calero

Directores:

Dr. D. Pedro Manonelles Marqueta

Dr. D. Eduardo Ortega Rincón

Murcia, abril de 2020



UCAM
UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

AUTORIZACIÓN DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS

PARA SU PRESENTACIÓN

El Dr. D. Pedro Manonelles Marqueta y el Dr. D. Eduardo Ortega Rincón como Directores de la Tesis Doctoral titulada “Efectos diferenciales en la salud a través del uso de un simbiótico en deportistas profesionales y personas sedentarias” realizada por D^a. Carmen Daniela Quero Calero en el Departamento de Medicina, **autorizan su presentación a trámite** dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

Lo que firmamos, para dar cumplimiento al Real Decreto 99/2011, 1393/2007, 56/2005 y 778/98, en Murcia a 24 de abril de 2020.

Dr. D. Pedro Manonelles Marqueta

Dr. D. Eduardo Ortega Rincón

AGRADECIMIENTOS

Un largo camino en el que cada pequeña ayuda es un mundo. Un recorrido lleno de incertidumbre y emociones. Una etapa de mi vida bonita y enriquecedora. Gracias a todos los que habéis y seguiréis formado parte de ella.

A Pedro Manonelles Marqueta, porque ha creído en mí desde el principio y ha sido capaz, desde su confianza y trabajo, de crear un maravilloso equipo, formándonos desde el respeto y el esfuerzo, y siempre velando por nuestro futuro y bienestar. Gracias Pedro, has conseguido que esta mindundi esté un poquito más cerca de ser una gran profesional.

A Eduardo Ortega Rincón, porque me ha enseñado todo lo que debía saber y porque eres un pilar fundamental en esta tesis doctoral. Creo que tu conocimiento y sabiduría han sido claves en esta andadura, pero no más que tu forma de ser, tu hospitalidad y la confianza que me has brindado en estos años. Gracias por todo Eduardo.

A Marta, porque sin ella nada de esto hubiera comenzado. Porque has creído en mí y me has apoyado en los buenos y malos momentos. Eres una excelente profesional, compañera, y, mejor aún, una bellísima persona.

A mi equipo de trabajo, Oriol, Dani y Luis, esa Cátedra Internacional de Medicina del Deporte que me acogió con los brazos abiertos y que ha hecho que, día tras día, tenga más ganas de ir a trabajar y seguir creciendo como profesional. En el recuerdo miles de momentos, risas y aprendizajes. Gracias chicos.

A Lola, Isabel y Sonia. Porque de forma desinteresada me habéis ayudado. Sin vosotras nunca hubiera avanzado en esta tesis doctoral. Gracias de corazón.

A la Facultad de Deporte de la Universidad Católica San Antonio de Murcia, por confiar en mí y porque me ha dado la oportunidad de iniciar un precioso camino en busca de mi sueño profesional, la docencia.

A mis padres, Antonia y Amador, porque siempre me han apoyado y han creído en mí ciegamente, porque siempre me han seguido en mis planes y aventuras. Orgullosa de los valores y la educación que me habéis dado. Gracias mamá y papá.

A mi hermana Naza y a la niña de mis ojos, Martina. Porque siempre me sacan una sonrisa. Os quiere, la tita.

A ti Félix, porque has aguantado lo mejor y lo peor de mí durante estos tres años. Porque siempre tienes una sonrisa y unas palabras de apoyo. Porque has conseguido que Murcia sea mi casa y tú parte de mi vida.

A mi Indie, porque su amor incondicional supera cada momento malo y enriquece aún más lo bueno.

Gracias a todos mis amigos y familiares que aquí es imposible enumerar y que han colaborado, día tras día, en este largo recorrido.

Muchísimas gracias a todos los voluntarios de esta tesis doctoral, que sin ellos, nada de esto habría sido posible. Gracias al Universidad Católica de Murcia Club de fútbol y los estudiantes de la Universidad Católica San Antonio de Murcia.

Finalmente, mi mayor agradecimiento a los laboratorios Heel España S.A.U., por haber financiado esta investigación, y por ser una de las pocas empresas que apuestan por la ciencia, haciendo que el mundo cada día sea un poco mejor. En especial, agradecer a José Manuel Cordero, por ofrecernos la oportunidad de realizar este estudio y por su colaboración y ayuda durante este bonito proceso.

Gracias infinitas.

Todos tenemos sueños. Pero para convertir los sueños en realidad, se necesita una gran cantidad de determinación, dedicación, autodisciplina y esfuerzo (Jesse Owens)

ÍNDICE GENERAL

| | |
|--|-----------|
| AUTORIZACIÓN DE LOS DIRECTORES DE LA TESIS..... | 5 |
| AGRADECIMIENTOS | 7 |
| ÍNDICE GENERAL..... | 11 |
| RESUMEN | 15 |
| ABSTRACT | 17 |
| SIGLAS Y ABREVIATURAS..... | 19 |
| ÍNDICE DE FIGURAS Y DE TABLAS..... | 23 |
| Índice de figuras..... | 23 |
| Índice de tablas..... | 27 |
| I - INTRODUCCIÓN..... | 31 |
| 1.1 Actividad física, ejercicio y sedentarismo: influencias inmunoneuroendocrinas y cardiovasculares. | 31 |
| 1.2 Probióticos, prebióticos y simbióticos: influencias neuroinmunoendocrinas y cardiovasculares..... | 42 |
| 1.2.1. Probióticos..... | 42 |
| 1.2.2. Prebióticos | 45 |
| 1.2.3. Simbióticos | 47 |
| 1.3 Potenciales efectos diferenciales en deportistas <i>versus</i> sedentarios..... | 49 |
| II - JUSTIFICACIÓN | 57 |
| III - OBJETIVOS..... | 63 |
| IV - MATERIALES Y MÉTODOS..... | 67 |
| 4.1 Materiales | 67 |
| 4.1.1 Aparatos y equipos instrumentales | 67 |
| 4.1.2 Material de laboratorio | 68 |
| 4.1.3 Material biológico y reactivos..... | 69 |
| 4.1.3.1 Composición del complemento alimenticio Gasteel Plus® y del placebo: | 69 |
| 4.1.3.2 Juego de reactivo del kit <i>ProcartaPlex TM Multiplex Immunoassay</i> para el análisis mediante BioPlex 200 system (Luminex) de la concentración de las citoquinas IL-1 β , TNF- α , IL6, IL10 e IL8:..... | 70 |
| 4.1.3.3 Juego de reactivo del kit <i>Salivary Secretory IgA (indirect enzyme immunoassay kit)</i> para el análisis mediante ELISA de la concentración en saliva de Inmunoglobulina A (sIgA): | 71 |

| | |
|--|----|
| 4.1.3.4 Juego de reactivo del kit <i>General Epinephrine (EPI) RD-EPI-Ge-96T</i> y <i>General Noradrenaline (NE) RD-NE-Ge-96T</i> para el análisis mediante ELISA de la concentración sérica de las catecolaminas sistémicas: Epinefrina y Norepinefrina | 72 |
| 4.1.3.5 Juego de reactivo del kit <i>Dopamine Research</i> para el análisis mediante ELISA de la concentración sérica de la catecolamina sistémica: Dopamina | 72 |
| 4.1.3.6 Juego de reactivo del kit <i>General 5-Hydroxytryptamine (5-HT) RD-5-HT-Ge</i> para el análisis mediante ELISA de la concentración sérica de la serotonina | 74 |
| 4.1.3.7 Juego de reactivo <i>Human Corticotropin Releasing Hormone (CRH) RD-CRH-Hu</i> para el análisis mediante ELISA de la concentración sérica de la hormona liberadora de corticotropina (CRH)..... | 74 |
| 4.1.3.8 Juego de reactivo para el análisis mediante ELISA de la concentración sérica de cortisol (<i>The DetectX Cortisol Immunoassay Kit</i>) | 75 |
| 4.2 Métodos | 76 |
| 4.2.1 Población de estudio y diseño experimental..... | 76 |
| 4.2.2 Toma y recogidas de muestras biológicas | 78 |
| 4.2.3. Mediciones antropométricas..... | 79 |
| 4.2.4. Determinación objetiva de los niveles de actividad física, sedentarismo y sueño: acelerometría | 80 |
| 4.2.5. Estudio de la variabilidad de la frecuencia cardíaca en reposo..... | 81 |
| 4.2.6. Determinación de los niveles de salud, estrés, ansiedad, sueño y calidad de vida percibidos..... | 82 |
| 4.3 Determinaciones metabólicas y técnicas de laboratorio | 86 |
| 4.3.1. Perfil lipídico y glucémico | 86 |
| 4.4 Determinación de biomarcadores inmunitarios/inflamatorios y técnicas de laboratorio | 87 |
| 4.4.1. Determinación de las citoquinas de la respuesta inflamatoria: IL1 β , TNF α , IL8, IL10,IL6..... | 87 |
| 4.4.2. Determinación de la inmunoglobulina A (IgA) en saliva..... | 88 |
| 4.5 Determinación de biomarcadores neuroendocrinos y técnicas de laboratorio | 89 |
| 4.5.1. Determinación de las catecolaminas sistémicas: epinefrina, norepinefrina y dopamina | 89 |
| 4.5.2. Determinación de los niveles sistémicos de serotonina (5-HT) | 90 |

| | |
|--|------------|
| 4.5.3. Valoración de la actividad del eje hipotálamo-hipófisis adrenal: determinación sistémica de la concentración de CRH y Cortisol | 91 |
| 4.6 Análisis estadístico..... | 93 |
| V – RESULTADOS Y DISCUSIÓN | 97 |
| 5.1 Efecto de la administración del simbiótico sobre las mediciones antropométricas en individuos sedentarios y deportistas | 97 |
| 5.2 Efecto de la administración del simbiótico sobre los niveles de actividad física, sedentarismo y sueño en individuos sedentarios y deportistas..... | 106 |
| 5.3 Estudio de la variabilidad de la frecuencia cardiaca en reposo..... | 109 |
| 5.4 Efecto de la administración del simbiótico sobre los niveles de salud, estrés, ansiedad, sueño y calidad de vida percibidos en individuos sedentarios y deportistas..... | 111 |
| 5.4.1. Efecto sobre la salud general percibida: SF-36..... | 113 |
| 5.4.2. Efecto sobre los niveles de estilos de vida saludables, control personal y calidad del sueño: HLPCQ..... | 114 |
| 5.4.3. Efecto sobre los niveles de ansiedad percibidos: STAI ansiedad-estado y ansiedad-rasgo..... | 117 |
| 5.4.4. Efecto sobre los niveles de estrés percibidos..... | 119 |
| 5.4.5. Efecto sobre los niveles de fatiga percibidos..... | 120 |
| 5.4.6. Efecto sobre los niveles de depresión percibidos: Depresión de Beck. 121 | |
| 5.5 Efecto de la administración del simbiótico sobre los parámetros metabólicos en individuos sedentarios y deportistas | 124 |
| 5.5.1. Efecto sobre el perfil glucémico y lipídico:..... | 124 |
| 5.6 Efecto de la administración del simbiótico sobre los parámetros inmunitarios/inflamatorios en individuos sedentarios y deportistas..... | 126 |
| 5.6.1. Efecto sobre la citoquina IL-1 β | 128 |
| 5.6.2. Efecto sobre la citoquina TNF- α | 129 |
| 5.6.3. Efecto sobre la citoquina IL-8 | 130 |
| 5.6.4. Efecto sobre la citoquina IL-10 | 131 |
| 5.6.5. Efecto sobre la citoquina IL-6 | 132 |
| 5.6.6. Efecto sobre la inmunoglobulina A (IgA) | 136 |
| 5.7 Efecto de la administración del simbiótico sobre los parámetros neuroendocrinos en individuos sedentarios y deportistas | 137 |
| 5.7.1. Efecto sobre los niveles de las catecolaminas sistémicas: dopamina, epinefrina y norepinefrina | 138 |
| 5.7.2. Efecto sobre los niveles sistémicos de la serotonina..... | 141 |
| 5.7.3. Efecto sobre el eje hipotálamo-hipófisis adrenal: CRH y cortisol | 145 |
| VI - CONCLUSIONES | 151 |
| VII – LIMITACIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN..... | 159 |

| | |
|---|------------|
| 7.1 Limitaciones | 159 |
| 7.2 Futuras líneas de investigación | 159 |
| VIII – REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 163 |
| IX- ANEXOS | 188 |
| Anexo 1: Cuestionarios..... | 188 |
| Cuestionario de salud SF-36 | 188 |
| Cuestionario de vida saludable y control personal (HLPCQ) | 190 |
| Cuestionario de calidad del sueño (HLPCQ)..... | 191 |
| Cuestionario de ansiedad-estado y ansiedad-rasgo (STAI)..... | 192 |
| Cuestionario de estrés percibido (PSS) | 193 |
| Cuestionario breve sobre la percepción de fatiga (BFI) | 194 |
| Cuestionario depresión de Beck (BDI) | 195 |
| Anexo 2: Consentimiento informado | 196 |

RESUMEN

El objetivo de esta investigación fue realizar un estudio experimental, triple ciego, sobre los posibles efectos de un complemento nutricional (Simbiótico, Gasteel Plus[®]; Heel España S.A.U.) en deportistas profesionales y personas sedentarias, para analizar su efecto sobre mediadores inflamatorios y de estrés, así como el análisis de parámetros que repercutan en la salud y estado físico y psíquico. Los participantes eran futbolistas profesionales de segunda división B de la liga española y estudiantes de igual sexo y mismo rango de edad. Estos dos grupos de trabajo fueron divididos aleatoriamente, a su vez, en dos subgrupos experimentales: uno control, que consumió placebo, y otro experimental, el cual consumió el simbiótico. Para conocer el posible efecto del simbiótico, se valoró en cada participante, tanto en situación basal como tras la intervención, su perfil neuroinmunoendocrino a través de la determinación en sangre de la respuesta inflamatoria a través de las citoquinas IL-1beta, TNF-alfa, IL-6, IL-10, IL-8 (Bioplex-Luminex) y de factores de estrés y ansiedad, tales como catecolaminas (adrenalina, noradrenalina, dopamina), hormonas del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (hormona liberadora de corticotropina o CRH y cortisol) y serotonina (por ELISA); así como el perfil lipídico y glucémico (por técnicas estándar). También se midieron los niveles de inmunoglobulina A (sIgA) en saliva. Además se analizaron diferentes parámetros objetivos de salud, para lo que se realizaron diversas pruebas funcionales como: antropometría, acelerometría (niveles de actividad física y sueño) y variabilidad de la frecuencia cardíaca en reposo, que complementasen a otras más subjetivas, cuestionarios validados para la determinación de los niveles de estrés, ansiedad, calidad de vida y sueño, fatiga y dolor percibidos. Los resultados obtenidos indican que, tras la intervención con Gasteel Plus[®], se produjeron mejoras significativas en relación a los niveles de actividad física y calidad del sueño registrados mediante acelerometría en población deportista, así como aumentos significativos en los niveles de salud y disminución en los niveles de estrés, ansiedad, fatiga y depresión percibidos.

Además, el simbiótico produjo un claro efecto biorregulador, dependiente del estado basal de partida de cada grupo experimental, a través de las variaciones de algunos mediadores inflamatorios/inmunitarios (IL-1 β y en menor medida de la IL-10), siendo este efecto regulador mediado por el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (fundamentalmente por la CRH hipotalámica), particularmente en deportistas y relacionado, notoriamente, con la respuesta inflamatoria a través de la IL-1 β . Las variaciones inducidas por Gasteel Plus[®] en otros parámetros neuroendocrinos (dopamina y en menor medida serotonina), también particularmente en deportistas, parecen relacionarse con los efectos sobre la ansiedad, el estrés, la depresión y la fatiga percibida, así como sobre la mejora de la calidad del sueño valorada de forma objetiva por acelerometría. Además, los resultados muestran cómo el simbiótico no produjo efectos negativos en ambos grupos de estudio en ninguno de los parámetros inmunofisiológicos, metabólicos o antropométricos evaluados, los cuales de forma basal ya presentaban rangos y niveles saludables en nuestros voluntarios, entre ellos: la composición corporal, el perfil metabólico y la variabilidad de la frecuencia cardíaca en reposo. Tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas en los niveles de inmunoglobulina A entre grupos ni como consecuencia de la intervención. De todo ello podemos concluir que el efecto del simbiótico Gasteel Plus[®] fue particularmente relevante en la población deportista, ejerciendo parcialmente un efecto biorregulador anti-inflamatorio mediado por IL-1 β , y de mejora de los niveles de estrés y ansiedad muy probablemente mediados a través de variaciones en factores neuroendocrinos, como la dopamina y la CRH.

Palabras clave:

Simbiótico. Prebiótico. Probiótico. Inflamación. Estrés. Ansiedad. Deporte. Ejercicio. Sedentarismo. Salud.

ABSTRACT

The main objective of this research was to carry out an experimental study, triple blind, on the possible effects of a nutritional supplement (Synbiotic, Gasteel Plus[®], Heel España S.A.U.) in professional athletes and sedentary people to analyze its effect on some inflammatory and stress mediators, as well as the analysis of different parameters that could affect health, physical and mental state. The participants were professional soccer players of the second division B of the Spanish league and students of the same sex and the same age range. These two work groups were randomly divided into two, one control, which was administered with placebo and the other experimental, which was administered with the synbiotic. In order to know the possible effect of the synbiotic, each participant was evaluated at baseline as well as after the intervention, for its neuroimmunoendocrine profile through the determination in blood of the inflammatory cytokines IL-1beta, TNF-alpha, IL6, IL10, IL8 (Bioplex-Luminex) and stress factors catecholamines (adrenaline, noradrenaline, dopamine); and hormones of the hypothalamus-pituitary-adrenal axis: cortisol and corticotropin hormone or CRH, and serotonin (by ELISA); as well as the lipid and glycemic profile (by standard techniques). Immunoglobulin A (sIgA) levels were also analyzed through saliva. Moreover, some objective health parameters were measured, for which some functional tests were performed such as: anthropometry, accelerometry (levels of physical activity and sleep), variability of the heart rate at rest, that complement other more subjective ones, like some validated questionnaires for the determination of the stress level, anxiety, sleep and life quality, fatigue and perceived pain. The obtained results show that after treatment with Gasteel Plus[®], there were significant improvements in relation to the levels of physical activity and sleep quality registered by accelerometry in the athlete population, as well as significant increases in health levels and decrease in perceived levels of stress and anxiety, fatigue and depression.

Furthermore, the synbiotic induced a clear bioregulatory effect, dependent of the basal situation of each experimental group, through the variations of some inflammatory /immune mediators (IL-1 β and, to a lesser extent, IL-10), being this regulatory effect mediated by the hypothalamic-pituitary-adrenal axis (mainly by hypothalamic CRH), especially in athletes and, notably, related to the inflammatory response through IL-1 β . Variations induced by Gasteel Plus[®] in other neuroendocrine parameters (dopamine and to a lesser extent serotonin), also particularly in athletes, seem to be related to the effects on perceived anxiety, stress, depression, and fatigue, as well as on the improvement of sleep quality, objectively assessed by accelerometry. Moreover, the results show how the synbiotic did not produce negative effects in both study groups as well as in any of the immunophysiological, metabolic or anthropometric parameters evaluated, which at baseline already had normal and healthy levels in our volunteers, among them: body composition, metabolic profile and heart rate variability at rest. There were also no significant differences in levels of immunoglobulin A between groups or as a consequence of the intervention. From all this we can conclude that the effect of the synbiotic Gasteel Plus[®] was particularly relevant in the athlete population, partially exerting an anti-inflammatory bioregulatory effect mediated by IL-1 β , and improving stress and anxiety levels, most likely mediated through variations in neuroendocrine factors, such as dopamine and CRH.

Key Words:

Synbiotic. Prebiotic. Probiotic. Inflammation. Stress. Anxiety. Sport. Exercise. Sedentary. Health.

SIGLAS Y ABREVIATURAS

ACTH: Hormona adrenocorticotropina.

AE: Ansiedad estado.

AGCC: Ácidos grasos de cadena corta.

AR: Ansiedad rasgo.

ATP: Adenosintrifosato.

AVP: Arginina vasopresina.

CA: Catecolaminas.

CAMD: Colegio Americano de Medicina Deportiva

CRH: Hormona liberadora de corticotropina.

DA: Dopamina.

EDTA: ácido etilendiaminotetraacético.

EFSA: Autoridad Europea de Seguridad Alimentaria.

EMS: Error estándar de la muestra.

EP: Epinefrina.

FAO: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.

FC: Frecuencia cardiaca.

FDA: Administración de Alimentos y Medicamentos.

FOS: Fructooligosacáridos.

GABA: Ácido gamma-aminobutírico.

G-CSF: Factor estimulante de colonias de granulocitos.

GOS: Galactooligosacáridos.

GRAS: Generally Recognised As Safe, Generalmente reconocido como seguro.

HDL: Lipoproteína de alta intensidad.

H_{fin}: potencia de alta frecuencia en base a su logaritmo natural, dentro del análisis del dominio de frecuencias de la variabilidad de la frecuencia cardiaca.

HHA: Hipotálamo-Hipófisis-Adrenal.

HLPCQ: Cuestionario de Calidad de Vida y Control personal.

HRP: Peroxidasa de rábano picante.

Hz: Hercios.

KD: Kilodalton.

Kg: kilogramos.

IDO: Indoleamina-2,3-dioxigenasa.

IFN: Interferón.

IMC: Índice de masa corporal.

INF- γ : Interferón gamma.

IL: Interleuquina.

IL-1 β : Interleuquina 1beta.

LDL: Lipoproteína de baja intensidad.

IgA: Inmunoglobulina A.

METs: Unidad de Equivalencia Metabólica.

ml: Mililitros.

MVPA: Moderada a vigorosa actividad física.

NADPH: Nicotinamida adenina dinucleótido fosfato.

NE: Norepinefrina.

NK: Natural Killer.

O₂: Oxígeno.

OMS: Organización Mundial de la Salud.

Pd: Puntaje directo.

Pg: Picogramos.

PMN: Neutrófilos poliformonucleares.

PSS: Escala de estrés percibido.

QPS: Presunción de Seguridad Calificada.

RAE: Real Academia Española.

RMSDD: Raíz cuadrada de la media de la suma de las diferencias al cuadrado de intervalos RR consecutivos.

RR: Periodo medio de intervalos entre latidos consecutivos.

SIgA: Inmunoglobulina A en saliva.

SMA: Simpáticoadrenomedular.

SNA: Sistema Nervioso Autónomo.

SNC: Sistema Nervioso Central.

SNS: Sistema Nervioso Simpático.

SS: Índice de estrés.

S/PS: Ratio simpático/parasimpático.

TGF- β : Factor de crecimiento transformante beta.

TNF- α : Tumor de Necrosis Tumoral Alfa.

TOS: Transgalactooligosacáridos.

URS: Upper Respiratory Symptoms, síntomas del tracto respiratorio superior.

VFC: Variabilidad de la frecuencia cardiaca.

VO_{2max}: Consumo máximo de oxígeno.

XOS: Xilooligosacáridos.

5-HT: 5-hidroxitriptamina o serotonina.

μ L: Microlitros.

$^{\circ}$ C: Grados centígrados.

ÍNDICE DE FIGURAS Y DE TABLAS

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Interacciones neuroinmunes. Esquema de la comunicación entre el sistema nervioso y el sistema inmune (Ilustración de Naba Mora Colegio de Médicos de Georgia, tomado de Sternberg, 1977)..... | 38 |
| Figura 2. Resumen de la interacción entre la microbiota intestinal, y los sistemas neuroinmune y neuroendocrino y la interacción entre la microbiota intestinal y los órganos diana de la microbiota del huésped (Adaptado de Vasquez, Pereira, Peotta, Baldo & Campos-Toimil, 2019)..... | 41 |
| Figura 3. Mecanismos de acción y efectos de los simbióticos (tomado de Markowiak & Katarzyna, 2017)..... | 48 |
| Figura 4. Hormonas de estrés secretadas durante el ejercicio físico intenso (tomado de Clark & Mach, 2016)..... | 52 |
| Figura 5. Composición del simbiótico Gasteel Plus ® y cantidad aportada por dosis diaria recomendada (Laboratorios Heel España S.A.U.)..... | 69 |
| Figura 6. Diagrama de población y diseño experimental de la investigación..... | 77 |
| Figura 7. Ejemplo de posible diseño de placa en el inmunoensayo ProcartaPlex™..... | 87 |
| Figura 8. Principio del test para la determinación de IgA en saliva (Salimetrics)..... | 88 |

| | |
|--|-----|
| Figura 9. Ejemplo de placa de microtitulación y colores generados en cortisol..... | 92 |
| Figura 10. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre el peso corporal..... | 98 |
| Figura 11. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre el índice de masa corporal (IMC)..... | 99 |
| Figura 12. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre el porcentaje de masa muscular..... | 102 |
| Figura 13. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre el porcentaje de masa grasa..... | 103 |
| Figura 14. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre el sumatorio de 6 pliegues..... | 104 |
| Figura 15. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre el sumatorio de 8 pliegues..... | 105 |
| Figura 16. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre los niveles de salud percibida..... | 113 |
| Figura 17. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre los niveles de estilo de vida saludable y control personal (HLPCQ)..... | 114 |
| Figura 18. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre la calidad del sueño percibida..... | 115 |
| Figura 19. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre los niveles de ansiedad-estado..... | 117 |

| | |
|--|-----|
| Figura 20. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre los niveles de ansiedad-estado..... | 118 |
| Figura 21. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre los niveles de estrés percibido..... | 119 |
| Figura 22. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre los niveles de fatiga percibidos..... | 120 |
| Figura 23. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre los niveles de depresión..... | 121 |
| Figura 24. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre la citoquina IL-1 β | 128 |
| Figura 25. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre la citoquina TNF- α | 129 |
| Figura 26. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre la citoquina IL-8..... | 130 |
| Figura 27. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre la citoquina IL-10..... | 131 |
| Figura 28. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre la inmunoglobulina A (IgA)..... | 136 |
| Figura 29. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre la catecolamina sistémica dopamina..... | 138 |
| Figura 30. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre la catecolamina sistémica epinefrina..... | 139 |

Figura 31. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre la catecolamina sistémica norepinefrina.....140

Figura 32. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre la serotonina.....141

Figura 33. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre la hormona liberadora de corticotropina (CRH).....145

Figura 34. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre la hormona cortisol.....146

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Recomendaciones de actividad física según el Colegio Americano de Medicina Deportiva.....33

Tabla 2. Microorganismos probióticos usados en humanos (tomado de de Markowiak & Katarzyna, 2017).....43

Tabla 3. Ejemplos de prebióticos y simbióticos usados en nutrición humana (tomado de Markowiak & Katarzyna, 2017).....47

Tabla 4. Datos descriptivos de los participantes.....76

Tabla 5. Resultados obtenidos a través de acelerometría durante un periodo de 7 días.....106

Tabla 6. Resultados de la variabilidad de la frecuencia cardiaca en reposo.....109

Tabla 7. Resultados del perfil glucémico y lipídico.....125

I - INTRODUCCIÓN

I - INTRODUCCIÓN

1.1 ACTIVIDAD FÍSICA, EJERCICIO Y SEDENTARISMO: INFLUENCIAS INMUNONEUROENDOCRINAS Y CARDIOVASCULARES.

En antropología, el concepto de “sedentarismo” (del latín “sedere”, o la acción de tomar asiento) se ha usado para describir el cambio desde una sociedad nómada a otra situada alrededor de un lugar o región determinada. Con el paso del tiempo, la creación de las nuevas formas de transporte, trabajo y el continuo desarrollo de la sociedad industrial han afirmado las características de la sociedad sedentaria, disminuyendo, cada vez más, las oportunidades de gasto energético en la vida cotidiana de los individuos (Romero, 2009; de Frutos, 2016).

Actualmente, la Real Academia Española (RAE, 2019), define el sedentarismo como “actitud de la persona que lleva una vida sedentaria, refiriéndose como sedentaria/o a un oficio o un modo de vida de poca agitación o movimiento”. Según la Organización Mundial de la Salud (OMS, 2019), la falta de actividad física es el cuarto factor de riesgo en referencia a mortalidad mundial (siendo esto aproximadamente el 6% de las muertes registradas en la totalidad mundial). Además, se estima que dicha inactividad física es la causa principal de multitud de enfermedades, entre las más comunes: cáncer de mama y de colon, diabetes y cardiopatía isquémica, entre otras.

Una persona es considerada sedentaria, en referencia al concepto de gasto energético, cuando en sus actividades diarias no aumenta más del 10% de su metabolismo basal, es decir, de la energía que se gasta en reposo. Este gasto energético se mide en unidades de METs (Unidad de Equivalencia Metabólica), durante la práctica de diferentes actividades físicas (Claros, Álvarez, Cuellar & Mora, 2011).

Una definición de conducta sedentaria podría ser: “cualquier momento del día en el que se emplee tiempo en una posición de sentado o recostado, en la que la energía consumida sea menor a 1,5 equivalentes metabólicos” (Wullems, Verschueren, Degens, Morse & Onambélé, 2016).

El sedentarismo e inactividad física prolongada lleva a una disminución importante y progresiva de la masa muscular, la fuerza, la flexibilidad y del equilibrio. Además, se ha demostrado que la práctica de actividad física de forma regular, con un mínimo de tres veces por semana, suscita diferencias bastantes significativas en los índices de grasa corporal, disminuyendo así los riesgos de padecer algunas enfermedades (Delgado-Rodríguez, Martínez-González & Aguinaga, 2001).

La OMS considera actividad física a “cualquier movimiento corporal producido por los músculos esqueléticos que exija un gasto de energía”. Algunos beneficios, al mantener un nivel apropiado de actividad física de manera regular en adultos son:

- Reducir las posibilidades de padecer hipertensión, cardiopatía, accidente cerebrovascular, diabetes, cáncer de mama y de colon, depresión y caídas.
- Mejorar la salud musculoesquelética y funcional, siendo un factor esencial del gasto energético, claves para mantener el equilibrio calórico y el control del peso.

La "actividad física" no debe confundirse con el concepto de "ejercicio". Este es “un tipo de actividad física planificada, estructurada, repetitiva y realizada con un objetivo: la mejora de uno o más componentes de la aptitud física”. Además, la actividad física comprende el ejercicio, pero también otras actividades que implican movimiento corporal, como puede ser el juego (OMS, 2019)

El Colegio Americano de Medicina Deportiva (ACSM, 2017), divide a la población en cuatro grupos de edad y hace unas recomendaciones respecto al tiempo e intensidad que dicho colectivo debería practicar actividad física, siendo su principal objetivo el de obtener multitud de beneficios para la salud.

En la tabla 1 observamos diferencias de recomendaciones de actividad física entre diferentes grupos de edad, así como diferencias en los beneficios obtenidos en función de la intensidad a la que se realice dicha actividad física.

| | Menores de 5 años | | Jóvenes(5-17) | Adultos (18-64) | Mayores (>65) |
|-----------------------|--|---------|--|--|------------------|
| Tiempo Recomendado | No anda | Ya anda | 60 min/día 3 veces/semana Intensidad vigorosa | 150 min/semana Intensidad moderada o 75 min/semana Intensidad vigorosa | |
| Mayor Beneficio | Aumentar gradualmente la intensidad a medida que van creciendo | | >60 min/día 3 veces/semana Intensidad vigorosa | 300 min/semana Intensidad moderada o 150 min/semana Intensidad vigorosa | |

Existe un creciente interés en entender los diversos mecanismos involucrados en dicho efecto de protección derivado de la práctica de ejercicio físico, algunos como la movilización de células progenitoras del endotelio y apoyo a la integridad vascular, la inhibición de factores pro-inflamatorios, el aumento de la sensibilidad a la insulina, la supra regulación de enzimas anti-oxidantes, factores neurovegetativos, entre otros (Kasapis & Thompson, 2005).

La práctica de actividad física y ejercicio, así como una adecuada alimentación, son factores claves para la salud de las personas, así como para el correcto funcionamiento fisiológico de los diversos sistemas del cuerpo humano.

El sistema inmunitario se ha dividido tradicionalmente en dos ramas diferenciadas: la respuesta inespecífica o innata y la respuesta específica, adquirida o adaptativa. La respuesta inmunitaria innata o inespecífica es aquella que, junto a determinadas barreras fisiológicas y anatómicas (piel, mucosas,...) ejerce la primera barrera defensiva del organismo, no necesitando previamente, sensibilidad a un antígeno específico, y siendo llevado a cabo por células polimorfonucleares (PMN) neutrófilos, monocitos y macrófagos, células dendríticas, células *Natural Killer* (NK), así como diferentes mediadores solubles (Walsh, Gleeson, Shephard, Gleeson, Woods, Bishop & Hoffman-Goete, 2011). La inmunidad innata además de servir para regular e iniciar la posterior respuesta inmunitaria específica, también tiene un rol importante de protección del cuerpo frente a infecciones (Serrano, 2011).

El sistema inmunitario es un sistema fisiológico cuyo principal objetivo es mantener la homeostasis que distingue entre las moléculas “propias” y “no propias” para poder reconocer y defender al organismo contra una serie de agentes infecciosos. Sin embargo, el sistema inmune no sólo defiende al organismo contra antígenos, sino también ejerce un sistema de comunicación continuo con otros sistemas, el sistema nervioso y el endocrino. Todo ello a través de una comunicación bidireccional mediado por citoquinas, hormonas y neurotransmisores (Besedovsky, & del Rey, 2007). A este eje de comunicación se le conoce como sistema neuroinmunoendocrino.

Las citoquinas (del griego “kyto” célula e “ina” sustancia) son unas moléculas con un peso molecular muy bajo (10 a 40 kilodalton, kD), con la capacidad de modular la función de diferentes células y tejidos, siendo producidas fundamentalmente por otros tipos celulares del sistema inmunitario (macrófagos, linfocitos T, *Natural Killer* o NK), pero también por células no inmunes (fibroblastos, células endoteliales, células musculares, adipocitos,...). Además, estas citoquinas pueden agruparse en interleuquinas (IL), quimioquinas, interferones (IFN), factores estimuladores de colonias, factores de crecimiento y factores de necrosis tumoral, respectivamente (Otero, 2011).

Las citoquinas se producen como respuesta a diversos microorganismos y antígenos, y, además de ser muy importantes en la respuesta inflamatoria e inmunitaria, van a tener un papel destacado en multitud de procesos biológicos como en la hematopoyesis, la embriogénesis y la angiogénesis, así como en diferentes procesos celulares (Otero, 2011).

Según Abbas, Lichtman & Pillai (2004), las citoquinas, en función de sus efectos inmunofisiológicos, pueden clasificarse en:

- Citoquinas pro-inflamatorias: las interleuquinas 1-beta (IL-1 β), IL-8, IL-12, factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α) o el interferón gamma (INF- γ), promoviendo la respuesta inflamatoria.
- Citoquinas anti-inflamatorias: IL-4, IL-10 e IL-13, que, por el contrario, inhiben la respuesta inflamatoria.
- Otras: factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) o la IL-6 que pudiendo actuar como mediadores pro- o anti-inflamatorios.

Las citoquinas inflamatorias, entre ellas la IL-6, IL-1 y TNF- α , son liberadas durante una respuesta inmune e inflamatoria, las cuales sirven para activar los componentes esenciales del sistema de estrés, modificando así la actividad de neurotransmisores, provocando fiebre, somnolencia, fatiga y pérdida de apetito, entre otros (Elenkov, 2008).

Además, el TNF- α , es el mediador esencial de la respuesta inmunitaria/inflamatoria aguda frente a posibles bacterias Gram negativas y a otros numerosos patógenos infecciosos. La IL-1 actúa en conjunto, mediando la respuesta inflamatoria frente a infecciones en función de la cantidad secretada (Abbas et al., 2004).

La IL-12 es una citoquina muy destacada de la respuesta innata en los primeros estadios, promoviendo la inmunidad celular, así como la respuesta adaptativa.

Dicha interleuquina estimula la producción de $\text{INF-}\gamma$ que a su vez aparece en respuesta a infecciones virales en periodos tempranos por las células NK y los linfocitos T, siendo clave en el proceso entre la inmunidad innata y adquirida, originándose en las respuestas innatas iniciales a los microorganismos y produciendo, posteriormente, la respuesta adaptativa para proteger al individuo de la infección (Abbas et al., 2004).

La IL-10 participa en el balance homeostático de las respuestas de la inmunidad celular e innata, siendo una buena ejemplificación de regulación por retroalimentación negativa (Abbas et al., 2004). Además, es considerada la citoquina inmunosupresora por antonomasia, inhibiendo la síntesis de otras citoquinas como el $\text{TNF-}\alpha$, IL-2 o IL-12.

Acorde a Otero (2011), en el conjunto de las citoquinas que participan en la respuesta inmunitaria innata se incluyen aquellas generadas, mayoritariamente, por los macrófagos y los monocitos activados de manera inmediata después del contacto con un agente patógeno, siendo por ello claves en el desarrollo de la respuesta inflamatoria. Es por ello que, entre las citoquinas más destacadas en este papel se encuentran la IL-1, el $\text{TNF-}\alpha$, la IL-6 y el $\text{INF-}\gamma$, que también participan en la respuesta inflamatoria, así como la IL-10 que tiene una clara acción inmunosupresora.

Según Besedovsky & Sorkin (1977) es una suposición bastante racional que el principal vínculo entre el sistema inmunitario y el sistema neuroendocrino es efectuado por uno o algunos de los múltiples eventos conocidos que conllevan a la inmunización. Las vías aferentes y eferentes desde y hasta el hipotálamo podrían visualizarse a través del funcionamiento de diversos antígenos, anticuerpos, señales eléctricas desde nervios periféricos, hormonas y mediadores químicos. En este contexto, desde hace muchos años existe un gran número de publicaciones relativas a la activación, a través de citoquinas, del eje hipotalámico-hipófisis-adrenal (HHA) y la gran importancia de su activación durante situaciones de estrés.

La secreción basal de glucocorticoides es necesaria para el normal funcionamiento de la mayoría de los tejidos, e incluso, con pequeñas desviaciones de los niveles normales circulantes de dichos esteroides, provocan cambios en una amplia variedad de parámetros fisiológicos y bioquímicos (Turnbull & Rivier, 1999).

Existen vías reguladoras que controlan el sistema inmune en las que se incluyen algunos mediadores como las catecolaminas (CA), desde el cerebro, hasta varias hormonas producidas por el sistema endocrino. El sistema nervioso simpático (SNS) inerva los órganos inmunitarios y, cuando es activado, libera sus moléculas de señalización en las proximidades de las células inmunes. En consecuencia, el equilibrio de citoquinas puede ser modulado por neurotransmisores simpáticos, tanto en el sistema nervioso central (SNC) como en el sistema periférico. Las células inmunitarias expresan varios receptores de neurotransmisores que son sensibles a las monoaminas y a la producción de citoquinas y otros mediadores inmunitarios/inflamatorios que se modulan mediante la activación de estos receptores (Elenkov, 2008). Una vez que los neurotransmisores han alcanzado las células objetivo, ocupan sus receptores apropiados y la transducción de señal iniciada modula la producción de citoquinas (Szelényi & Vizi, 2007). La figura 1 refleja este esquema de comunicación entre el sistema nervioso y el sistema inmunitario.

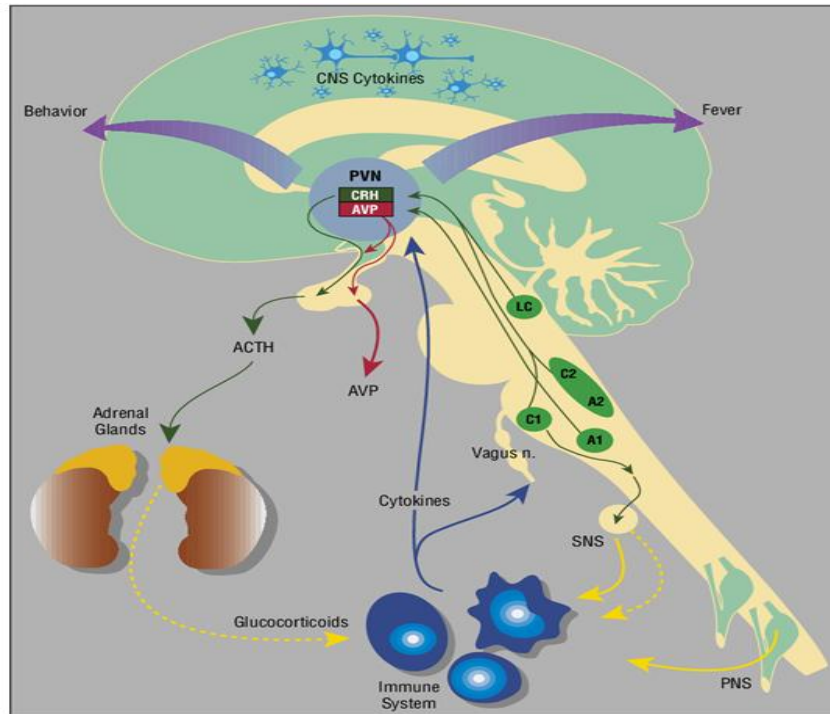


Figura 1. Interacciones neuroinmunes. Esquema de la comunicación entre el sistema nervioso y el sistema inmunitario (Ilustración de Naba Mora Colegio de Médicos de Georgia, adaptado de Sternberg, 1977)

A su vez, las citoquinas periféricas estimulan una variedad de funciones del SNC, incluidas algunas como las respuestas neuroendocrinas, patrones de comportamiento, sueño y fiebre. Ellas lo hacen a través de varias rutas, estimulando segundos mensajeros, vía el nervio vago. Las citoquinas periféricas estimulan el hipotálamo para liberar la hormona liberadora de corticotropina o CRH, así como la glándula pituitaria para liberar la hormona adrenocorticotrófica (ACTH). Una vez que se libera la CRH hipotalámica, estimula la liberación de ACTH de la pituitaria anterior. La ACTH hipofisaria estimula la liberación de glucocorticoides, destacando la hormona cortisol (conocida como la hormona del estrés), y catecolaminas (mayoritariamente epinefrina y norepinefrina) desde las glándulas suprarrenales, que suprimen la inflamación, completando este ciclo de retroalimentación entre el sistema inmunitario y sistema nervioso central (Sternberg, 1977; Ortega, 2016).

En individuos sanos, con una óptima regulación de la capacidad homeostática, dichas hormonas de estrés inhiben la producción de citoquinas pro-inflamatorias como la interleuquina IL-12, el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), y el interferón gamma (IFN- γ), mientras estimulan la producción de ciertas citoquinas anti-inflamatorias como las interleuquinas IL-10 e IL-4, así como el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) (Elenkov & Chrousos, 2002). Es por ello que, el sistema de retroalimentación negativo, el cual intenta proteger al organismo entre las citoquinas y el eje HHA, pudiera verse alterado en determinadas patologías autoinmunes e inflamatorias, existiendo, además, otros factores que pudieran alterar dicha respuesta innata/inflamatoria como pueden ser el ejercicio (dependiendo de su intensidad), la edad, un estrés crónico agudo, el embarazo y el periodo de postparto (Elenkov & Chrousos, 2002; Ortega, 2016).

El término de catecolaminas (CA), se refiere a todos aquellos compuestos que contienen el grupo catecol (ortodihidroxibenzeno) y una cadena con un grupo amino. Las catecolaminas de mayor importancia, fisiológicamente hablando son la dopamina (DA), la norepinefrina (NE) y la epinefrina (EP). La epinefrina, también conocida como adrenalina, se sintetiza y almacena en la médula adrenal y se libera posteriormente hacia la circulación sistémica. La norepinefrina, o noradrenalina, además de sintetizarse y almacenarse en la médula adrenal, lo hace también en los nervios simpáticos periféricos.

Los diversos factores estresantes causan una mayor actividad del sistema nervioso simpático (SNS) y de la médula suprarrenal, estimulando así una mayor descarga al torrente sanguíneo de las hormonas epinefrina y norepinefrina, provocando cambios en la actividad enzimática que sintetizan las catecolaminas, así como en las concentraciones de dichas hormonas en el cerebro (Axelrod & Reisine, 1984). En este contexto, las catecolaminas poseen también una gran capacidad moduladora de la respuesta innata/inflamatoria con gran relación a los efectos del ejercicio y sus aspectos bioreguladores (Ortega, 2016).

La dopamina, categorizada como un neurotransmisor en el sistema nervioso central, se localiza en la médula adrenal y en los nervios simpáticos periféricos, (Brandan, Llanos, Ruíz & Rodríguez, 2010). Además, tiene muchas funciones en el cerebro, como pueden ser la cognición, la motivación, el sueño, el humor y el aprendizaje (Barrio de Ugarte, 2017).

Entre otros transmisores de gran importancia a nivel fisiológico, se encuentra la serotonina, o la 5-hidroxitriptamina (5-HT), sintetizada a partir del aminoácido triptófano. Es un neuromodulador muy importante del sistema nervioso. Entre los procesos conductuales modulados por la serotonina se incluyen algunos como la percepción, la recompensa, el apetito, la sexualidad y el estado de ánimo. Su metabolismo se asocia a diversos trastornos psiquiátricos y su concentración se reduce debido al estrés (Berger, Gray & Roth, 2009).

La acción combinada de algunas hormonas, como pueden ser el cortisol y la epinefrina, en conjunto con el sistema nervioso autónomo, permite la activación de diferentes vías metabólicas para proveer a las demandas de energía que cualquier estímulo de estrés pudiese generar, así como la activación e involucración de diversos aparatos como pueden ser el cardiovascular, respiratorio, muscular y el conjunto del sistema digestivo (Brandan et al., 2010).

Se conoce como microbiota intestinal al conjunto de microorganismos que habitan en el intestino, compuesta aproximadamente por 100 billones de bacterias. Esta desempeña un papel importante en la protección contra organismos patógenos, el desarrollo y homeostásis de células inmunitarias, la digestión de los polisacáridos y el metabolismo de las grasas, entre otros (Da Silva, Dos Santos & Bressan, 2013).

Además de las interacciones que existen entre el sistema nervioso e inmunitario, dentro del sistema endocrino es importante resaltar que una falta de equilibrio en la microbiota intestinal o disbiosis intestinal, está relacionada, de forma directa, con el origen de varios procesos agudos y crónicos en la disfunción del huésped. Es por ello que, la capacidad de intervenir en la modificación de la

microbiota intestinal emerge en la actualidad como una posible táctica para la intervención terapéutica en diversas enfermedades (Vasquez et al., 2019). La figura 2 muestra un resumen como modelo de la interacción que puede existir entre la microbiota intestinal y los sistemas inmunitario y neuroendocrino.

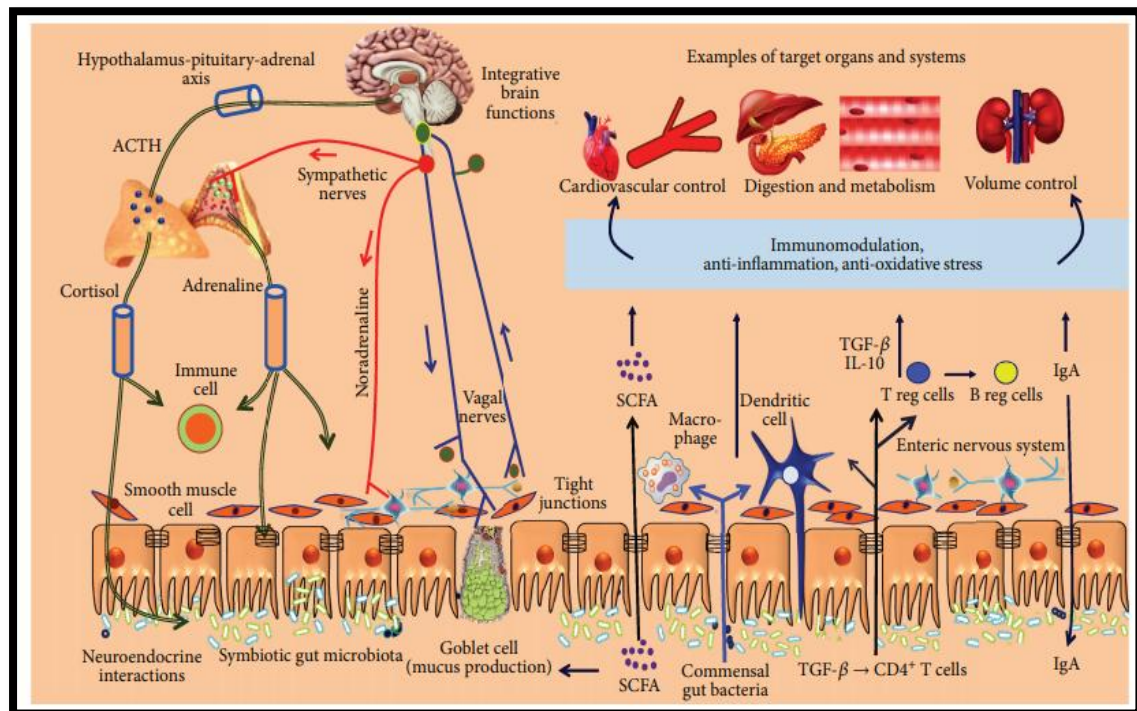


Figura 2. Resumen de la interacción entre la microbiota intestinal, y los sistemas neuroendocrino e inmunitario y la interacción entre la microbiota intestinal y los órganos diana de la microbiota del huésped (Adaptado de Vasquez, Pereira, Peotta, Baldo & Campos-Toimil, 2019).

He aquí el gran interés por entender los principales mecanismos involucrados en la interacción que existe entre el sistema nervioso, inmunitario y endocrino, cuyo desequilibrio pudiera ser crucial en una gran variedad de enfermedades humanas comunes y de interés general, y en este contexto de la práctica deportiva profesional.

1.2 PROBIÓTICOS, PREBIÓTICOS Y SIMBIÓTICOS: INFLUENCIAS NEUROINMUNOENDOCRINAS Y CARDIOVASCULARES

1.2.1. Probióticos

El término de probiótico tiene su origen en una palabra griega que significa “para la vida” y ha sido usada para definir organismos vivos no patógenos que generan una serie de beneficios en la salud del huésped. (Manigandan, Mangaiyarkarasi, Hemalatha, Hemalatha & Murali, 2012; Pandey, Naik & Vakil, 2015). Dicho término fue presentado por primera vez por el científico Ferdinand Vergin en 1954 en su artículo titulado "Anti-und Probiotika", en el cual, comparaba los efectos nocivos de antibióticos y otros agentes antibacterianos en la microbiota intestinal con los efectos beneficiosos ("Probiotika") de algunas bacterias útiles (Markowiak & Katarzyna, 2017). Unos años más tarde, en 1965, Lilly & Stillwell definieron los probióticos como “sustancias secretadas por un microorganismo que estimulan el crecimiento de otro” (Lilly & Stillwell, 1965).

Fuller, en 1989, definió a los probióticos como “microorganismos no patógenos, que cuando se ingieren, ejercen una influencia positiva en la salud o fisiología del huésped”. En 2002, la Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación (FAO), así como expertos de la Organización Mundial de la salud (OMS), definieron los probióticos como “microorganismos vivos que, cuando se administran en cantidades adecuadas, generan una serie de beneficios en la salud del huésped”. Dicha definición se mantiene en la actualidad, siendo corroborada por consenso de la Asociación Internacional de Probióticos y Prebióticos en 2014. (Hill, Guarner, Reid, Gibson, Merenstein, Pot & Salminen, 2014).

Los probióticos están sujetos a diversas regulaciones contenidas en la Ley general de alimentos, según la cual deben ser seguros para la salud humana y animal. En Estados Unidos, los microorganismos usados para el consumo deben tener el sello *Generally Regarded As Safe* (GRAS), considerado como seguro y regulados por la Administración de Alimentos y Medicamentos, *Food and Drug Administration* (FDA). En Europa, la Autoridad Europea de Seguridad

Alimentaria, *European Food Safety Authority* (EFSA) introdujo el término de presunción de Seguridad Calificada, *Qualified Presumption of safety* (QPS), el cual incluye algunos criterios adicionales de la evaluación de la seguridad de los suplementos con bacterias (Anadón, Martínez-Larrañaga & Martínez, 2006; Gaggia, Mattarelli & Biavati, 2010; Ricci, Allende, Bolton, Chemaly, Davies, Girones & Nørrung, 2017).

Entre algunos de los microorganismos más conocidos se incluyen *Lactobacillus rhamnosus*, *Lactobacillus reuteri*, *bifidobacterias* y ciertas cepas de *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus-group*, *Bacillus coagulans*, *Escherichia coli cepa Nissle 1917*, entre otros (Pandey et al., 2015). En la tabla 2, se muestran los microorganismos probióticos más usados en humanos, principalmente por el efecto que ejercen sobre el desarrollo y equilibrio adecuado entre los patógenos y bacterias necesarias para un correcto funcionamiento del organismo (Markowiak & Katarzyna, 2017).

Tabla 2. Microorganismos probióticos usados en humanos (Adaptación de Markowiak & katarzyna., 2017)

| | |
|------------------------|---|
| Genero | <i>L. acidophilus</i> ^a , <i>L.amylovorus</i> ^b , <i>L.casei</i> ^{a, b} , <i>L.gasseri</i> ^a , <i>L.helveticus</i> ^a , |
| <i>Lactobacillus</i> | <i>L.johnsonii</i> ^b , <i>L.pentosus</i> ^b , <i>L.plantarum</i> ^b , <i>L.reuteri</i> ^a , <i>l.rhamnosus</i> ^{a, b} |
| Género | <i>B.adolescentis</i> ^a , <i>B.animalis</i> ^a , <i>B.bifidum</i> ^a , <i>B.breve</i> ^b , <i>B.infantis</i> ^a , <i>B.longus</i> ^a |
| <i>Bifidobacterium</i> | |
| Otras Bacterias | <i>Enterococcus faecium</i> ^a , <i>lactococcus lactis</i> ^b , <i>Streptococcus thermophilus</i> ^a |
| Acido Láctico | |
| Otros | <i>Bacillus clausii</i> ^a , <i>Escheria coli Nissle 1917</i> ^a , <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ^a |
| Microorganismos | <i>(boulardi)</i> |

^a Mayoritariamente como productos farmacéuticos; ^b Mayoritariamente como aditivos de alimentos.

Los probióticos pueden tener diferentes efectos beneficiosos en el organismo y sus principales mecanismos de acción se basan en:

1. Antagonismo a través de sustancias antimicrobianas (Vandenbergh, 1993).

2. Competición con los patógenos por adherirse al epitelio, además de por los nutrientes (Guillot, 2003).
3. Inmunomodulación del huésped (Isolauri, Sütas, Kankaanpää, Arvilommi & Salminen, 2001).
4. Inhibición de la producción de toxinas bacterianas (Brandão, Castro, Bambirra, Amaral, Fietto, Tropa & Nicoli, 1998).

La estimulación inmunológica inducida por probióticos también se manifiesta en el aumento de la producción de inmunoglobulinas, en especial un aumento de la inmunoglobulina A (IgA), en la actividad mejorada de macrófagos y linfocitos, así como en la estimulación en la producción de interferón- γ (Oelschlaeger, 2010). Otro mecanismo de acción destacado es que dichas bacterias probióticas también pueden estimular la producción de citoquinas por las células inmunocompetentes del tracto gastrointestinal (Gill & Cross, 2002).

La microbiota intestinal puede ser modificada a través de la dieta, y es por ello que se necesitan más estrategias para una mejora de los procesos metabólicos, algunos como la regulación de los niveles de colesterol o de tensión arterial, así como el metabolismo de la glucosa. Los probióticos podrían jugar un papel muy importante en dichos procesos metabólicos del huésped y en su modulación inmune, pudiendo influir en su desarrollo y fisiología (Ruan, Sun, He, Chen F, Chen R & Chen H, 2015).

Resultados de diversos estudios (Clarke & Mach, 2017; Pandey et al., 2015) han confirmado el efecto positivo de los probióticos en enfermedades del aparato digestivo (síndrome del intestino irritable, enfermedad inflamatoria intestinal, diarreas,...), alergias (dermatitis atópica), así como ciertos beneficios en algunas otras: obesidad, diabetes tipo 2, enfermedades del sistema inmunitario y diferentes tipos de cáncer. A pesar de ello, se necesitan más trabajos científicos para afirmar los posibles beneficios en la salud cardiovascular y su relación con la reducción de la tensión arterial a través del uso de estos complementos. Además, determinados rasgos específicos de especies y cepas de bacterias probióticas tales como su estructura y superficie celular, tamaño y propiedades metabólicas, son muy importantes en su mecanismo de acción, siendo así su efecto dependiente

del tipo específico de cepa, dosis y componentes utilizados para un determinado producto probiótico (Markowiak & Katarzyna, 2017).

1.2.2. Prebióticos

El concepto de prebiótico lo introdujo Gibson en el año 1995. Los prebióticos son ingredientes alimenticios, mayoritariamente fibras no digeribles y que afectan beneficiosamente la salud del huésped al estimular y/o favorecer el crecimiento de algunos géneros de microorganismos en el colon, generalmente, lactobacilos y bifidobacterias (De Vrese & Schrezenmeir, 2008). Diferentes prebióticos servirán para estimular el crecimiento de diferentes bacterias intestinales exógenas. Estos tienen un gran potencial para modificar la microbiota intestinal, pero dichos cambios se producen, al igual que sucede con los probióticos, a nivel de cepas y especies individuales (Chung, Walker, Louis, Parkhill, Vermeiren, Bosscher & Flint, 2016).

Diversas fuentes naturales de carbohidratos constituyen prebióticos potenciales como las frutas y las verduras. Entre ellos destacan los tomates, las alcachofas, los plátanos, los espárragos, las bayas, los ajos, la cebolla, la achicoria, los vegetales de color verde, las legumbres, y también algunos cereales como la avena, la linaza, la cebada y el trigo (Markowiak & Katarzyna., 2017). Sin embargo, algunos prebióticos se producen de forma artificial, entre los más destacados: galactooligosacáridos (GOS), fructooligosacáridos (FOS), maltooligosacáridos, ciclodextrinas y lactosacarosa. Se cree que los fructanos como la inulina y la oligofructosa son los más útiles en relación a muchas especies de probióticos (Bandyopadhyay & Manday, 2014).

De acuerdo a Wang (2009), existen cinco criterios fundamentales para clasificar un ingrediente alimenticio como prebiótico:

1. Ser resistentes a la digestión en la parte superior de las regiones del tracto digestivo y, como consecuencia, pueden llegar hasta el colon donde son fermentados por potenciales bacterias beneficiosas.

2. Ser fermentados por microbiota intestinal (aumento de ácidos grasos de cadena corta, reducción del pH en el colon...).
3. Tener un efecto beneficioso sobre la salud del huésped.
4. Estimular de forma selectiva el crecimiento de probióticos.
5. Ofrecer estabilidad en diversas condiciones del proceso alimenticio.

Según Schley & Field (2002), algunos posibles efectos beneficiosos se dan en parámetros inmunológicos, entre ellos:

1. Regular la acción de enzimas hepáticas lipogénicas debido al incremento en la producción de ácidos grasos de cadena corta (AGCC).
2. Producir AGCC (ácido butírico) aumenta la disponibilidad de numerosos genes para factores de transcripción.
3. Modular la producción de mucina.
4. Incrementar los linfocitos y/o leucocitos en tejidos asociados al intestino y en sangre periférica.
5. Incrementar la secreción de IgA en tejidos asociados al intestino pudiendo estimular la acción fagocítica de macrófagos intrainflamatorios.

Entre algunos de los posibles efectos beneficiosos de dichos prebióticos en la salud humana, además de los ya anteriormente mencionados, se encuentran la reducción de la lipoproteína de baja intensidad (LDL) en sangre, la mayor capacidad de absorción de calcio, el mantenimiento de los niveles de pH intestinal, el bajo valor calórico, así como el posible alivio de úlceras pépticas e infecciones vaginales (Markowiak & Katarzyna, 2017).

Sin embargo, se deben respetar las dosis y el tiempo adecuado de consumo, ya que un exceso podría provocar diversos problemas del aparato digestivo como diarreas y flatulencias. Se ha afirmado, además, que dichas sustancias no provocan alergias y que, a pesar de ser un método de eliminación de patógenos menos eficaz que los antibióticos, sí que puede ser propuesto como un sustituto natural, con menores efectos secundarios que los conocidos antibióticos (Crittenden & Playne, 2009).

1.2.3. Simbióticos

A través de la introducción del término de prebiótico (Gibson, 1995), se ha especulado con la idea de un nuevo concepto que surge de la combinación de un probiótico y un prebiótico (De Vrese & Schrezenmeir, 2008). Un simbiótico se define como un producto beneficioso que produce un aumento en la supervivencia del huésped, así como la implantación de complementos dietéticos microbianos vivos en el tracto digestivo, que estimulan, de forma selectiva, el crecimiento y/o activación del metabolismo de uno o un número limitado de bacterias que promueven la salud. Debido a que la palabra “simbiótico” se refiere a sinergia, este término alude a productos en los que el o los componentes prebióticos favorecen, selectivamente, el o los organismos probióticos, aumentando así su supervivencia en el tracto digestivo (Cecic & Chingwaru, 2010).

En la actualidad es un término bastante nuevo, y las investigaciones científicas han ido creciendo a lo largo de los últimos años. Su efecto en la salud podría considerarse de la combinación individual de un prebiótico y un probiótico, pudiendo darse multitud de combinaciones, y siendo entre las más destacadas la combinación de algunas cepas probióticas: *Bifidobacterias* o *Lactobacilos* en combinación con fructooligosacáridos como prebiótico (De Vrese & Schrezenmeir, 2008; Pandey et al., 2015; Peña, 2007).

Tabla 3. Ejemplos de prebióticos y simbióticos usados en nutrición humana
(Adaptación de Markowiak & Katarzyna., 2017)

| Prebióticos | Simbióticos |
|--------------------------|--|
| FOS* | Bacterias del género <i>Lactobacilos</i> + Inulin |
| GOS* | Bacterias del género <i>Lactobacilos</i> , |
| Inulina | <i>Streptococcus</i> y <i>Bifidobacterias</i> +FOS |
| XOS* | Bacterias del género <i>Lactobacilos</i> y |
| Lactitol | <i>Bifidobacterias</i> + oligofruktosa |
| Lactosucrosa y Lactulosa | Bacterias del género <i>Lactobacilos</i> y |
| Oligosacáridos de Soja | <i>Bifidobacterias</i> + Inulina |
| TOS* | |

*FOS: fructooligosacáridos; GOS: galactooligosacáridos; XOS: xilooligosacáridos; TOS: transgalactooligosacáridos.

En la tabla 3 se muestran las combinaciones más usadas de productos simbióticos en nutrición humana. El principal mecanismo de acción de los simbióticos es utilizar esa simbiosis para crear complementos dietéticos microbiológicamente viables, asegurando, a su vez, un entorno adecuado que permita un impacto positivo en la salud del huésped (Zhang, Cheng, Lu, Yi, Yang & Wu, 2010). En particular, el aumento significativo de ácidos grasos de cadena corta (AGCC), cetonas, disulfuro de carbono y acetato de metilo parecen justificar algunos de los efectos positivos (antibacterianos, anticancerígenos y antialérgicos) en la salud tras el consumo de productos simbióticos (Vitali, Ndagijimana, Cruciani, Carnevali, Candela, Guerzoni & Brigidi, 2010). En la figura 3 se muestran algunos de los mecanismos de acción de los simbióticos y sus efectos.

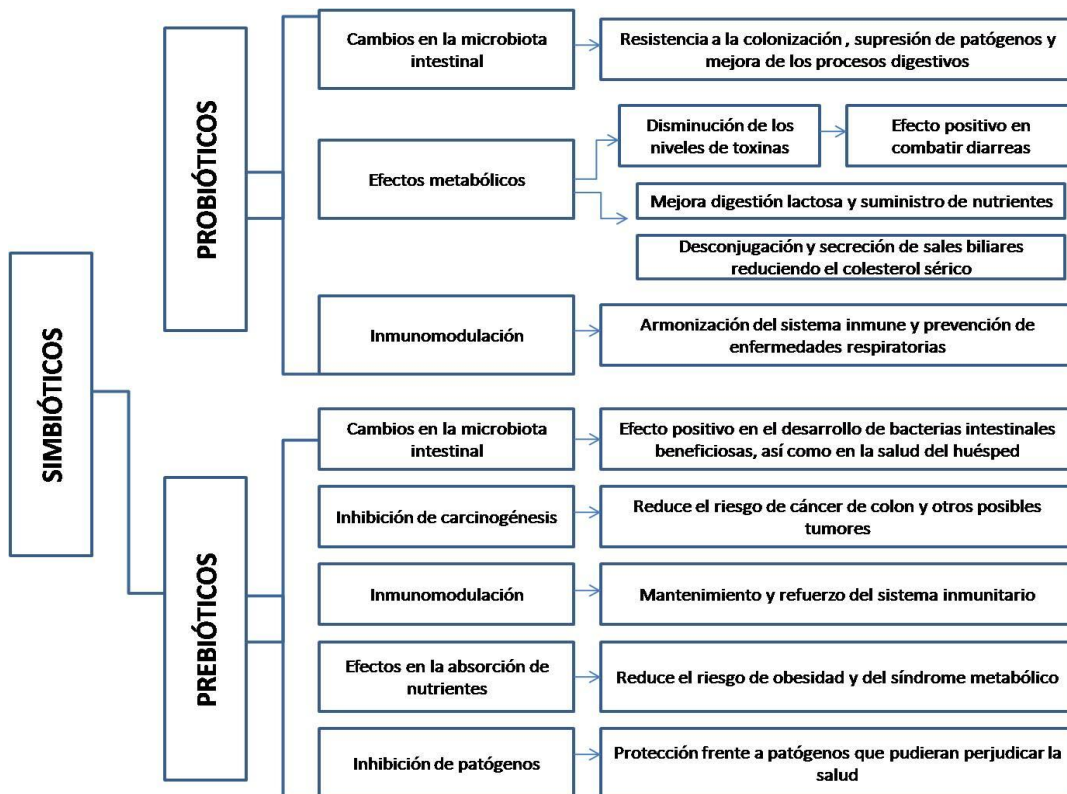


Figura 3. Mecanismos de acción y efectos de los simbióticos (Adaptado de Markowiak & Katarzyna, 2017).

Los complementos nutricionales probióticos, prebióticos y simbióticos pueden jugar un papel muy importante en la dieta y aportar multitud de efectos positivos en la salud humana, pero esto dependerá no solo del género de bacterias usados para cada individuo, sino también de la dosis, tiempo de consumo y perfil individual de cada sujeto.

1.3 POTENCIALES EFECTOS DIFERENCIALES EN DEPORTISTAS *VERSUS* SEDENTARIOS

Existen diferentes efectos del ejercicio sobre la fisiología del intestino. Dependiendo del volumen y de la intensidad del ejercicio, se ha demostrado que existen diferencias en la salud del tracto digestivo (Colbey, Cox, Pyne, Zhang, Cripps & West, 2018; Costa, Knechtle, Tarnopolsky & Hoffman, 2019). En este contexto, el ejercicio moderado se ha asociado con la reducción de los niveles de cáncer de intestino, muy influyente en la función inmune y en la degradación de moco intestinal (Clark & Mach, 2016; Cox, Pyne, Saunders & Fricker, 2010). Por el contrario, el ejercicio realizado de forma extenuante y continua, se asocia a la depresión de la función de las células inmunes, que, junto a una dieta inadecuada o inapropiada, podrían influir negativamente en el proceso de inmunocompetencia (Gleeson, Nieman & Pedersen, 2004).

Aquellos deportistas que realizan un ejercicio severo e intenso, pueden tener un mayor riesgo de sufrir determinados síntomas respiratorios en las vías superiores (URS, *Upper Respiratory Symptoms*), así como perturbaciones inducidas por el ejercicio en la inmunidad celular y humoral, con cambios agudos y crónicos en la secreción de inmunoglobulina A (SIgA) en saliva. Además, el entrenamiento de alta intensidad puede provocar agotamiento crónico, provocando una disminución en el rendimiento del deportista (Salarkia, Ghadamli, Zaeri & Rad, 2013).

La literatura muestra una gran evidencia entre la relación de ejercicio, dieta y microbiota intestinal (Clark & Mach, 2016; Costa et al., 2017), así como estudios que muestran efectos beneficiosos en la salud general de deportistas tras el consumo de probióticos, prebióticos y/o simbióticos (Clancy, Gleeson, Cox,

Callister, Dorrington, D'este & Henriksson, 2006; Kekkonen, Vasankari, Vuorimaa, Haahtela, Julkunen & Korpela, 2007; Cox et al., 2010; Cecchini & Pompei, 2011; Martarelli, Verdenelli, Scuri, Cocchioni, Silvi, 2011; Lamprecht & Frauwallner, 2012; Pyne, West, Cox & Cripps, 2015; Coman, Verdenelli, Silvi, Cecchini, Gabianelli, Amadio & Cresci, 2017). Algunos de ellos, afirman que dichos complementos nutricionales benefician indirectamente a los deportistas, al mantener su salud gastrointestinal, previniendo los efectos inmunosupresores y las infecciones en el tracto respiratorio causadas por un ejercicio muy intenso (West et al., 2009; Martarelli et al., 2011). Sin embargo, otros estudios concluyen que el ejercicio en sí podría afectar al tránsito intestinal y a la respuesta inmunitaria, pudiendo modificar la composición y metabolismo de la microbiota intestinal (Costa et al., 2017).

Según Ortega (2016), los efectos del ejercicio sobre la respuesta innata están mediados principalmente por el sistema nervioso simpático (SNS) y/o el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (HHA). El ejercicio practicado de forma regular puede inducir estabilizaciones neuroinmunoendocrinas en personas con inflamación desregulada y la retroalimentación de estrés al reducir ciertas hormonas de estrés y citoquinas inflamatorias. Respuestas antiinflamatorias y "anti-estrés" parecen producirse en individuos con desregulaciones inflamatorias después de una sesión de ejercicio teniendo, paradójicamente, el efecto contrario en personas sanas. Todo ello se conoce con el término de "efecto bioregulador del ejercicio", aquel que, reduce o previene cualquier efecto excesivo de mediadores inflamatorios y que estimula las defensas innatas contra patógenos. Ambos efectos del ejercicio, pro- y antiinflamatorios, podrían implicar efectos secundarios. Las respuestas "pro-inflamatorias" inducen a una mayor protección frente a infecciones en personas sanas, pudiendo exacerbar algunos aspectos de su condición en personas que sufren de enfermedades inflamatorias o de estrés, así como los ejercicios que inducen efectos antiinflamatorios podrían comprometer la efectividad del sistema inmune en contra de los patógenos (Ortega, 2003; Ortega, García, Bote, Martín-Cordero, Escalante, Saavedra & Giraldo, 2009; Ortega, 2016).

La respuesta al estrés ocurre siempre que un individuo se encuentra con un cambio endógeno o exógeno, percibido como desagradable, adverso o amenazante, pudiendo ser inducido por un estímulo físico o psicológico (Galley, Nelson, Yu, Dowd, Walter, Kumar & Bailey, 2014). El ejercicio puede ser un causante de estrés. Aunque no existe un consenso sobre qué síntomas o marcadores definen el estrés, se dan algunos signos comunes y ampliamente aceptados en la literatura científica, que incluyen algunos como indicadores hormonales y otros síntomas asociados con la fatiga, el empeoramiento del rendimiento, insomnio, cambios en el apetito, pérdida de peso, y cambios de humor, entre ellos, irritabilidad, ansiedad, depresión, falta de motivación, así como inflamación e inmunosupresión (Purvis, Gonsalves & Deuster, 2010).

Dos sistemas distintos, pero interrelacionados entre sí, que afectan a las respuestas de estrés durante el ejercicio son el eje simpático adrenomedular (SAM) y el eje HHA, ya mencionado anteriormente. La activación de estos dos ejes provoca la liberación de catecolaminas (norepinefrina y epinefrina) y glucocorticoides en la circulación sanguínea (Ulrich & Herman, 2009). Además, la evidencia muestra que la microbiota intestinal también modula neurotransmisores excitatorios e inhibitorios (serotonina, ácido gamma-aminobutírico y dopamina) en respuesta al estrés físico y emocional (Clarke et al., 2014). Las respuestas de estrés al ejercicio intenso están mediadas por circuitos superpuestos en gran medida en el prosencéfalo límbico (cerebro anterior), el hipotálamo y el tronco encefálico, de modo que, las contribuciones respectivas en los sistemas endocrino y autónomo, se ajustan de acuerdo al nivel del factor de estrés y su intensidad. Cuando el tallo cerebral recibe señales que indican perturbaciones homeostáticas importantes como pueden ser la dificultad respiratoria, desequilibrio energético, deshidratación, dolor visceral o somático, e inflamación, responde a través de la coordinación de los dos ejes, el HHA y el sistema nervioso autónomo, simpático y parasimpático (Ulrich & Herman, 2009).

Dentro del eje HHA, el estrés activa las neuronas hipofisiotrópicas, segregadas en el hipotálamo y que a su vez secretan hormonas liberadoras como la hormona liberadora de corticotropina (CRH) y la arginina vasopresina (AVP) en la circulación.

Estas hormonas actúan promoviendo la secreción de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH), que a su vez actúa sobre la corteza suprarrenal interna para iniciar la síntesis y liberación de hormonas glucocorticoides. Los microorganismos que colonizan el tracto digestivo pueden participar en la regulación del eje HHA a través de la regulación de ácidos grasos de cadena corta y neurotransmisores, así como citoquinas (Clark & Mach, 2016).

La respuesta de estrés neuroendocrina al ejercicio, es producida no solo por el estrés emocional, sino también, por el volumen de exposición física, es decir, la intensidad y duración de dicho ejercicio. A medida que aumenta dicha intensidad, hay aumentos proporcionales en las concentraciones circulantes de ACTH y cortisol, existiendo un umbral crítico de intensidad de ejercicio que se debe alcanzar (50-60 % de la capacidad máxima de consumo de oxígeno, V_{O_2max}) antes de que los niveles circulantes de dichas hormonas aumenten en respuesta a dicho ejercicio (Luger et al., 1987; Brooks & Carter, 2013).

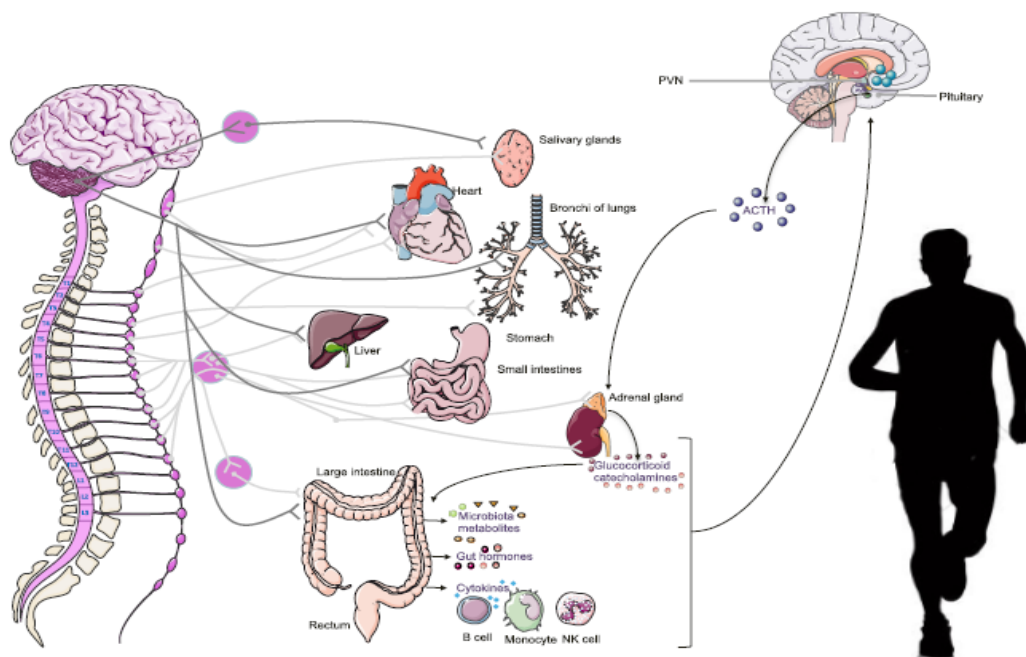


Figura 4. Hormonas de estrés secretadas durante el ejercicio físico intenso (adaptado de Clark & Mach, 2016)

Entre las enfermedades más comunes de los deportistas se aprecian síntomas en el tracto respiratorio, problemas gastrointestinales y deficiencias del sistema inmunitario. Modular una disbiosis de la microbiota intestinal con complementos nutricionales podría contribuir a mejorar la salud, así como a reducir las enfermedades o los síntomas, apoyando a su vez tratamientos ya establecidos, a través de ingredientes alimenticios específicos complejos en la dieta, así como la ingesta de microorganismos vivos particulares (Ceapa, Wopereis, Rezaïki, Kleerebezem, Knol & Oozeer, 2013; Colbey et al., 2018).

De acuerdo con Costa et al. (2018), se han propuesto varias intervenciones con complementos nutricionales para optimizar la integridad gastrointestinal y/o su función en respuesta al ejercicio en humanos. Se incluyen antioxidantes (ácido ascórbico, tocoferol), ciertos aminoácidos como la arginina o la glutamina, así como los probióticos. El uso de probióticos, prebióticos y simbióticos en la dieta se postula como una nueva estrategia para la mejora y efectos positivos en la salud de la población humana en general, así como de la población deportista (Bosscher et al., 2009).

Deportistas expuestos a entrenamientos de alta intensidad muestran una elevada incidencia en síntomas o problemas gastrointestinales, frecuentemente asociados con alteraciones en la permeabilidad intestinal, disminución de la función de la barrera gastrointestinal y respuestas sistémicas (por ejemplo, endotoxemia), denominado “síndrome gastrointestinal producido por el ejercicio” (Lampretch & Frauwallner, 2012; Costa et al., 2017; Snipe, Khoo, Kitic, Gibson & Costa, 2018). Tras la suplementación con probióticos se han observado diversos efectos sobre la estructura de la integridad gastrointestinal, la translocación de endotoxinas y la modulación inmune que, a su vez, podría tener un efecto consecuente en la mejora del rendimiento deportivo. Dichas reducciones en la permeabilidad intestinal podrían asociarse, además, a la disminución en los lipopolisacáridos circulantes, tanto en reposo como después del ejercicio, que pudiera justificar dichos beneficios. Sin embargo, dicho mecanismo de acción continúa sin estar muy claro en la literatura científica (Shing, Peake, Lim, Briskey, Walsh, Fortes & Vitteta, 2014).

En deportistas, otra observación común, son síntomas de infecciones respiratorias y deficiencias inmunitarias, que pudieran provocar un posterior detrimento de su rendimiento físico (Walsh et al., 2011; Gleeson & Williams, 2013). Una variable inmune que ha sido constantemente asociada con mayores incidencias en la aparición de infecciones, es la inmunoglobulina A en saliva (SIgA). Bajas concentraciones de IgA en saliva en deportistas o caídas transitorias sustanciales de dicha inmunoglobulina están asociadas con un mayor riesgo de padecer síntomas en las vías respiratorias superiores, siendo por ello, un anticuerpo crítico en la inmunidad de la mucosa (Neville, Gleeson & Folland, 2008).

De acuerdo a diversos estudios de la literatura científica (Clarke & Match, 2017; Pandey et al., 2015) se observan posibles efectos beneficiosos tras el consumo de prebióticos, simbióticos y probióticos (siendo estos los más estudiados) en población deportista, siendo algunos de estos beneficios la disminución en síntomas del tracto respiratorio y gastrointestinal, mejoras en parámetros del sistema inmunitario, influencias positivas en el huésped microbiano, así como un incremento en los niveles de antioxidantes, que podrían resultar, de forma indirecta, en mejoras en la eficiencia y rendimiento de los deportistas.

No obstante, se necesitan más trabajos que permitan obtener unas conclusiones más claras del efecto de estos complementos nutricionales en la salud de población deportista, debiendo unificar enfoques metodológicos, y evitar la interpretación parcial de los resultados, así como la necesidad de unificar estudios científicos que aborden unas dosis similares que permitan comparación. Entre ellas la dosis deportiva, conforme a volumen y tipo de ejercicio, y la dosis nutricional, en referencia a la cantidad, tiempo y tipo de cepas utilizadas (Quero, Ortega & Manonelles, 2020).

II – JUSTIFICACIÓN

II - JUSTIFICACIÓN

El intestino está formado por trillones de microorganismos, conocidos colectivamente con el nombre de microbiota intestinal, la cual juega un papel fundamental en muchos aspectos de la biología humana, incluyendo el metabolismo, así como en funciones endocrinas, nerviosas e inmunológicas (Clark & Mach, 2016). La perturbación de la microbiota intestinal, a consecuencia de ciertas circunstancias como la dieta, el estrés, el estilo de vida..., puede conducir a enfermedades crónicas tales como enfermedades autoinmunitarias, cáncer de colon, úlceras gástricas, enfermedades cardiovasculares, enfermedades funcionales del intestino y obesidad (Vyas & Ranganathan, 2012). Es por ello que la microbiota intestinal juega un rol fundamental en la salud humana.

Desde su introducción, los probióticos, prebióticos y simbióticos han atraído mucho la atención de los investigadores por su gran capacidad de mejorar la salud de las personas simplemente manteniendo la microbiota beneficiosa del tracto gastrointestinal humano. Estudios recientes en el uso de probióticos y prebióticos para la mejora de la salud, han introducido un nuevo término, los simbióticos, no siendo otra cosa que la sinergia entre probióticos y el efecto prebiótico en el tracto intestinal. Además, dicha combinación tiene efectos más beneficiosos sobre la salud humana que usando éstos por separado, ya que incrementa el número de bacterias beneficiosas y su supervivencia en el tracto intestinal (Bandyopadhyay & Mandal, 2014).

El producto simbiótico de Gasteel Plus® (Heel España S.A.U) tiene una composición única y sinérgica a cada perfil de paciente. Según sus especificaciones contribuye a un buen mantenimiento de la función intestinal, así como una adecuada absorción de alimentos principalmente en procesos inflamatorios intestinales, por la pérdida selectiva de bifidobacterias, con la consiguiente aparición de inflamación intestinal.

Gasteel Plus® tiene la siguiente composición de Probióticos: *Bifidobacterium lactis* CBP-001010, *Lactobacillus rhamnosus* CNCM I-4036, y el *Bifidobacterium longum* ES1; Prebióticos: Fructooligosacáridos; Otros componentes: zinc, selenio y vitamina D contribuyen al funcionamiento normal del sistema inmunitario (Laboratorios Heel España S.A.U., Heel Probiotics. Consultado en: <https://www.heel.es/es/home.html>).

Debido al considerable estrés al que se someten deportistas profesionales, así como la importancia de la dieta en la modulación de la composición de la microbiota intestinal (Collins & Gibson, 1999), se hace necesario el estudio de los procesos que intervienen en la liberación de mediadores de estrés, así como la respuesta en algunas citoquinas inflamatorias, que permitan diferenciar sobre el efecto de un simbiótico entre la población deportista y la sedentaria.

De hecho, también se puede especular que el deporte de competición, y el estrés inherente al mismo, podría incluso modificar los efectos de los simbióticos en las interacciones inmunoneuroendocrinas. En este contexto, se ha sugerido que la microbiota intestinal puede modular la interacción del eje hipotálamo-hipofisis-adrenal, así como la actividad excitatoria e inhibitoria de algunos neurotransmisores (serotonina, ácido gamma-aminobutírico o GABA, y dopamina) y sustancias similares a los neurotransmisores, especialmente en respuesta al estrés físico y emocional (Clarke et al, 2014; Clark & Mach, 2016). Dada la estrecha relación bidireccional entre el sistema neuroendocrino y el sistema inmunitario, modificaciones en la neuromodulación inducidas por el consumo del simbiótico podrían constituir un mecanismo de efectividad de la mejora del sistema inmunitario, y por tanto de la salud, subyacente al consumo de estos suplementos nutricionales, con particular importancia práctica en los deportistas.

Por otro lado, algunos de los causantes del sobrepeso y la obesidad son la genética y el estilo de vida. Es por ello que, cambios en el estilo de vida y en la dieta a través del consumo de complementos probióticos y prebióticos podrían ser una nueva herramienta para la mejora de dichos trastornos metabólicos, todo ello a través de la posible modificación del microbioma (genes de la microbiota) (Barengolts, 2016).

Debido a la gran interacción que existe entre el “eje intestino-cerebro” sobre algunos parámetros como el estrés, la actividad física y la dieta, el objetivo general de este estudio se justifica por una parte al reconocer las respuestas inmunoneuroendocrinas inducidas por el ejercicio en deportistas y, por otra, al resaltar el papel que dicha interacción produce al influir en las funciones metabólicas, neuroendocrinas e inmunitarias del hospedador en personas sedentarias.

Además, se debe resaltar aquí la escasez de investigaciones que analizan los posibles mecanismos de acción atribuidos a los diversos beneficios que el consumo de probióticos, prebióticos y simbióticos parecen inducir sobre la salud, observando en la mayoría de los estudios unas conclusiones más conceptuales que directamente experimentales. Este hecho justifica aún más la presente investigación, contribuyendo en este caso a tratar de conocer los mecanismos de efectividad inmunoneuroendocrinos de los beneficios ya reportados en la salud del simbiótico objeto de estudio.

III - OBJETIVOS

III - OBJETIVOS

- El objetivo principal de la siguiente investigación ha sido identificar el efecto del complemento nutricional Gasteel Plus® y sus posibles diferencias en población deportista y sedentaria respecto a parámetros neuroinmunoendocrinos y en relación a las características metabólicas, antropométricas, de actividad física cotidianas y calidad de sueño asociadas a la salud y al rendimiento deportivo.
- Para la consecución de este objetivo principal se llevaron a cabo los siguientes subobjetivos parciales:
 - A. Evaluar la influencia del simbiótico en la composición corporal determinada a través de técnicas de antropometría.
 - B. Evaluar la influencia del simbiótico en los niveles de actividad física y sueño a través de su determinación por técnicas de acelerometría.
 - C. Evaluar la influencia del simbiótico sobre el rendimiento y valoración de la condición cardíaca a través del estudio de la variabilidad de la frecuencia cardíaca en reposo.
 - D. Evaluar la influencia del simbiótico en los niveles de estrés, ansiedad, fatiga y calidad de vida y sueño percibidos a través de cuestionarios científicamente validados.

- E. Evaluar la influencia del simbiótico en las variaciones del estado metabólico a través de la determinación del perfil lipídico y glucémico.
- F. Evaluar las variaciones en el perfil neuroinmunoendocrino, determinando la concentración sistémica de citoquinas involucradas en la respuesta inflamatoria, así como diferentes mediadores de estrés y ansiedad relativos al funcionamiento del eje hipotálamo-hipófisis-adrenal y del sistema nervioso simpático; todo ello como biomarcadores inmunofisiológicos objetivos de los potenciales efectos del simbiótico.
- G. Evaluar potenciales variaciones en el sistema inmunitario asociados a potenciales cambios en la microbiota intestinal inducidos por el simbiótico a través de la valoración de la inmunoglobulina A (SIgA) en saliva.

IV - MATERIALES Y MÉTODOS

IV - MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 MATERIALES

4.1.1 Aparatos y equipos instrumentales

- Acelerómetro (Actigraph wGT3X – BT) y software Actilife 6.
- Pulsómetros (POLAR H7) y software Kubios HRV 3.0.
- Smartphone y ordenador portátil (BQ Compaq 610).
- Equipo instrumental de antropometría (Váscula digital SECA 862 (Alemania), antropómetro GPM (Siber-Hegner, Suiza), cinta metálica no extensible Lufkin (EE.UU) y plicómetro Harpenden (Reino Unido).
- Agitador BasicMagMix (OVAN).
- Refrigerador (Liebherr medline Lkv 3910).
- Arcón Congelador de – 80°C (REVCO mod. ULTI 3856 – 5 V40).
- Autoanalizador ELISA para cuantificar la intensidad de color (Sunrise TECAN).
- Analizador automático de química clínica BA400 (BIOSYSTEMS).
- Centrifuga refrigerada (KUBOTA mod.5800).
- Lavador de placas ELISA (Hydroflex TECAN).
- Luminex 200 System.
- Vórtex (Heiodolph).

4.1.2 Material de laboratorio

- Guantes de vinilo.
- Papel de filtro.
- Bata de protección frente derrames y salpicaduras.
- Kit de extracción de sangre (compresor, agujas, vacutainer, esparadrapo, algodón, alcohol).
- Jeringas estériles 5 ml.
- Hisopos estériles.
- Micropipetas semiautomáticas de 1.000µl, 200µl y 10µl (HT, mod. LABMATE).
- Micropipeta semiautomática multicanal 200µl (HT, mod. LABMATE).
- Pipeta repetidora capaz de dispensar 25µl, 50µl y 100µl (HT, mod. LABMATE).
- Pipetas Pasteur estériles.
- Puntas para pipetas.
- Tubos de extracción de sangre con EDTA – K2.
- Tubos de extracción de sangre con agentes coagulantes y gel para separar el suero.
- Tubos Eppendorf.
- Crioviales para almacenaje de muestras.
- Gradillas para tubos de extracción sanguínea y para eppendorf.
- Cajas de criomacénaje.
- Receptáculo para desecho de material biológico.
- Vasos de precipitado y matraces.
- Marcadores y bolígrafos.

4.1.3 Material biológico y reactivos

4.1.3.1 Composición del complemento alimenticio Gasteel Plus® y del placebo:

El simbiótico Gasteel Plus® (**Laboratorios Heel España S.A.U.**) es un complemento nutricional que contiene zinc, selenio y vitamina D que ayudan a la mejora del sistema inmunitario, así como a la protección de las células frente al estrés oxidativo y al funcionamiento normal de los huesos. También contiene una mezcla de *Bifidobacterium lactis* CBP-001010, *Lactobacillus rhamnosus* CNCM I-4036, *Bifidobacterium longum* ES1 y fructooligosacáridos, así como maltodextrinas. El placebo, también suministrado por Laboratorios Heel, se compuso del mismo excipiente del producto, compuesto por 3 gramos de maltodextrina, no pudiendo diferenciarse del simbiótico debido a que tenían el mismo aspecto y eran incoloros e insípidos.

Figura 5. Composición del simbiótico Gasteel Plus® y cantidad apotada por dosis diaria recomendada (Laboratorios Heel España S.A.U.)

| | |
|--|--------------------------|
| <i>Bifidobacterium longum</i> ES1, <i>Bifidobacterium lactis</i> CBP-001010 Y <i>Lactobacillus rhamnosus</i> CNCM I-4036 | ≥ 1×10 ⁹ UCF* |
| Fructooligosacáridos | 200 mg* |
| Zinc | 1,5 mg (15% del VRN**) |
| Selenio | 8,25 µg (15% del VRN**) |
| Vitamina D | 0,75 µg (15% del VRN**) |

*No se han establecido Valores de Referencia de Nutrientes. **VRN: Valores de Referencia de Nutrientes para adultos.

Durante el tiempo de la intervención, se recomendó la ingesta de un stick al día disuelto en agua, y preferiblemente por la mañana. Además, se aconsejó que dicho complemento nunca fuera sustitutivo de la dieta equilibrada que ya siguieran los participantes. Las cajas, tanto del simbiótico como del placebo, presentaban el mismo aspecto y no ofrecían detalles del producto, estando codificadas para poder distinguirse posteriormente. Cada caja contenía 30 sticks para los 30 días del tratamiento.

4.1.3.2 Juego de reactivo del kit *ProcartaPlex™ Multiplex Immunoassay* para el análisis mediante BioPlex 200 system (Luminex) de la concentración de las citoquinas IL-1 β , TNF- α , IL6, IL10 e IL8:

1. Placa de fondo plano de 96 pocillos.
2. Estándares de antígeno premezclados.
3. Detección de anticuerpo (50X).
4. Perlas magnéticas, paneles premezclados (1X). Contiene azida de sodio.
5. Solución conjugada competitiva (50X).
6. Streptavidin-PE (SAPE) (1X).
7. Concentrado de tampón de lavado (10X).
8. Detección de diluyente de anticuerpos.
9. Tampón de ensayo universal (1X).
10. Tampón de lectura.
11. Tubo de PCR de 8 tiras.
12. Tapa de microplaca negra
13. Sellador de placa.

4.1.3.3 Juego de reactivo del kit *Salivary Secretory IgA (indirect enzyme immunoassay kit)* para el análisis mediante ELISA de la concentración en saliva de Inmunoglobulina A (sIgA):

1. Placa de microtitulación. Recubierto con SIgA humano altamente purificado (1 placa de 96 pocillos).
2. Estándar SIgA. 600 $\mu\text{g/mL}$, en una matriz similar a la saliva y diluido en serie antes de su uso, de acuerdo a la preparación de reactivos. Contiene SIgA humano altamente purificado, tampón, preservativo (1 vial de 100 μL).
3. Controles SIgA. Alto, bajo, en una matriz similar a la saliva. Listo para usar (2 viales de 50 μL cada uno).
4. Conjugado enzimático de anticuerpos SIgA concentrado (5X). Contiene SIgA antihumano de cabra conjugado con HRP (peroxidasa de rábano picante), preservativo (1 vial de 50 μL).
5. Concentrado de diluyente SIgA (5X). Contiene tampón fosfato, conservante (1 bote de 50 mL).
6. Concentrado de tampón de lavado (10X). Contiene tampón fosfato, detergente, conservante (1 bote de 100 mL).
7. Solución de sustrato TMB (1 bote de 25 mL).
8. Detención de la solución (1 bote de 12,5 mL).
9. Cubiertas adhesivas de placa (2 unidades).

4.1.3.4 Juego de reactivo del kit *General Epinephrine (EPI) RD-EPI-Ge-96T* y *General Noradrenaline (NE) RD-NE-Ge-96T* para el análisis mediante ELISA de la concentración sérica de las catecolaminas sistémicas: Epinefrina y Norepinefrina

1. Placa de 96 pocillos.
2. Estándar.
3. Reactivo de detección A (70 μ L).
4. Reactivo de detección B (120 μ L).
5. Tampón de dilución (45 mL).
6. Tampón de lavado (30X).
7. Sustrato TMB.
8. Solución de parada.
9. Sellador de placa.

4.1.3.5 Juego de reactivo del kit *Dopamine Research* para el análisis mediante ELISA de la concentración sérica de la catecolamina sistémica: Dopamina

1. Placa de microtitulación de 96 pocillos.
2. Conjugado enzimático, inmunoglobulinas anti-conejo de cabra, conjugadas con peroxidasa.
3. Tampón de lavado concentrado (50X), con un detergente no iónico y pH fisiológico.

4. Substrato, Sustrato cromogénico que contiene tetrametilbencidina, tampón de sustrato e hidrógeno peróxido.
5. Solución de parada.
6. Tiras de microtitulación de dopamina.
7. Antisuero de dopamina.
8. Tampón de ajuste.
9. Tampón TRIS-EDTA.
10. Controles y estándares. Tampón ácido con estabilizador sin mercurio, enriquecido con una cantidad definida de dopamina
11. Tampón de acilación.
12. Reagente de acilación.
13. Coenzima S-adenosil-L-metionina.
14. Enzima Catecol-O-metiltransferasa.
15. Placa de extracción, placas de 48 pocillos recubiertas con un gel de afinidad de boronato.
16. Ácido clorhídrico.

4.1.3.6 Juego de reactivo del kit *General 5-Hydroxytryptamine (5-HT) RD-5-HT-Ge* para el análisis mediante ELISA de la concentración sérica de la serotonina

1. Placa de 96 pocillos.
2. Estándar.
3. Reactivo de detección A (70 μ L).
4. Reactivo de detección B (120 μ L).
5. Tampón de dilución (45 mL).
6. Tampón de lavado (30X).
7. Sustrato TMB.
8. Solución de parada.
9. Sellador de placa.

4.1.3.7 Juego de reactivo *Human Corticotropin Releasing Hormone (CRH) RD-CRH-Hu* para el análisis mediante ELISA de la concentración sérica de la hormona liberadora de corticotropina (CRH)

1. Placa de 96 pocillos.
2. Estándar.
3. Reactivo de detección A (70 μ L).
4. Reactivo de detección B (120 μ L).
5. Tampón de dilución (45 mL).

6. Tampón de lavado (30X).
7. Sustrato TMB.
8. Solución de parada.
9. Sellador de placa.

4.1.3.8 Juego de reactivo para el análisis mediante ELISA de la concentración sérica de cortisol (*The DetectX Cortisol Immunoassay Kit*)

1. Placa de 96 pocillos con revestimiento transparente. Cada una está recubierta con IgG de cabra anti-ratón.
2. Estándar de Cortisol, a 32.000 pg/ml en una solución estabilizadora especial.
3. Cortisol anticuerpo monoclonal de ratón específico para el cortisol.
4. Conjugado de cortisol-peroxidasa en una solución estabilizadora especial.
5. Buffer de ensayo concentrado (5X), debe ser diluido con agua destilada.
6. Reactivo de disociación, para utilizar con muestras de suero o plasma.
7. Tampón de lavado concentrado (20X), debe ser diluido también con agua destilada.
8. Sustrato TMB.
9. Solución de parada, 1M de ácido hidroclorehídrico.
10. Sellador de placas.

4.2 MÉTODOS

4.2.1 Población de estudio y diseño experimental

La presente tesis doctoral se llevó a cabo a través de un estudio experimental, cuya muestra estaba formada por un total de 28 participantes varones, de los cuales, 14 eran futbolistas profesionales de un nivel de segunda división B de la liga nacional española, así como 14 estudiantes sedentarios con niveles bajos de actividad física (≤ 150 minutos/semana). Estos dos grupos, a su vez, se subdividieron aleatoriamente, para completar el estudio a triple ciego, en un grupo administrado con el simbiótico y un grupo control, que recibió placebo. A lo largo del protocolo se produjo una "muerte experimental" debido a una lesión en uno de los participantes deportistas, quedando una muestra final de 27 participantes. Ni el administrador del producto ni los participantes conocían si pertenecían al grupo placebo o experimental con simbiótico. En la tabla 4 se muestran los datos descriptivos basales de los participantes.

| Tabla 4. Datos descriptivos de los participantes | | | | |
|--|-----------------------|--------------------------|-----------------------|--------------------------|
| | Sedentario Placebo | Sedentario Simbiótico | Deportista Placebo | Deportista Simbiótico |
| n | 7 | 7 | 6 | 7 |
| Edad (años) | 24,31 \pm 3,94 | 23,04 \pm 2,09 | 21,9 \pm 2,77 | 20,66 \pm 1,39 |
| Peso (Kg) | 79,81 \pm 8,05 | 77,47 \pm 13,47 | 73,95 \pm 6,42 | 70,57 \pm 6,75 |
| Talla (cm) | 183,97 \pm 7,30 | 176,23 \pm 4,49 | 180,6 \pm 8,57 | 178,23 \pm 4,78 |

Los resultados se muestran mediante la media \pm desviación típica

Los participantes en el estudio no podían presentar enfermedad y/o lesión durante el momento de las valoraciones. De este mismo modo, quedaron excluidos de la investigación aquellos que estaban siguiendo tratamientos farmacológicos o dietas alimentarias específicas que pudieran interferir en el estudio, especialmente que consumieran algún tipo de producto con probióticos. Todos ellos participaron voluntariamente en este estudio y firmaron un consentimiento informado (Anexo 2) antes del inicio de las pruebas. El presente

estudio fue previamente aprobado por el comité de ética de la Universidad Católica San Antonio de Murcia, siguiendo la legislación vigente.

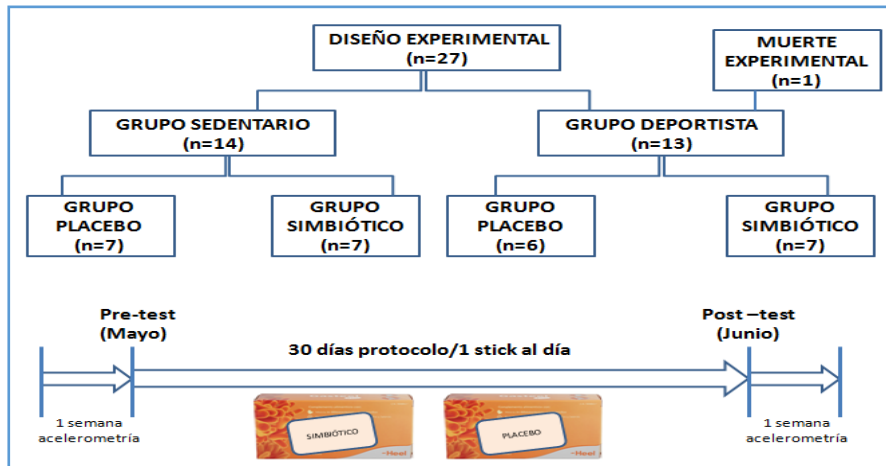


Figura 6. Diagrama de población y diseño experimental de la investigación

A lo largo de dos días (“pre-test y post-test”), todos los participantes realizaron, en ayuno, una serie de pruebas. El orden y horario de dichas pruebas no varió para el “post-test”, usando los mismos materiales y procedimientos, trascurriendo un periodo de 30 días consecutivos entre cada prueba. El tratamiento se llevó a cabo durante la última quincena del mes de mayo de 2019 y la primera del mes de junio de este mismo año, coincidiendo en ambos sujetos con situaciones de posible estrés físico y mental, siendo al final de un periodo de exámenes, así como el final de la temporada de fútbol. En la figura 6 se muestra el diagrama de población y diseño experimental llevados a cabo.

Las pruebas de variabilidad de la frecuencia cardíaca se realizaron antes de la recogida de muestras, con reposo total de los participantes y posteriormente se realizaron las mediciones antropométricas. Tras ello, se procedió a la recogida de muestras de saliva y sangre, en este mismo orden. Los acelerómetros, que llevaron durante un periodo de 7 días de registro (en días consecutivos), fueron distribuidos una semana previa a la realización de las pruebas basales y otra semana posterior a las pruebas “post”. Los cuestionarios se rellenaron dos veces, el día de las pruebas basales y el día de las pruebas finales. Además, a cada sujeto

se le asignó un código (sedentario o deportista), así como a cada una de las pruebas (acelerometría, variabilidad FC, antropometría, muestras saliva y sangre, y cuestionarios) en función de cuando se realizaron (basal o post) y en función del tratamiento con el que cada sujeto fue administrado (placebo o simbiótico). Dichos códigos, y por tanto las muestras, no permitían conocer tampoco al investigador el grupo de pertenencia durante la determinación de las variables experimentales y el procesamiento de las mismas; completando así el estudio a triple ciego.

4.2.2 Toma y recogidas de muestras biológicas

Para llevar a cabo la extracción sanguínea, una persona cualificada, practicó una punción estéril en la vena cubito mediana con los participantes en posición de sentado. Se rellenaron cuatro tubos estériles por voluntario, dos con EDTA, para aislar el plasma, y dos con agentes coagulantes y gel para separar el suero. Transcurridos 20 minutos de la extracción (en el caso del suero, imprescindible para facilitar la formación del coágulo), se centrifugaron ambos tubos durante 10 minutos a 1.600 y 1.800 rpm, respectivamente, a 4 °C. Gracias a este proceso se aísla el suero y el plasma en los tubos correspondientes y, posteriormente, se alicuotaron en tubos Eppendorf con un volumen total de 400 µl en cada uno de ellos. Las muestras de suero y plasma fueron codificadas y refrigeradas a -20°C gradualmente a medida que se fueron obteniendo, hasta conservarlas finalmente a -80°C en un arcón congelador.

Las muestras de saliva fueron obtenidas mediante un método no invasivo (*Collection methods salivaBio Oral swab*, Salimetrics). De forma previa a la recogida de muestras se pidió a los participantes que no ingirieran ningún tipo de comida o bebida con azúcares, alcohol y/o cafeína, así como tabaco, al menos 12 horas previas a las pruebas. También se les pidió que no se cepillaran los dientes al menos 60 minutos previos y que, al menos, 10 minutos antes de la recogida de muestras, se enjuagasen la boca con agua para retirar cualquier posible resto de comida en la boca. Posteriormente, se les pidió a los voluntarios que abrieran el embalaje y retiraran el hisopo estéril para su colocación adecuada en la boca,

debajo de la lengua y se les recomendó que lo mantuvieran durante al menos 2 minutos, para no influir en la cantidad de volumen de la muestra, así como en la composición de los analitos de dicha muestra.

Para extraer la muestra de saliva de los hisopos, se utilizó un método de compresión con la ayuda de una jeringa estéril de 5cc, extrayendo la máxima cantidad posible de saliva que iba siendo depositada en unos crioviales, previamente codificados, hasta conseguir un volumen de aproximadamente 50 μ l de cada una de las muestras. Inmediatamente después de su extracción, todas las muestras eran refrigeradas a -20°C , y, finalmente, ser congeladas a -80°C hasta su posterior análisis.

4.2.3. Mediciones antropométricas

Todas las medidas antropométricas fueron tomadas por dos antropometristas, nivel 1 y 2, siguiendo los procedimientos de la Sociedad Internacional para el avance de la cineantropometría (ISAK).

Se determinó la masa corporal (kg) utilizando una báscula digital SECA 862 (Alemania), altura (cm) con un antropómetro GPM (Siber-Hegner, Suiza), circunferencias (cm) con una cinta metálica no extensible Lufkin (EE.UU) y grosor de los pliegues (mm), medidos en 8 sitios: tríceps, subescapular, bíceps, cresta ilíaca, supraespinal, abdomen, muslo y pierna medial, con plicómetro Harpenden (Reino Unido).

La ecuación que se utilizó para el cálculo del índice de masa corporal (IMC) fue la división del peso corporal (kg) entre la talla (m) al cuadrado. El porcentaje de masa muscular se analizó mediante la fórmula antropométrica descrita por Lee et al. (2000) y en el que el porcentaje de masa grasa fue estimado de acuerdo a la ecuación de Whithers et al. (1987). Para evitar errores, todos los instrumentos fueron calibrados previamente a la realización de las medidas. Cada variable fue tomada dos, o tres veces, si la diferencia entre las dos primeras medidas era mayor del 5% para los pliegues, y mayor de un 1% para el resto de

las variables registradas, con el uso de valores medios o mediana, para su posterior análisis estadístico. Todas las medidas fueron registradas en una hoja de cálculo Excel.

4.2.4. Determinación objetiva de los niveles de actividad física, sedentarismo y sueño: acelerometría

El acelerómetro que se utilizó fue el Actigraph wGT3X – BT, que es un pequeño y ligero acelerómetro triaxial (4,6 x 3,3 x 1,5 cm, 19 g) con una frecuencia de respuesta de 30 a 100 hercios. Dicho monitor de actividad es bastante conocido entre investigadores de todo el mundo por su gran precisión y facilidad de uso. Este dispositivo se utilizó para medir diferentes parámetros como son la actividad física y su intensidad, el gasto energético, los ritmos METs (equivalentes metabólicos), los pasos, los golpes de sedentarismo, la latencia y la eficiencia del sueño y el nivel de luz ambiental recibida, entre otros. Los participantes llevaron el acelerómetro sujeto con una banda elástica en la muñeca no dominante durante 7 días consecutivos y de manera ininterrumpida, exceptuando aquellos momentos del día, en los que el funcionamiento correcto de dicho aparato se pudiese ver comprometido (duchas o cualquier actividad relacionada con el agua).

Posteriormente, los archivos generados por el acelerómetro, fueron analizados a través de un software específico denominado Actilife 6. El análisis a través de este software también permitió conocer los niveles de intensidad de la actividad en METs (que se definen como la tasa metabólica en reposo de aproximadamente 3,5 ml O₂/kg/min) siguiendo el algoritmo de Freedson para adultos (Freedson, Melanson & Sirad, 1998) y el tiempo promedio total que los participantes habían destinado a actividades vigorosas (>6METs), moderadas (3 – 6 METs) y ligeras (1,5 – 3 METs) (Crespo-Salgado, Delgado-Martín, Blanco-Iglesias & Aldecoa-Landesa, 2014), además del número de pasos totales e información sobre la eficiencia y las horas de sueño, así como el tiempo de luz ambiental recibida a lo largo de la semana de medición.

Dicho modelo de acelerómetro registra el cambio de aceleración del centro de masas en 3 planos o ejes de movimiento (x, y, z) y lo convierte en una señal digital cuantificable denominada “counts”, por tanto los “counts” son unidades de movimiento y cada registro de “count” es sumado y guardado en la memoria del acelerómetro en un intervalo de tiempo configurable denominado “epoch” (Santos, 2013).

En nuestro caso, utilizamos un periodo de tiempo o “epoch” de 60 segundos, en los cuales se producía un almacenamiento de datos, así pues a través de los “epoch”, pudimos obtener medidas cuantitativas de la actividad física, así como de los “golpes de sedentarismo”, cuando el acelerómetro no recogía ninguna actividad.

4.2.5. Estudio de la variabilidad de la frecuencia cardiaca en reposo

La frecuencia cardiaca (FC) es uno de los parámetros no invasivos más utilizados en el análisis y en la valoración de la actividad cardiaca. En este estudio se analizó dicho parámetro para complementar información relevante de la condición física, en este caso, cardiovascular, y poder descartar cualquier tipo de anomalía que pudiera inferir en el proyecto. Los participantes se colocaron un pulsómetro Polar H7 (Kempele, Finlandia) con una banda situada en la cavidad torácica, por debajo del pectoral.

Los voluntarios se tumbaron en posición decúbito supino en un lugar tranquilo y sin ruidos, durante los 5 minutos de la medición registrada, y, 5 minutos previos, para estabilizar la frecuencia cardíaca en reposo. Las series temporales RR se registraron a través de un Smartphone a través de la aplicación *Elite HRV* (Perrotta, Jekkin, Hives, Meanwell & Warburton, 2017) para posteriormente extraer los datos de los intervalos RR. Los análisis posteriores se realizaron con el software Kubios HRV versión 3.0 (Tarvainen, Niskanen, Lipponen, Ranta-Aho, Karjalainen, 2014) el cual proporcionó información cuantitativa sobre las señales biomédicas utilizadas comúnmente en la evaluación objetiva de la salud humana, el bienestar y el rendimiento. Debido a la gran cantidad de datos obtenidos en el software, se escogieron aquellas variables

que aportaban información relevante en referencia a esta tesis doctoral, es por ello que los parámetros estudiados fueron:

1. RR: periodo medio de intervalos entre latidos consecutivos.
2. RMSDD: raíz cuadrada de la media de la suma de las diferencias al cuadrado de intervalos RR consecutivos.
3. Hf_{ln} : potencia de alta frecuencia en base a su logaritmo natural, dentro del análisis del dominio de frecuencias.
4. SS: índice de estrés.
5. S/PS: ratio simpático/parasimpático.

4.2.6. Determinación de los niveles de salud, estrés, ansiedad, sueño y calidad de vida percibidos

En este estudio se llevó a cabo la determinación de los niveles de salud, estrés, ansiedad, sueño, fatiga y calidad de vida percibidos por los participantes, mediante una evaluación comparativa, previa y posterior al tratamiento, a través de cuestionarios validados (Anexo 1). Entre ellos se interpretaron los siguientes:

1. Cuestionario SF-36 (Calidad de vida relacionada con la salud):

Consiste en una escala genérica que proporciona unos resultados acerca del estado de salud de una población general de mayor a 14 años. Está formado por 36 preguntas (ítems) cubriendo 8 escalas que son: función física, rol físico, dolor corporal, salud general, vitalidad, función social rol emocional y salud mental (Vilagut, Ferrer, Rajmil, Rebollo, Permanyer-Miralda, Quintana & Alonso, 2005). Las escalas están ordenadas de forma que a mayor puntuación, mejor es el estado de salud (0 a 100). Para el cálculo de las puntuaciones, después de la administración de los cuestionarios, se incluyeron los datos en un software web (SF-36-flash-datos-graf, Universidad de Granada) que realizaba los cálculos de forma automática y generando la puntuación de cada una de las escalas y del cuestionario general.

2. Cuestionario de calidad de vida y control personal (HLPCQ) y calidad del sueño:

Este cuestionario conocido como el HLPCQ (*Healthy Lifestyle and Personal Control Questionnaire*), tiene el principal objetivo de gestionar el estrés y promocionar la salud mediante la capacitación de las personas a llevar el control de sus vidas. Está formado por 26 ítems en total usando una escala tipo Likert (1= nunca o raramente, 2 = a veces, 3 = a menudo y 4 = siempre), y divididos en cinco factores: opciones alimenticias saludables, evitar daños en la dieta, rutina diaria, ejercicio físico organizado y equilibrio social y mental (Darviri, Alexopoulos, Artemiadis, Tigani, Kraniotou, Darvyri & Chrousos, 2014). La puntuación total, fue hallada mediante el sumatorio de los valores que se obtuvieron en los diferentes campos, anteriormente mencionados; puntuaciones más altas indican una mejor calidad de vida y control personal.

La calidad del sueño se evaluó mediante una serie de preguntas que se encuentran en el cuestionario ya descrito anteriormente, el HLPCQ, con respuestas posibles entre el 0 y el 4. El total de la puntuación se calculó sumando todas las respuestas (mínimo -1, máximo 10); puntuaciones más altas indican una mejor calidad del sueño.

3. STAI- Ansiedad-rasgo (AR) y Ansiedad-estado (AE):

Dicho cuestionario analiza el grado de ansiedad que muestra cada participante. Está dividido en dos partes, ansiedad-rasgo (lo que sentían habitualmente o en general) y ansiedad-estado (expresan sus emociones en su momento determinado o en ese mismo instante). El cuestionario está formado por 40 ítems, 20 para cada una de las subescalas. El sistema o escala de puntuación va de 0 a 3 (0=Nada, 1=Algo, 2=Bastante y 3=Mucho). Para obtener los resultados finales se sumaron cada uno de los ítems, en el cual, puntuaciones más altas indican un mayor estado de ansiedad (Spielberger, Gorsuch, Lushene & Cubero, 1999).

4. Escala de estrés percibido (PSS):

Dicho cuestionario permitió valorar, la frecuencia con la que los individuos habían experimentado ciertos sentimientos y pensamientos en el último mes. Con ello se determinó el número de situaciones, consideradas estresantes, que se producían durante ese mes en la vida del individuo (Cohen, Kamarck & Mermelstein, 1983).

Para desarrollar este método, se les planteó en el propio cuestionario una serie de preguntas, separados en 14 ítems o apartados, cuyas respuestas consistía en una valoración que oscilaba entre 0 y 4 puntos, dentro de una escala tipo Likert (0=Nunca, 1=Casi Nunca, 2=De vez en cuando, 3=A menudo y 4=Muy a menudo). La puntuación total se obtenía sumando cada ítem y teniendo en cuenta, que las puntuaciones de los ítems 4, 5, 6, 7, 9, 10 y 13, se invierten de la siguiente manera: 0=4, 1=3, 2=2, 3=1 y 4=0, la mínima puntuación que se podía obtener es 0, mientras que la máxima puntuación sería 56, así pues a medida que aumentaba la puntuación, se consideraba que mayor era el nivel de estrés percibido (Remor, 2006).

5. Fatiga percibida (BFI):

Con este parámetro se evaluaron los niveles de cansancio físico y/o mental que habían experimentado durante las últimas 24 horas y en el momento de la cumplimentación del cuestionario. El cuestionario constaba de 4 preguntas con 10 respuestas posibles, cada una las cuales tenían un valor que podían oscilar entre 0 (0=ninguna fatiga) y 10 (10=la peor fatiga que se pueda imaginar). La puntuación total se obtenía sumando los valores de dichas respuestas y los valores más altos, se correspondían con un mayor grado de fatiga. Para establecer un grado de severidad en la fatiga se utilizó la siguiente clasificación de Mendoza, Wang, Cleeland, Morrissey, Johnson, Wendt & Huber, 1999:

- Con una puntuación entre 1 y 3= leve
- Con una puntuación entre 4 y 6= moderada
- Con una puntuación entre 7 y 10= severa

6. Inventario depresión de Beck (BDI):

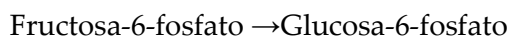
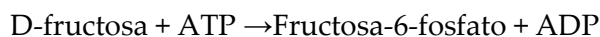
Este cuestionario fue utilizado para conocer cómo se habían sentido durante la última semana, incluyendo el día de la realización del test, con el cual, se pudo determinar si presentaban o no signos de depresión. El test estaba estructurado en 21 ítems con 4 respuestas cada uno y dichas respuestas venían dadas con valores numéricos comprendidos dentro de una escala que iba de 0 a 3 (0=nada de depresión y 1= bastante). La puntuación total se obtenía sumando las puntuaciones de todas las respuestas y se compararon con los valores de referencia, que a continuación se muestran (Beck, Ward, Mendelson, Mock & Erbaugh, 1961):

- Si el sumatorio es inferior a 10 (media 10,9): ausente o mínima.
- Si el sumatorio está entre 10 y 19 (media 18,7): leve
- Si el sumatorio es superior a 20 (media 25,4): moderada.
- Si el sumatorio es superior a 30 (media 30): grave.

4.3 DETERMINACIONES METABÓLICAS Y TÉCNICAS DE LABORATORIO

4.3.1. Perfil lipídico y glucémico

Las determinaciones para la obtención del perfil lipídico y glucémico se realizaron con el analizador automático de química clínica BA 400 (*BioSystems*) en los laboratorios SYNLAB Diagnósticos Globales S.A.U. de Badajoz. Dicho analizador tiene un sistema óptico basado en LED con ocho longitudes de onda de trabajo para lecturas espectrofotométricas, es decir, para medir cuanta luz absorbe una sustancia química. Para llevar a cabo la medición de las muestras de glucosa se utilizó el método glucosas oxidasa/peroxidasa, en el que la D-fructosa y la D-glucosa presentes en la muestra, generan, mediante la reacción descrita, NADPH, nicotinamida adenina dinucleótido fosfato, que puede ser medido por espectrofotometría. La configuración de estos reactivos permite la determinación de D-glucosa/D-fructosa si se adiciona la enzima PGI o de D-glucosa si no se adiciona.



Para llevar a cabo la determinación del perfil lipídico, colesterol y triglicéridos, se utilizó el mismo procedimiento, según el método colesterol oxidasa/peroxidasa y el método glicerol fosfato oxidasa/peroxidasa, respectivamente. Para ello, tanto el colesterol libre y los triglicéridos como el esterificado en la muestra crean, según una serie de reacciones acopladas, un complejo coloreado que se cuantifica mediante espectrofotometría. El colesterol de las proteínas de baja densidad (LDL), las de muy baja densidad (VLDL) y los quilomicrones son hidrolizados mediante el colesterol oxidasa mediante una reacción enzimática no formadora de color. El detergente presente en el reactivo B solubiliza el colesterol de las lipoproteínas de alta densidad (HDL) de la muestra. El colesterol de HDL se cuantifica espectrofotométricamente mediante unas reacciones acopladas.

4.4 DETERMINACIÓN DE BIOMARCADORES INMUNITARIOS/INFLAMATORIOS Y TÉCNICAS DE LABORATORIO

4.4.1. Determinación de las citoquinas de la respuesta inflamatoria: IL1 β , TNF α , IL8, IL10, IL6

Para la determinación de las diversas citoquinas estudiadas se utilizó un instrumento basado en citometría de flujo, a través del instrumento *Luminex™ 200 System* (Luminex Corporation, Texas, EEUU), capaz de realizar hasta 80 pruebas diferentes en un solo volumen de reacción. Se utilizó el kit de inmunoensayo *ProcartaPlex™ Multiplex Immunoassay* (ThermoFischer Scientific, Austria). Dichos análisis fueron llevados a cabo en el Servicio de Apoyo a la Investigación Biomédica (STAB) de la Universidad de Extremadura.

Dicho ensayo consiste en una tecnología sencilla, compuesta por un conjunto de bolas con un código y un color diferente previamente asignado a cada una de ellas y situadas sobre una placa de 96 pocillos (en la figura 5 se muestra un ejemplo del posible diseño de la placa). Cada tipo de bola se conjuga con un reactivo diferente, específico para cada analito de interés, y así, permitiendo analizar de forma simultánea diversos analitos. El protocolo comienza con la preparación de los anticuerpos estándares y posteriormente, la dilución y la inclusión de las microesferas o bolas. Se realiza un paso previo de incubación y lavado y posteriormente se añade el conjugado de detección de anticuerpo y el conjugado de la proteína estreptavidina-PE. Entre todo, se realizan lavados e incubaciones con movimiento y en oscuridad. Finalmente, los datos son leídos y analizados en el *Luminex™ 200*.

| Standards | | Samples | | | | | | | | | |
|-----------|-------|---------|---|----|----|----|----|----|----|----|----|
| 1 | 1 | 1 | 1 | 9 | 9 | 17 | 17 | 25 | 25 | 33 | 33 |
| 2 | 2 | 2 | 2 | 10 | 10 | 18 | 18 | 26 | 26 | 34 | 34 |
| 3 | 3 | 3 | 3 | 11 | 11 | 19 | 19 | 27 | 27 | 35 | 35 |
| 4 | 4 | 4 | 4 | 12 | 12 | 20 | 20 | 28 | 28 | 36 | 36 |
| 5 | 5 | 5 | 5 | 13 | 13 | 21 | 21 | 29 | 29 | 37 | 37 |
| 6 | 6 | 6 | 6 | 14 | 14 | 22 | 22 | 30 | 30 | 38 | 38 |
| 7 | 7 | 7 | 7 | 15 | 15 | 23 | 23 | 31 | 31 | 39 | 39 |
| Blank | Blank | 8 | 8 | 16 | 16 | 24 | 24 | 32 | 32 | 40 | 40 |

Figura 7. Ejemplo de posible diseño de placa en el inmunoensayo *ProcartaPlex™*

4.4.2. Determinación de la inmunoglobulina A (IgA) en saliva

Para la determinación de la inmunoglobulina A en saliva se utilizó un kit de inmunoensayo competitivo indirecto (*salivary secretory IgA indirect enzyme immunoassay kit*). Para su consecución se agrega una cantidad constante de SIgA antihumano de cabra conjugado con peroxidasa de rábano picante a tubos que contienen diluciones específicas de estándares o saliva. El conjugado enzimático de anticuerpos se une al SIgA en las muestras estándar o de saliva. La cantidad de conjugado enzimático de anticuerpo libre restante es inversamente proporcional a la cantidad de SIgA presente en la muestra.

Después de la incubación y la mezcla, se agrega una solución igual de cada tubo por duplicado a la placa de microtitulación recubierta con SIgA humano. El conjugado enzimático de anticuerpo libre o no unido se une al SIgA en la placa. Después de la incubación, los componentes no unidos se eliminan por lavado. El conjugado enzimático de anticuerpos SIgA unido se mide por la reacción de la enzima peroxidasa de rábano al sustrato tetrametilbencidina (TMB). Esta reacción produce un color azul. Se forma un color amarillo después de detener la reacción con una solución ácida. La densidad óptica se lee en un lector de placas estándar a 450 nm. La cantidad de conjugado de enzima de anticuerpo SIgA detectada es inversamente proporcional a la cantidad de SIgA presente en la muestra (Chard, 1981).

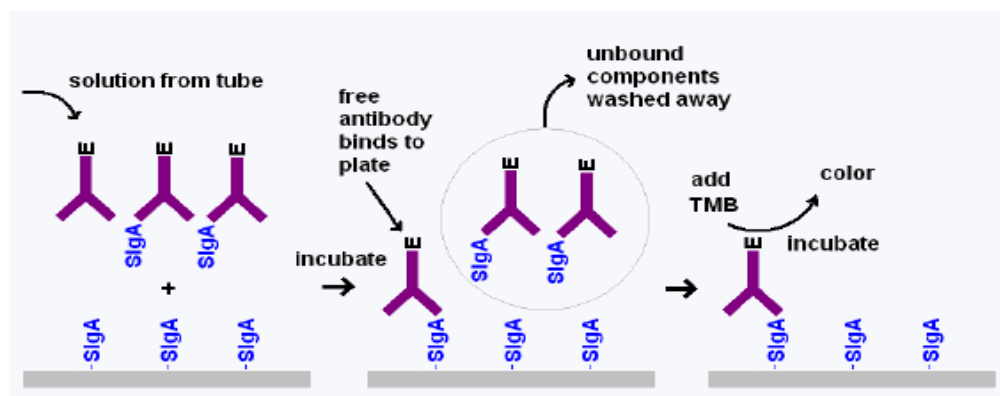


Figura 8. Principio del test para la determinación de IgA en saliva (Salimetrics)

4.5 DETERMINACIÓN DE BIOMARCADORES NEUROENDOCRINOS Y TÉCNICAS DE LABORATORIO

4.5.1. Determinación de las catecolaminas sistémicas: epinefrina, norepinefrina y dopamina

Epinefrina (EP):

Se empleó el inmunoensayo de enzima de inhibición competitiva técnica (*General Epinephrine Elisa Kit, RD-EPI-Ge 96 test*) para medición cuantitativa in vitro de EP (epinefrina). Un anticuerpo monoclonal específico para EP ha sido recubierto previamente sobre una microplaca. Se lanza una reacción de inhibición competitiva entre biotina EP marcado y EP no marcado (estándares o muestras) con el pre-recubierto anticuerpo específico para EP. Después de la incubación, el conjugado no unido se lava apagado. A continuación, se agrega avidina conjugada con peroxidasa de rábano picante (HRP) a cada microplaca y se incuba. La cantidad de conjugado de HRP unido es inversamente proporcional a la concentración de EP en la muestra. Después, además de la solución de sustrato, la intensidad del color desarrollado es inversa proporcional a la concentración de EP en la muestra.

Norepinefrina (NE):

Este ensayo utiliza el inmunoensayo de enzima de inhibición competitiva técnica (*General Noradrenaline Elisa Kit, RD-NE-Ge 96 test*) para medición cuantitativa in vitro de NE (norepinefrina). Un anticuerpo monoclonal específico para NE ha sido recubierto previamente sobre una microplaca. Se lanza una reacción de inhibición competitiva entre biotina NE marcado y NE no marcado (estándares o muestras) con el pre-recubierto anticuerpo específico para NE. Después de la incubación, el conjugado no unido se lava apagado. A continuación, se agrega Avidina conjugada con peroxidasa de rábano picante (HRP) a cada microplaca y se incuba. La cantidad de conjugado de HRP unido es inversamente proporcional a la concentración de NE en la muestra.

Después, además de la solución de sustrato, la intensidad del color desarrollado es inversamente proporcional a la concentración de NE en la muestra.

Dopamina:

Inmunoensayo enzimático para la determinación cuantitativa de dopamina. La dopamina se extrae usando un gel de afinidad específico de cis-diol, se acila y luego se convierte enzimáticamente. El competitivo kit ELISA (*Dopamine Research*) utiliza el formato de placa de microtitulación. El antígeno está unido a la fase sólida de la placa de microtitulación. Los estándares derivados, controles y muestras y el analito unido a fase sólida competir por un número fijo de sitios de unión de anticuerpos. Después de que el sistema está en equilibrio, antígeno libre y los complejos antígeno-anticuerpo libres se eliminan mediante lavado. El anticuerpo unido a la fase sólida es detectado por un conjugado anti-conejo IgG-peroxidasa usando TMB como sustrato. La reacción se controla a 450 nm. La cuantificación de muestras desconocidas se logra comparando su absorbancia con una curva estándar preparado con concentraciones estándar conocidas.

4.5.2. Determinación de los niveles sistémicos de serotonina (5-HT)

Este ensayo emplea el inmunoensayo de enzima de inhibición competitiva técnica (Kit ELISA *General 5-Hydroxytryptamine, 5-HT*). Se ha recubierto previamente un anticuerpo monoclonal específico para 5-HT en una microplaca. Se lanza una reacción de inhibición competitiva entre 5-HT marcado con biotina y 5-HT no marcado (patrones o muestras) con el anticuerpo prereducido específico para 5-HT. Después de la incubación el conjugado no unido se lava. A continuación, la avidina conjugada con la peroxidasa de rábano picante (HRP) se agrega a cada pocillo de microplaca y se incuba. La cantidad de conjugado de HRP unido es inversamente proporcional a la concentración de 5-HT en la muestra. Después de la adición de la solución de sustrato, la intensidad del color desarrollado es inversamente proporcional a la concentración de 5-HT en la muestra.

4.5.3. Valoración de la actividad del eje hipotálamo-hipófisis adrenal: determinación sistémica de la concentración de CRH y Cortisol

Hormona liberadora de corticotropina (CRH):

Este ensayo utiliza el inmunoensayo de enzima de inhibición competitiva técnica (*Human Corticotropin Releasing Hormone Elisa Kit RD-CRH-Hu 96 test*). Un anticuerpo monoclonal específico para CRH se ha recubierto previamente en una microplaca. Se lanza una reacción de inhibición competitiva entre CRH marcado con biotina y CRH no marcado (estándares o muestras) con el anticuerpo pre-recubierto específico para CRH. Después de la incubación, el conjugado no unido se lava. A continuación, la avidina conjugada con la peroxidasa de rábano picante (HRP) se agrega a cada pocillo de microplaca y se incuba. La cantidad de conjugado de HRP unido es inversamente proporcional a la concentración de CRH en la muestra. Después de la adición de la solución de sustrato, la intensidad del color desarrollado es inversamente proporcional a la concentración de CRH en la muestra.

Cortisol:

El kit de inmunoensayo de cortisol DetectX® está diseñado para medir cuantitativamente el cortisol. Se proporciona un estándar de cortisol para generar una curva estándar para el ensayo y todas las muestras deben leerse en una curva estándar generada por el investigador. Los estándares o muestras diluidas se pipetea en una placa de microtitulación transparente recubierta con un anticuerpo para capturar anticuerpos de ratón. Un conjugado de cortisol peroxidasa se agrega a los pocillos. La reacción de unión se inicia mediante la adición de un anticuerpo monoclonal contra el cortisol. La reacción inmunológica ocurre entre la cantidad limitante de anticuerpo monoclonal anti-cortisol agregado, el antígeno de cortisol en la muestra o estándar, y la cantidad limitante de cortisol-peroxidasa agregada al conjugado. A medida que aumenta la concentración de cortisol en la muestra, la cantidad de cortisol-peroxidasa unida, disminuye, causando una disminución en la señal, y viceversa.

La señal se genera a partir de la cortisol-peroxidasa unida al anticuerpo anti-cortisol que se une a las placas recubiertas con IgG de cabra anti-ratón. El exceso de cortisol-peroxidasa no se une a las placas y se elimina del pocillo antes a la adición de sustrato. Después de una hora de incubación, la placa se lava y se agrega el sustrato. El sustrato reacciona con el conjugado de cortisol-peroxidasa unido. Después de una breve incubación, la reacción se detiene y la intensidad del color generado (figura 6) es detectada en un lector de placa de microtitulación a una longitud de onda de 450 nm. La concentración del cortisol en la muestra se calcula, después de realizar una corrección adecuada para la dilución de la muestra, utilizando un software disponible con la mayoría de los lectores de placas.

Figura 9. Ejemplo de placa de microtitulación y colores generados en cortisol.



4.6 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

El análisis estadístico se realizó con el software IBM statistics SPSS v20.0 (SPSS Inc., Chicago IL, EE. UU). Para comprobar la normalidad de los datos, se utilizó el test de Shapiro-Wilk, una prueba t para muestras relacionadas para determinar las diferencias entre las mediciones para un mismo grupo y una prueba t para muestras independientes para comparar entre el grupo experimental y el grupo control en niveles basales. Para analizar la interacción entre grupos diferentes se realizó una Anova de dos factores con dos niveles (pre-post).

Los resultados se expresan como valores medios \pm error estándar de la media (EMS) de cada una de las muestras. Se consideró el nivel de significación cuando $p < 0,05$.

V – RESULTADOS Y DISCUSIÓN

V – RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1 EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DEL SIMBIÓTICO SOBRE LAS MEDICIONES ANTROPOMÉTRICAS EN INDIVIDUOS SEDENTARIOS Y DEPORTISTAS

Existe una gran relación entre las variables antropométricas peso corporal e índice de masa corporal (IMC), ya que el cálculo de esta última se obtiene a partir de la división de la masa corporal (kg) entre la estatura (m) al cuadrado (Grao-Cruces et al., 2013). Sin embargo, el IMC podría ser un indicador bastante pobre ya que a pesar de tener en cuenta el porcentaje de masa grasa, no provee información de cómo dicha grasa se distribuye, siendo de bastante interés en población deportista (Malina, 2007). De acuerdo a Clemente et al. (2016) la participación regular de jóvenes en una actividad deportiva, incrementando así los niveles de actividad física y disminuyendo los niveles de sedentarismo, sería un factor clave en la disminución del peso corporal. Sin embargo en este estudio no se observaron diferencias significativas en situación basal entre sujetos sedentarios y deportistas en referencia al peso e índice de masa corporal ($p > 0,05$), tal y como se muestra en las figuras 10 y 11 (A).

Se observan algunas diferencias significativas en el peso corporal (Figura 10, D), así como en el índice de masa corporal (IMC) en la figura 11 (D), en los sujetos deportistas que consumieron placebo tras el periodo de tratamiento, con un nivel de significación de $p < 0,05$. Existen algunos estudios que muestran cambios en referencia al peso y al IMC en sujetos que consumieron un simbiótico (*Lactobacillus salivarius* LS33) durante un periodo de 30 días (Ipar et al., 2015). Se ha estudiado también el impacto que ejerce el consumo de probióticos sobre diferentes parámetros relacionados con la obesidad y el sobrepeso, demostrando una reducción del peso corporal en ratones alimentados con dieta alta en grasa junto a varias cepas probióticas (Prados-Bo et al., 2015). En otro estudio con adultos sanos y el uso de un probiótico (*L.plantarum* TENSIA) también se mostraron valores más saludables del IMC tras la intervención (Hútt et al., 2015). Hasta la fecha existen pocos estudios llevados a cabo en humanos para examinar el posible efecto que los probióticos, prebióticos y/o simbióticos pudieran tener sobre el peso corporal y el índice de masa corporal.

En cualquier caso, sería plausible pensar que estos efectos, si los hubiere, se producirían en individuos con sobrepeso y no con normopeso, en los que variaciones en este sentido podrían incluso considerarse “no saludables”.

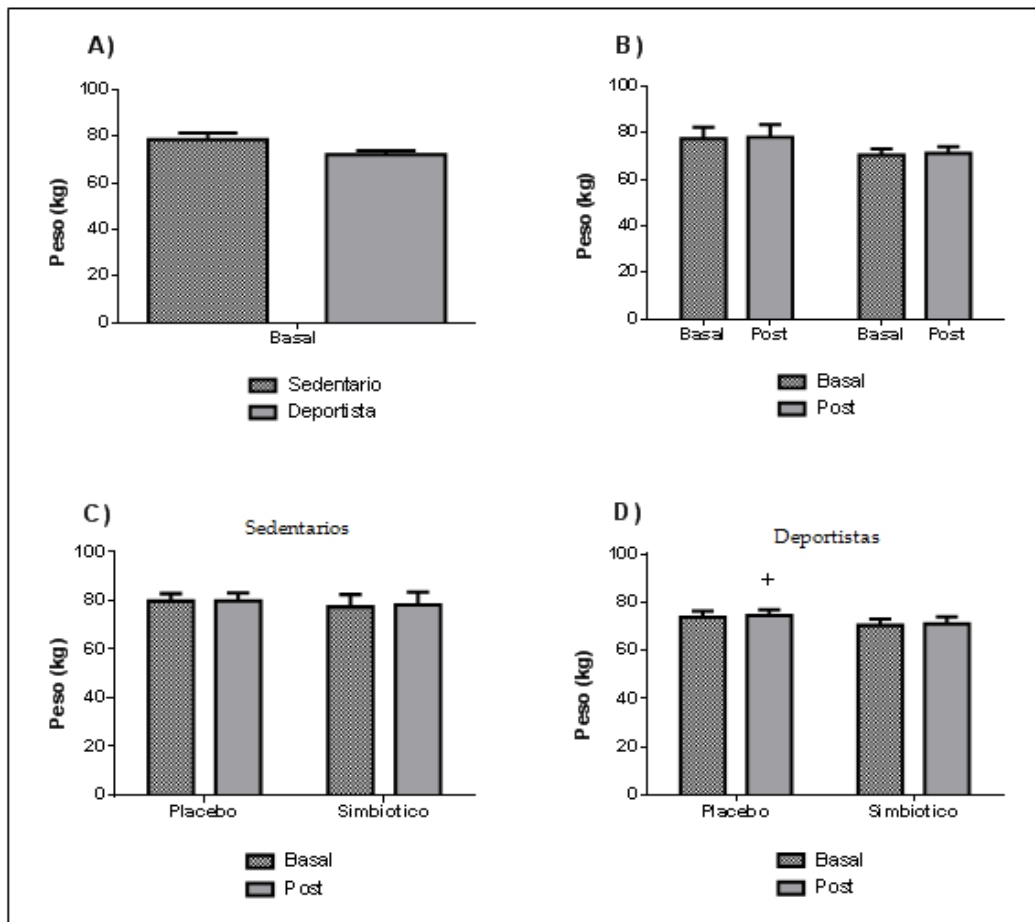


Figura 10. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre el peso corporal. A) Peso corporal basal en hombres sedentarios (n=14) y deportistas (n=13); B) Influencia del entrenamiento sobre los efectos del simbiótico en el peso corporal (n=7 y n=6 en grupos sedentario y deportista respectivamente); C) Efecto del consumo de un simbiótico sobre el peso corporal en individuos sedentarios con placebo (n=7) o con simbiótico (n=7); D) Efecto del consumo de un simbiótico sobre el peso corporal en individuos deportistas con placebo (n=6) o con simbiótico (n=7). Las determinaciones se expresan mediante la media \pm EMS de cada una de las muestras. + $p < 0,05$ respecto al basal.

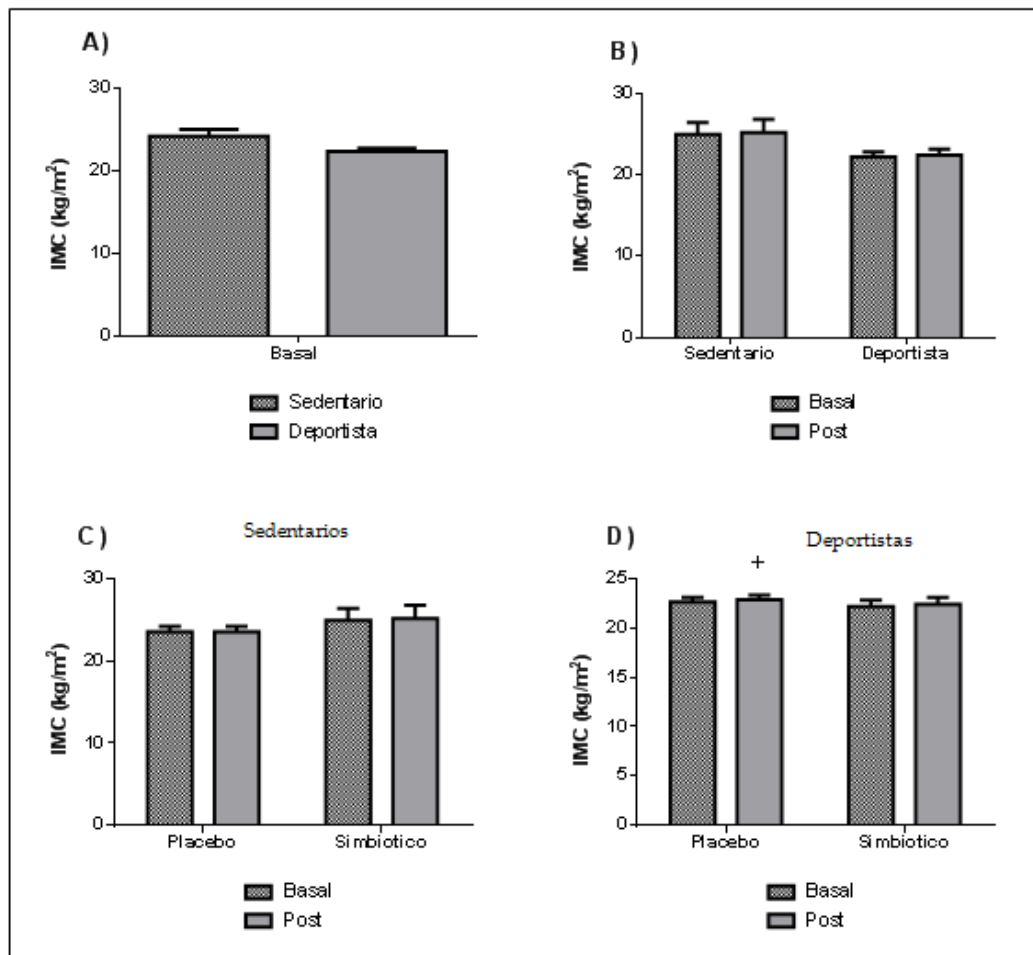


Figura 11. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre el índice de masa corporal (IMC). A) Niveles basales del IMC en hombres sedentarios (n=14) y deportistas (n=13); B) Influencia del entrenamiento sobre los efectos del simbiótico en el IMC (n=7 y n=6 en grupos sedentario y deportista respectivamente); C) Efecto del consumo de un simbiótico sobre el IMC en individuos sedentarios con placebo (n=7) o con simbiótico (n=7); D) Efecto del consumo de un simbiótico sobre el IMC en individuos deportistas con placebo (n=6) o con simbiótico (n=7). Las determinaciones se expresan mediante la media \pm EMS de cada una de las muestras. + p<0,05 respecto al basal.

En referencia a las notables diferencias en las medidas antropométricas, existe una gran evidencia en que el porcentaje de masa muscular, generalmente, es mayor en sujetos deportistas que en sedentarios, mientras que el porcentaje de masa grasa, y por ende, el sumatorio de 6 y 8 pliegues es menor en sujetos deportistas (Siquier-Coll et al., 2018; Blazquez Simón, 2018). Esto se muestra en nuestro estudio (figura 12, A), en el cual se observan diferencias significativas ($p < 0,05$) respecto a las mediciones basales entre sedentarios y deportistas, así como en las figuras 13,14 y 15 A, con diferencias muy significativas con valor de $p < 0,001$. Esto se hace más notorio en deportes como el fútbol, haciéndose necesario maximizar la masa libre de grasa, ya que dichos deportistas se ven involucrados en actividades que requieren una gran fuerza, potencia y resistencia muscular (Costill, Kenney & Wilmore, 2008).

Se aprecia un cambio en la “interacción estadística” ($p < 0,05$) entre el grupo deportista y sedentario con influencia del entrenamiento sobre los efectos del simbiótico en los niveles de masa grasa y sumatorio de pliegues corporales, donde el grupo sedentario aumenta de forma significativa tras el tratamiento mientras que en el grupo deportista solo se observan diferencias en el grupo placebo. Esto puede deberse al efecto del deporte en sí (Kyle et al., 2001; Grund et al., 2001), junto al posible efecto del simbiótico.

Algunas cepas probióticas han demostrado ser influyentes en la reducción del peso corporal, así como de las reservas de grasa en humanos (Firouzi et al., 2013). Además, algunos géneros de bacterias, como el *Bifidobacterium*, han actuado en otras áreas del cuerpo humano, como es el hígado, donde han influido en la disminución en la reserva de lípidos, con la consiguiente reducción del peso y la grasa corporal (Yin et al., 2010). Se ha demostrado que ciertas cantidades en el tejido adiposo de ácido linoleico conjugado, contenidos en ciertas cepas probióticas, pueden reducir la masa corporal en ratones y humanos (Blankson et al., 2000). Arronson et al. (2010) demostraron que el consumo de una cepa de *Lactobacillus paracasei* en ratones, se asoció con el incremento de angiopoyetina tipo 4, un inhibidor de la lipoproteína lipasa que controla el depósito de triglicéridos en los adipocitos. De nuevo, resultados que dependen del tipo de cepa utilizados en cada investigación y no siendo generales a todos los estudios.

En cualquier caso, la ingesta del simbiótico no conllevó ningún efecto negativo en referencia a algunos parámetros estudiados, como por ejemplo la masa muscular de los deportistas. Además, conforme a los niveles de masa grasa, dicho tratamiento simbiótico en deportistas impidió el aumento durante el protocolo en la misma, tanto en los sedentarios como en deportistas.

Los probióticos, prebióticos, y su combinación, simbióticos, suelen presentar un buen perfil de seguridad, por lo que los efectos adversos no suelen ser habituales. Se observa como tanto los sujetos deportistas como los sedentarios se encontraban dentro de los rangos normales y saludables en referencia a las diferentes medidas antropométricas, y es por ello, que el mantenimiento saludable de medidas como el peso y la masa muscular, hacen que el consumo de dicho simbiótico pueda ser recomendable, especialmente en población deportista y debido a su objetivo de maximizar su rendimiento.

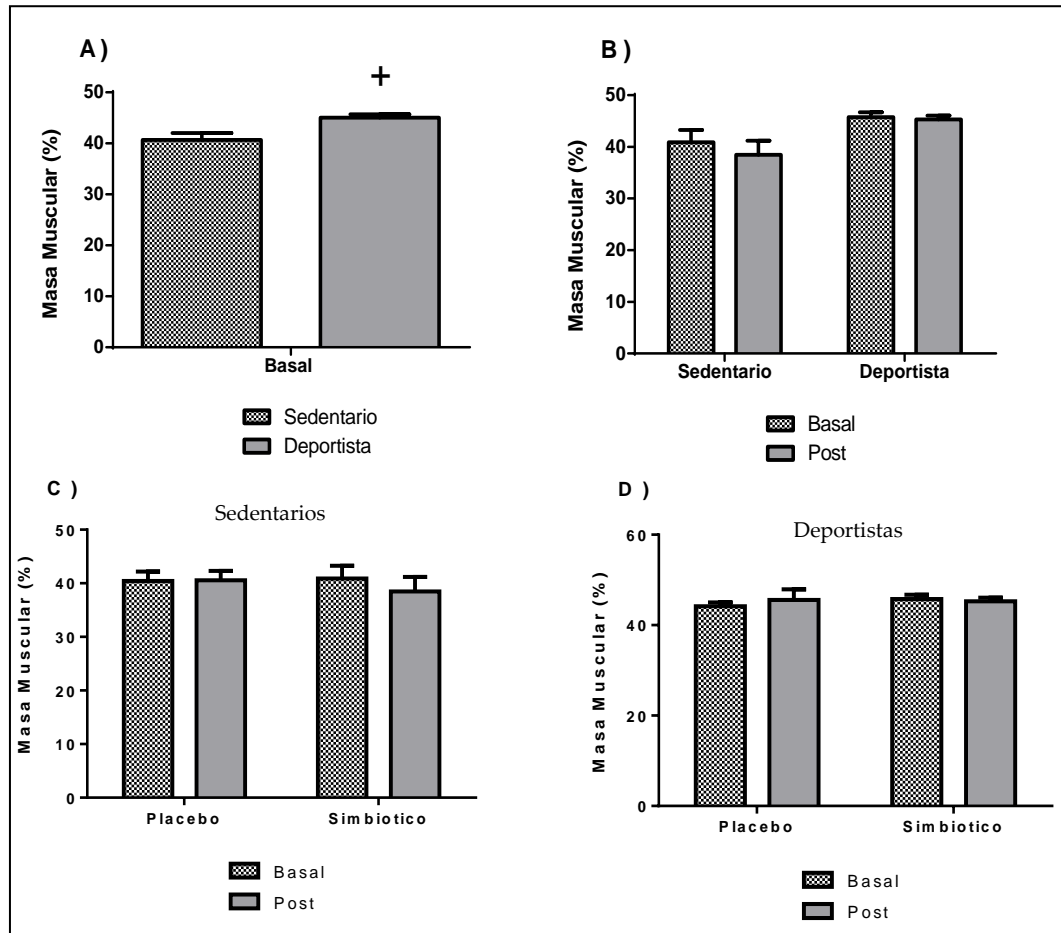


Figura 12. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre el porcentaje de masa muscular. A) Niveles basales del % de masa muscular en hombres sedentarios (n=14) y deportistas (n=13); B) Influencia del entrenamiento sobre los efectos del simbiótico en los niveles porcentuales de masa muscular (n=7 y n=6 en grupos sedentario y deportista respectivamente); C) Efecto del consumo de un simbiótico sobre el % de masa muscular en individuos sedentarios con placebo (n=7) o con simbiótico (n=7); D) Efecto del consumo de un simbiótico sobre el % de masa muscular en individuos deportistas con placebo (n=6) o con simbiótico (n=7). Las determinaciones se expresan mediante la media \pm EMS de cada una de las muestras. + $p < 0,05$ grupo sedentario respecto al deportista en situación basal.

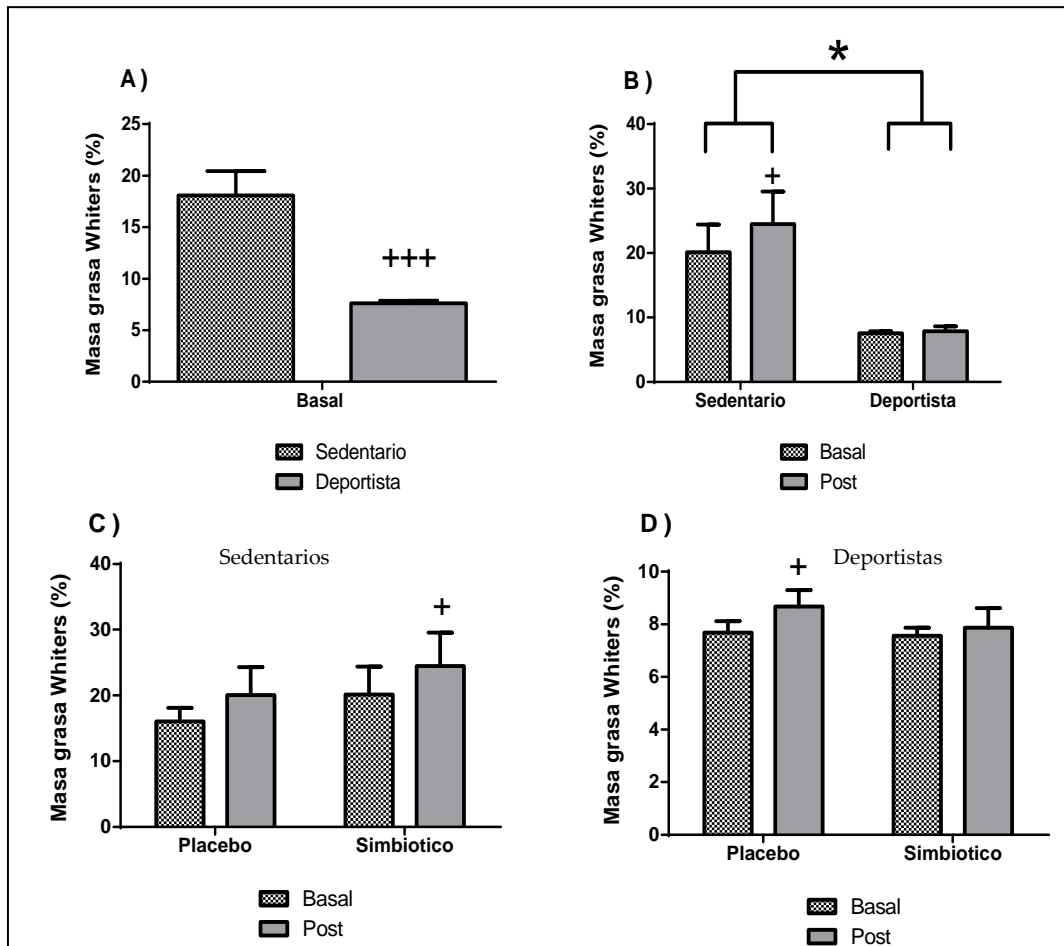


Figura 13. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre el porcentaje de masa grasa. A) Niveles basales del % de masa grasa en hombres sedentarios (n=14) y deportistas (n=13); B) Influencia del entrenamiento sobre los efectos del simbiótico en los niveles porcentuales de masa grasa (n=7 y n=6 en grupos sedentario y deportista respectivamente); C) Efecto del consumo de un simbiótico sobre el % de masa grasa en individuos sedentarios con placebo (n=7) o con simbiótico (n=7); D) Efecto del consumo de un simbiótico sobre el % de masa grasa en individuos deportistas con placebo (n=6) o con simbiótico (n=7). Las determinaciones se expresan mediante la media \pm EMS de cada una de las muestras. * $p < 0,05$ respecto al basal; +++ $p < 0,001$ grupo sedentario respecto al deportista en situación basal. * $p < 0,05$ grupo sedentario respecto al deportista.

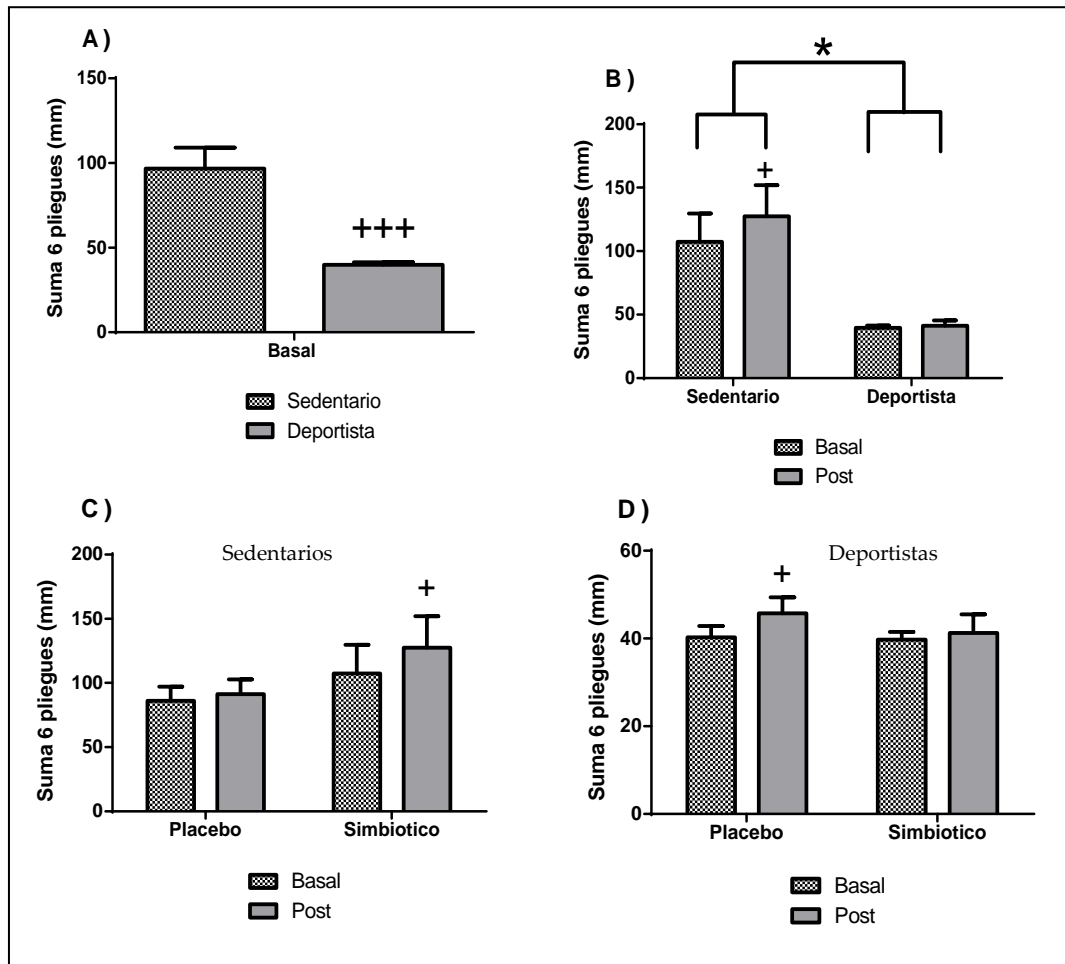


Figura 14. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre el sumatorio de 6 pliegues. A) Suma de 6 pliegues basales en hombres sedentarios ($n=14$) y deportistas ($n=13$); B) Influencia del entrenamiento sobre los efectos del simbiótico en la suma de 6 pliegues ($n=7$ y $n=6$ en grupos sedentario y deportista respectivamente); C) Efecto del consumo de un simbiótico sobre la suma de 6 pliegues en individuos sedentarios con placebo ($n=7$) o con simbiótico ($n=7$); D) Efecto del consumo de un simbiótico sobre la suma de 6 pliegues en individuos deportistas con placebo ($n=6$) o con simbiótico ($n=7$). Las determinaciones se expresan mediante la media \pm EMS de cada una de las muestras. + $p<0,05$ respecto al basal; +++ $p<0,001$ grupo sedentario respecto al deportista en situación basal. * $p<0,05$ grupo sedentario respecto al deportista.

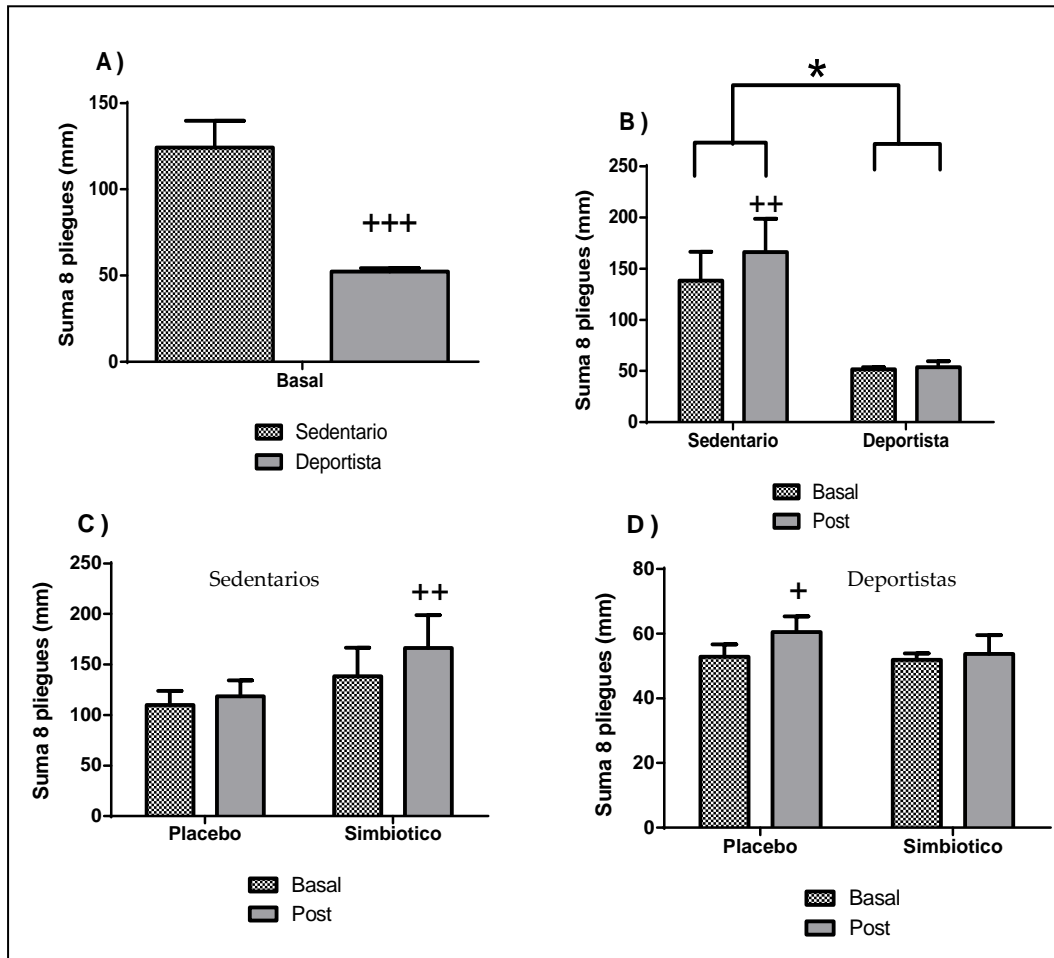


Figura 15. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre el sumatorio de 8 pliegues. A) Suma de 8 pliegues basales en hombres sedentarios (n=14) y deportistas (n=13); B) Influencia del entrenamiento sobre los efectos del simbiótico en la suma de 8 pliegues (n=7 y n=6 en grupos sedentario y deportista respectivamente); C) Efecto del consumo de un simbiótico sobre la suma de 8 pliegues en individuos sedentarios con placebo (n=7) o con simbiótico (n=7); D) Efecto del consumo de un simbiótico sobre la suma de 8 pliegues en individuos deportistas con placebo (n=6) o con simbiótico (n=7).

Las determinaciones se expresan mediante la media \pm EMS de cada una de las muestras. + p < 0,05 respecto al basal; ++ p < 0,01 respecto al basal; +++ p < 0,001 grupo sedentario respecto al deportista en situación basal. * p < 0,05 grupo sedentario respecto al deportista.

5.2 EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DEL SIMBIÓTICO SOBRE LOS NIVELES DE ACTIVIDAD FÍSICA, SEDENTARISMO Y SUEÑO EN INDIVIDUOS SEDENTARIOS Y DEPORTISTAS

El estudio de la actividad física es necesario para entender las características básicas del movimiento humano y su relación con ciertas enfermedades, la salud y la calidad de vida (Yang & Hsu, 2010). Existen métodos subjetivos y objetivos para el registro y análisis de dicha actividad física, como pueden ser diarios y cuestionarios, pero que dependen de una interpretación individual, obteniendo unos resultados más imprecisos (Meijer, Westerterp, Verhoeven, Koper & Ten Hoor, 1991). Es por ello que, el uso de la acelerometría, permite unos resultados cuantitativos más precisos y fiables siendo ampliamente aceptados en el ámbito investigador. En la tabla 5 se muestran los principales resultados obtenidos de diversos parámetros registrados a través de acelerometría durante un periodo de 7 días consecutivos de forma previa y post al tratamiento.

Tabla 5. Resultados obtenidos a través de acelerometría durante un periodo de 7 días

| VARIABLE | SEDENTARIOS | | | | DEPORTISTAS | | | |
|------------------------------------|--------------------|----------------------|-------------------|--------------------|-------------------|---------------------|-------------------|---------------------|
| | PLACEBO (n=7) | | SIMBIÓTICO (n=7) | | PLACEBO (n=6) | | SIMBIÓTICO (n=7) | |
| | BASAL | POST | BASAL | POST | BASAL | POST | BASAL | POST |
| Kilocalorias (cal/semana) | 12185,89 ± 3052,62 | 10031,14 ± 2209,75** | 9971,39 ± 6062,77 | 10311,45 ± 6416,28 | 8485,81 ± 1572,13 | 8706,6 ± 2808,90 | 7856,41 ± 1619,90 | 8359,98 ± 1590,97* |
| METS (ml O ₂ /kg x min) | 1,52 ± 0,13 | 1,44 ± 0,10* | 1,43 ± 0,21 | 1,46 ± 0,24 | 1,4 ± 0,08 | 1,46 ± 0,16 | 1,37 ± 0,08 | 1,49 ± 0,16* |
| MVPA (min) | 1289,85 ± 332,09 | 1036,57 ± 188,80* | 1081,28 ± 458,38 | 1081,14 ± 525,82 | 1091,66 ± 257,39 | 1103,16 ± 316,51 | 949,28 ± 231 | 952,85 ± 227,19 |
| Pasos (totales/semana) | 81866 ± 11746,98 | 66338,85 ± 7987,85 | 70175 ± 17506,86 | 67588 ± 20406,6 | 73096 ± 13529,34 | 68058,66 ± 13787,82 | 65676 ± 11799,4 | 68948,42 ± 12447,45 |
| Golpes de sedentarismo (>1 min) | 112,42 ± 17,92 | 104 ± 16,32 | 113,71 ± 27,34 | 114,14 ± 22,32 | 132,83 ± 22,65 | 114,16 ± 34,74 | 127 ± 10,36 | 120 ± 9,52 |
| Luz(lu) | 304,72 ± 77,78 | 172,67 ± 103,16 | 156,94 ± 91,61 | 124,9 ± 66,03 | 293,68 ± 86,81 | 305,38 ± 149,51 | 190,71 ± 114,24 | 213,78 ± 95,79 |
| Latencia (min) | 1,12 ± 0,64 | 1,58 ± 0,83 | 1,91 ± 1,19 | 1,55 ± 1,22 | 0,87 ± 0,49 | 0,67 ± 0,49 | 1,38 ± 0,97 | 0,88 ± 0,74* |
| Eficiencia sueño (%) | 87,75 ± 2,87 | 87,23 ± 3,64 | 91,44 ± 3,16 | 91,04 ± 2,18 | 89,19 ± 3,31 | 89,6 ± 2,45 | 87,46 ± 6,09 | 90,8 ± 3,17* |

* P<0,05 ** P<0,01 respecto a BASAL. Los resultados se expresan como la media ± desviación estándar. METS: Equivalentes metabólicos; MVPA: Moderada a vigorosa actividad física; lu: lumen

En el grupo sedentario con “tratamiento placebo” se observan algunas diferencias significativas respecto al basal ($p < 0,05$). Se produce una disminución de las calorías, la tasa metabólica y el nivel de intensidad de actividad física. Situando el protocolo en un periodo específico, cabe resaltar que los sujetos sedentarios se encontraban al inicio del periodo de exámenes finales de la universidad, con lo que los niveles de sedentarismo pudieran verse aumentados aún más por dicha actividad tal y como se aprecia en la tabla 4.

No obstante, el simbiótico parece prevenir dicha situación evitando las disminuciones referidas e incluso aumentando el consumo de Kcal en individuos sedentarios. En este contexto se puede concluir que en los individuos sedentarios, el simbiótico parece inducir a un aumento en la actividad física y metabólica a través de la determinación del consumo de kilocalorías mediante acelerometría, mientras que los principales efectos observados en los deportistas fueron, además del aumento en los niveles del consumo de Kcal al igual que en los sedentarios, una mejora significativa y relevante en la calidad del sueño.

Diversas investigaciones han afirmado que la falta de sueño, la corta duración del sueño, aumento en la latencia, así como la presencia de algún trastorno de dicho sueño, se asocian con una amplia gama de riesgos para la salud, como pueden ser el aumento del peso corporal, la morbilidad cardiovascular y la mortalidad general, entre otras (Katz & McHorney, 2002; Ayas, White, Manson, Stampfer, Speizer, Malhotra & Hu, 2003). Además, algunos estudios indican que la mala calidad del sueño se asocia con un peor estado de salud mental, incluyendo tasas más altas de depresión, ansiedad y estrés psicológico, así como condiciones que han sido relacionadas con aumentos temporales en la actividad de los principales sistemas de estrés neuroendocrinos, es decir, el sistema simpático-adrenal-autónomo y el eje hipotálamo-hipófisis-adrenal (Ford & Kamerow, 1989; Meerlo, Sgoifo & Sucheki, 2008).

Conforme a los resultados en los participantes deportistas registrados a través de acelerometría, no se apreciaron cambios significativos ($p>0,05$) en los que consumieron placebo, mientras que los que siguieron el protocolo con la ingesta del simbiótico, tuvieron mejoras en la eficiencia y latencia del sueño. Una buena calidad y eficiencia del sueño, es un factor importante en la determinación de salud y un síntoma de buena calidad de vida. La privación del sueño contribuye a una serie de cambios moleculares, inmunes y neuronales que tienen un rol destacado en el desarrollo de ciertas enfermedades (Luyster, Strollo, Zee & Walsh, 2012). Además, algunos estudios, en animales y humanos, han demostrado que una deficiencia en el sueño puede afectar al aumento de algunas citoquinas inflamatorias como la IL-1 β , TNF- α e IL-6, así como algunas inmunoglobulinas (Ig) como IgM, IgG y IgA (Vgontzas, Zoumakis, Bixler, Lin, Follet, Kales & Chrousos, 2004; Everson, 2005).

La literatura sugiere que el consumo de complementos probióticos y prebióticos podría modificar algunas funciones fisiológicas del ser humano como el apetito, el sueño, el estado de ánimo y los ritmos circadianos, todo ello a través de metabolitos producidos por la fermentación de microbios en el intestino (Rhee & Kim, 1987). De nuevo, se necesitan más estudios que profundicen en los mecanismos de acción de dichos complementos conforme a su efecto, especialmente en el sueño y como consecuencia de ello, en la mejora de la calidad de vida.

5.3 ESTUDIO DE LA VARIABILIDAD DE LA FRECUENCIA CARDIACA EN REPOSO

La variabilidad de la frecuencia cardiaca (VFC) es un método novedoso, fácil de usar, y no invasivo que describe las variaciones de los intervalos entre latidos cardiacos consecutivos (Abellán, 2019). La VFC es el resultado de las interacciones entre el sistema nervioso autónomo (SNA) y el sistema cardiovascular (Kleiger, Stein & Bigger, 2005). Existen muchas variables que pueden influir en la variabilidad de la frecuencia cardiaca, algunos como el género, la edad, la posición del cuerpo en la que se mide, la hora del día, la temperatura, consumo de tabaco y alcohol, así como la condición física de resistencia, el estrés y la actividad muscular, siendo un buen marcador para la adaptabilidad al entrenamiento (Pumprla, Howorka, Groves, Chester & Norlan, 2002; Gall, Parkhouse & Goodman, 2004). Aunque parezca ilógico, una mayor variabilidad de la frecuencia cardiaca, es decir mayores oscilaciones entre los intervalos RR, se relacionan con un mejor estado de salud y una mejor condición física (Wolf, Varigos, Hunt & Sloman, 1978; Martinelli et al., 2005).

Tabla 6. Resultados de la variabilidad de la frecuencia cardiaca en reposo

| VARIABLE | SEDENTARIOS | | | | DEPORTISTAS | | | |
|-------------------------|-------------------|-------------------|-------------------|-------------------|---------------------|--------------------|---------------------|---------------------|
| | PLACEBO (n=7) | | SIMBIÓTICO (n=7) | | PLACEBO (n=6) | | SIMBIÓTICO (n=7) | |
| | BASAL | POST | BASAL | POST | BASAL | POST | BASAL | POST |
| RR (m/s) | 868,77 ± 147,8 | 829,12 ± 137,4 | 768,17 ± 55,59 | 777,2 ± 125,83 | 1049,36 ± 271,38 | 1016,86 ± 232,6 | 1053,51 ± 233,52 | 1085,31 ± 176,34 |
| RMSSD(m/s) | 52,41 ± 36,42 | 46,68 ± 36,29 | 32 ± 13,18 | 33,62 ± 14,46 | 62,35 ± 24,75 | 73,3 ± 42,24 | 75,41 ± 33,73 | 75,82 ± 29,86 |
| Hfin (ms ²) | 6,24 ± 1,49 | 6,01 ± 1,7 | 6,01 ± 0,67 | 5,88 ± 0,75 | 6,77 ± 0,85 | 7,21 ± 1,01 | 6,85 ± 1,34 | 7,1 ± 0,92 |
| SS (S ⁻¹) | 10,07 ± 4,72 | 8,3 ± 3,18 | 14,03 ± 5,63 | 10,93 ± 2,84 | 9,77 ± 1,78 | 9,55 ± 2,55 | 8,18 ± 1,83 | 18,15 ± 12,49 |
| S_PS | 0,54 ± 0,71 | 0,49 ± 0,72 | 0,76 ± 0,48 | 0,54 ± 0,29 | 0,26 ± 0,14 | 0,18 ± 0,11* | 0,20 ± 0,13 | 0,23 ± 0,35 |

* P<0,05 respecto a BASAL. Los resultados se expresan como la media ± desviación estándar. RR: periodo medio de intervalos entre latidos consecutivos ; RMSSD: raíz cuadrada de la suma de las diferencias al cuadrado de los intervalos RR; Hfin: potencia de alta frecuencia en base a su logaritmo natural; SS: índice de estrés; S/PS: ratio simpático/parasimpático.

En la tabla 6 se muestran los resultados obtenidos del estudio de la variabilidad de la frecuencia cardiaca basal y post tratamiento. Entre las variables del dominio temporal se pueden clasificar algunas como la RR y la RMSSD. Según Aubert et al. (2003), uno de los factores que incrementan en deportistas entrenados es la RMSSD, siendo por ello un gran indicador de las adaptaciones del tono vagal respecto al ejercicio. Mayores niveles de dicha variable, la RMSSD, han sido asociados con un mejor estado de salud (Camm, Malik, Bigger, Breithardt, Cerutti, Cohen & Lombardi, 1996), individuos de menor edad (Reardon & Malik, 1996) y mejor condición física (Melanson & Freedson, 2001).

Esto se observa en este trabajo. Así la diferencia existente en los valores basales en dichas variables (RR y RMSSD) entre el grupo sedentario y deportista, son significativamente más altas en sujetos deportistas, corroborando la mejor salud cardiovascular en los sujetos entrenados en comparación con los individuos sedentarios. Además, en los sujetos sedentarios y deportistas que consumieron el simbiótico se produce un aumento, aunque no estadísticamente significativo, en la variable RR, pudiendo indicar una mejora en la reducción de la frecuencia cardíaca en reposo y, por ende, una mejora de la condición cardiaca. Todo ello no puede atribuirse a un efecto placebo.

Entre las variables del dominio de frecuencias, se encuentra la componente HF. Se pone de manifiesto que mayores valores de la HF se relacionan con un incremento de la actividad parasimpática y menores valores con sedentarismo y enfermedad (Camm et al., 1996), coincidiendo en este estudio con los niveles basales ligeramente más altos en deportistas sobre sedentarios. Según Orellana et al. (2015), se han creado dos nuevas variables muy relacionadas con el equilibrio simpático-parasimpático, más conocidas como índice de estrés (SS) y la ratio simpática/parasimpática (S/PS), así como para entender el equilibrio en el sistema nervioso autónomo y para generar posibles pautas de rendimiento a través del estudio de la variabilidad de la frecuencia cardiaca. De forma general, no se aprecian cambios estadísticamente significativos ($p > 0,05$) en la mayoría de las variables analizadas en referencia a la variabilidad de la frecuencia cardiaca en función del tratamiento simbiótico. Los datos obtenidos concuerdan con otros estudios que afirman que, la variabilidad de personas deportistas es mejor, y por

tanto, más saludable, que en sujetos que tienen menores niveles de actividad física (Aubert, Seps & Beckers, 2003; Dixon, Kamath, McCartney, & Fallen, 1992; Goldsmith, Bigger, Steinman, & Fleiss, 1992).

Conforme al aporte que pudieran tener algunos complementos dietéticos en la mejora de la función cardiovascular (Vasques et al., 2018), se ha demostrado que la microbiota intestinal participa en el control de la tensión arterial mediante varios mecanismos, como ejercer control a nivel de sistema nervioso autónomo y central, como la función de protección endotelial (Raizada et al., 2017), así como en la mejora de los niveles de triglicéridos y colesterol tras el uso de probióticos (Furushiro et al., 1990). No obstante, a la luz de los resultados obtenidos en este trabajo, no se puede concluir que tras la ingesta del simbiótico a lo largo de un periodo de 30 días se produzcan cambios significativos en la variabilidad de la frecuencia cardiaca en sujetos deportistas y sedentarios.

5.4 EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DEL SIMBIÓTICO SOBRE LOS NIVELES DE SALUD, ESTRÉS, ANSIEDAD, SUEÑO Y CALIDAD DE VIDA PERCIBIDOS EN INDIVIDUOS SEDENTARIOS Y DEPORTISTAS

La Organización Mundial de la Salud (OMS) define la calidad de vida de un individuo en función de cómo este percibe su forma de vida en un entorno cultural determinado, relacionado con una serie de factores físicos, mentales y sociales de dicho entorno. Según Jürgens (2006), existe una clara diferencia entre la percepción de calidad de vida entre sujetos que practican deporte y sujetos sedentarios, siendo mejor en los deportistas. Afirma que el deporte no sólo implica beneficios físicos sino también psicológicos que pudieran mejorar el autoestima, motivación y percepción de la persona. Como es bien sabido, la práctica de ejercicio regular es beneficiosa para la salud en personas de diferentes edades, así como para la prevención de diversas enfermedades como pueden ser la diabetes, hipertensión, la obesidad y las enfermedades cardiovasculares, entre otras (Warburton, Nicol & Bredin, 2006). Además de prolongar la vida, se ha comprobado que la actividad física ayuda a disminuir los niveles de estrés, ansiedad y depresión (Vallois, Zullig, Huebner & Drane, 2004).

No obstante, de los resultados obtenidos en este trabajo, no se puede concluir que, en general, el grupo de individuos sedentarios presenta una salud percibida inferior al grupo de deportistas.

Entre algunas de las herramientas más usuales para medir los niveles de calidad de vida y salud percibidos, se encuentran diversos cuestionarios que, de una forma sencilla, permiten obtener unos resultados cuantitativos. La herramienta SF-36 se compone de dos escalas principales, una que evalúa la percepción física, y otra la mental (Vallois et al., 2004). Entre los resultados más destacados en esta tesis doctoral, se observa que la percepción de salud general percibida es muy similar en situación basal entre los participantes sedentarios y deportistas. De forma relevante se observó una mejora significativa de la percepción de calidad de vida (Figura 16, B) en sujetos deportistas tras el tratamiento simbiótico ($p < 0,01$). Esto coincide con muchos estudios que han referido que la calidad de vida mejora con el consumo de pro-, pre- y simbióticos (Schrezenmeir & de Vrese, 2008; Pandey et al., 2015; Bandyopadhyay & Mandal., 2014; Markowiak & Śliżewska., 2017), y que se corrobora en este trabajo con el simbiótico Gasteel Plus ®. Este efecto no se observa en individuos sedentarios y no puede atribuirse a un efecto placebo como se observa en la figura 16 D.

La importancia de la salud sugiere que el individuo tiene mayor control sobre su vida y su salud, un *locus* interno. Hoy día, esto puede parecer difícil dentro del actual entorno moderno, y, debido a la cantidad de amenazas estresantes que se encuentran (demandas del trabajo, problemas familiares, transporte...), todo ello puede conllevar a un estrés crónico, perjudicial en el día a día, y que como alternativa, un control del estilo de vida activo y saludable, podría ser la solución a combatir dicho estrés (Starcke & Brand, 2012).

Podría concluirse que dichas mejoras sobre la autopercepción de los niveles de calidad de vida podrían deberse al efecto que el mismo deporte en sí pudiera ejercer, unido, al efecto de dicho tratamiento simbiótico. Todo ello, junto a posibles mejoras en la salud intestinal, del sistema inmunitario, así como en parámetros de estrés de dichos individuos, que pudieran ser determinantes en dicha percepción de la calidad de vida.

5.4.1. Efecto sobre la salud general percibida: SF-36

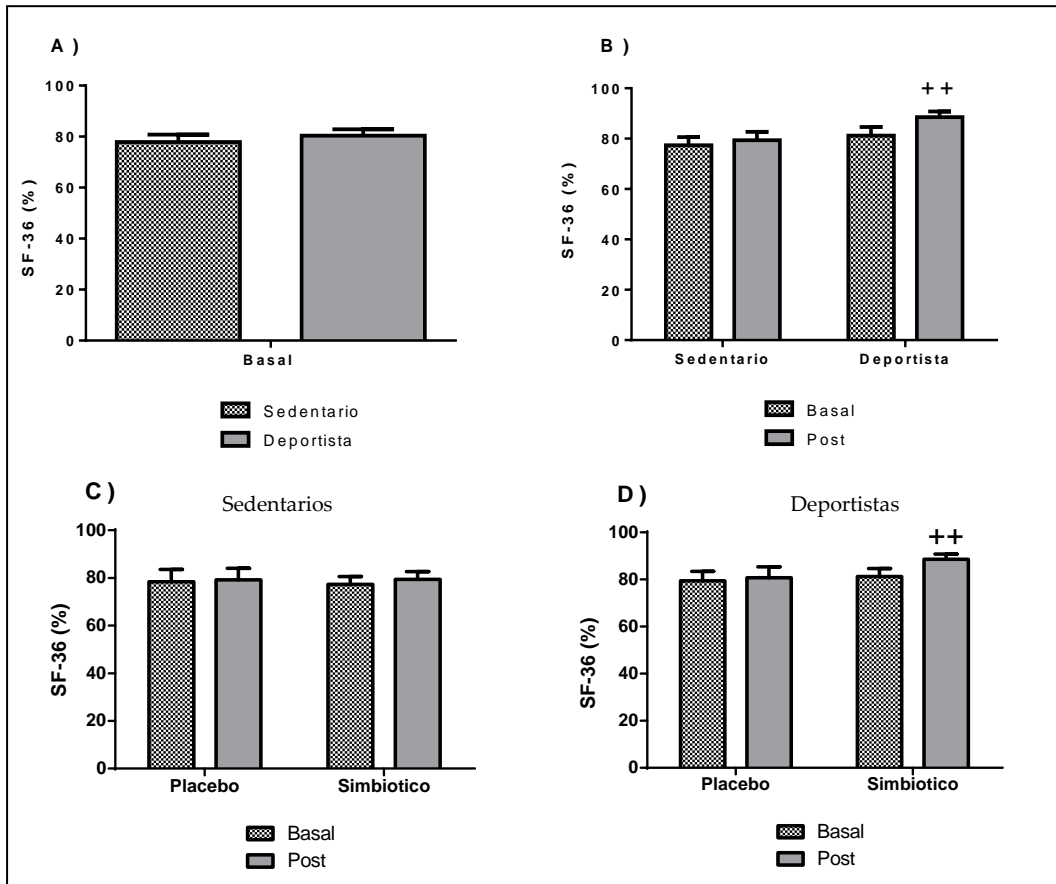


Figura 16. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre los niveles de salud percibida. A) Resultados basales de los niveles de salud percibida en hombres sedentarios ($n=14$) y deportistas ($n=13$); B) Influencia del entrenamiento sobre los efectos del simbiótico en los niveles de salud percibida ($n=7$ y $n=6$ en grupos sedentario y deportista respectivamente); C) Efecto del consumo de un simbiótico sobre los niveles de salud percibida en individuos sedentarios con placebo ($n=7$) o con simbiótico ($n=7$); D) Efecto del consumo de un simbiótico sobre los niveles de salud percibida en individuos deportistas con placebo ($n=6$) o con simbiótico ($n=7$). Las determinaciones se expresan mediante la media \pm EMS de cada una de las muestras.

+ $p<0,05$ y ++ $p<0,01$ respecto al basal.

5.4.2. Efecto sobre los niveles de estilos de vida saludables, control personal y calidad del sueño: HLPCQ

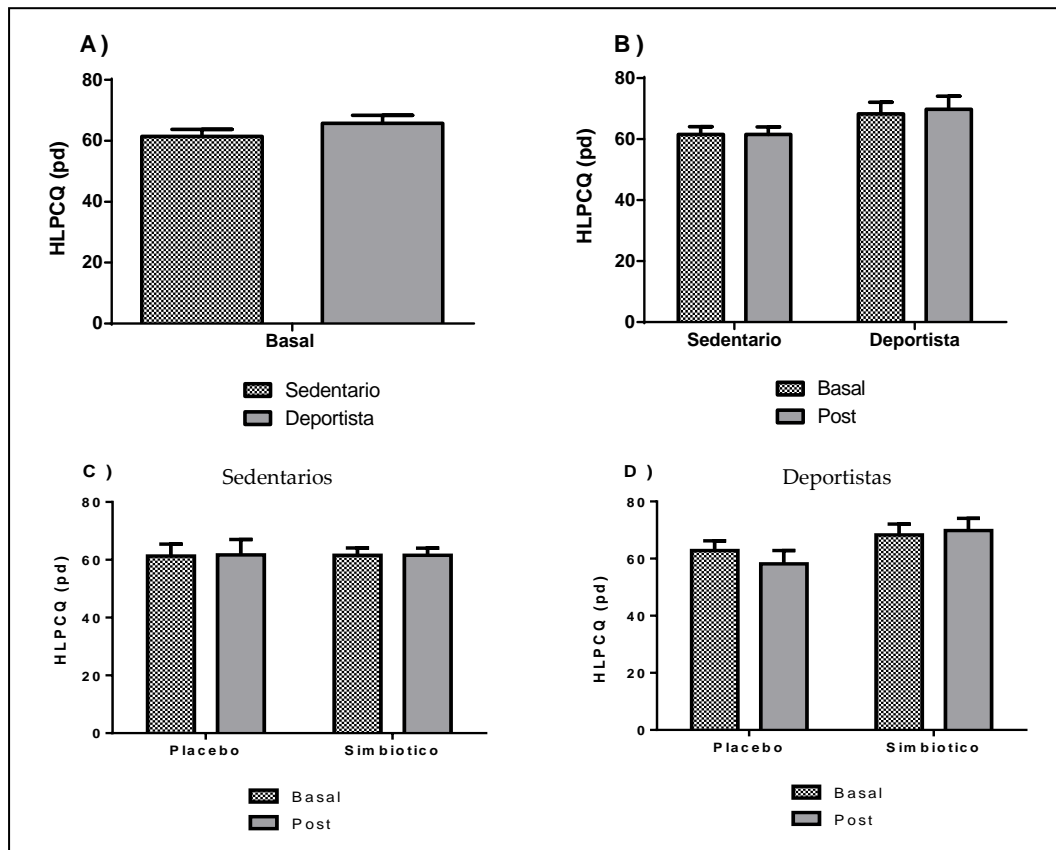


Figura 17. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre los niveles de estilo de vida saludable y control personal (HLPCQ). A) Resultados basales de los niveles de estilo de vida saludable y control personal en hombres sedentarios (n=14) y deportistas (n=13); B) Influencia del entrenamiento sobre los efectos del simbiótico en los niveles de estilo de vida saludable y control personal (n=7 y n=6 en grupos sedentario y deportista respectivamente); C) Efecto del consumo de un simbiótico sobre los niveles de estilo de vida saludable y control personal en individuos sedentarios con placebo (n=7) o con simbiótico (n=7); D) Efecto del consumo de un simbiótico sobre los niveles de estilo de vida saludable y control personal en individuos deportistas con placebo (n=6) o con simbiótico (n=7). Las determinaciones se expresan mediante la media \pm EMS de cada una de las muestras.

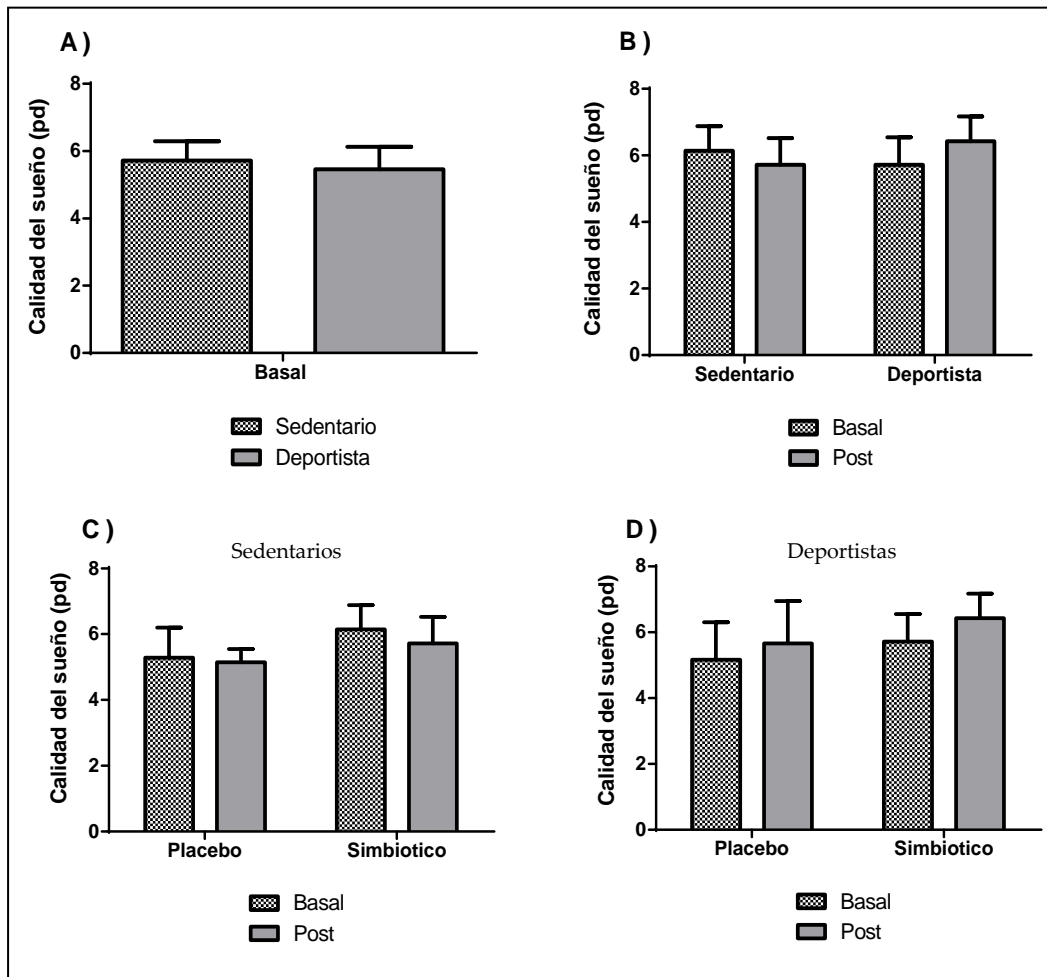


Figura 18. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre la calidad del sueño percibida. A) Resultados basales la calidad del sueño percibida en hombres sedentarios ($n=14$) y deportistas ($n=13$); B) Influencia del entrenamiento sobre los efectos del simbiótico en la calidad del sueño percibida ($n=7$ y $n=6$ en grupos sedentario y deportista respectivamente); C) Efecto del consumo de un simbiótico sobre la calidad del sueño percibida en individuos sedentarios con placebo ($n=7$) o con simbiótico ($n=7$); D) Efecto del consumo de un simbiótico sobre la calidad del sueño percibida en individuos deportistas con placebo ($n=6$) o con simbiótico ($n=7$). Las determinaciones se expresan mediante la media \pm EMS de cada una de las muestras.

Otro de los cuestionarios utilizados para cuantificar el estilo de vida saludable, control personal y calidad del sueño, ha sido el cuestionario de estilo de vida saludable y control personal (*Healthy Lifestyle and Personal Control Questionnaire, HLPCQ*). Los resultados se muestran en las figuras 17 y 18, en las cuales tampoco se aprecian diferencias significativas entre el grupo de deportistas y el de sedentarios, y en este caso tampoco tras el consumo del simbiótico ($p < 0,05$).

Paradójicamente, únicamente se observó una ligera mejora (aunque no estadísticamente significativa) en la percepción de la calidad del sueño tras la intervención con el simbiótico en el grupo de deportistas, si bien los resultados objetivos, mediante acelerometría, ya se demostraron tanto en la eficiencia como en la latencia del sueño. Estos resultados ponen de manifiesto, una vez más, la importancia de biomarcadores objetivos en este tipo de investigaciones.

Una de las partes más importantes de dicho cuestionario se centra en la elección de una dieta sana. El papel principal de la dieta es la de proporcionar los nutrientes necesarios al tiempo que debe brindar al consumidor una sensación de satisfacción y bienestar. Además la dieta juega un papel muy importante en varias funciones del cuerpo, así como su contribución al estado de buena salud y disminución del riesgo de padecer enfermedades. Es por ello que, el uso de determinados alimentos funcionales como pueden ser los probióticos y prebióticos, ha crecido desde hace años y se postulan como futuros alimentos que puedan generar multitud de beneficios en la salud individual (Roberfroid, 1998). Existen evidencias de que la administración de determinados probióticos tienen efectos beneficiosos en el estado de ánimo y en determinados problemas psicológicos como pueden ser la ansiedad, el estrés, la fatiga y la depresión (Messaoudi, Lalonde, Violle, Javelot, Desor, Nedji & Cazaubiel, 2011). Todo ello podría estar muy relacionado con la función que estos tienen en la regulación de la microbiota intestinal, así como su efecto en el eje HHA y en vías del sistema nervioso (Mohammadi et al., 2016).

5.4.3. Efecto sobre los niveles de ansiedad percibidos: STAI ansiedad-estado y ansiedad-rasgo

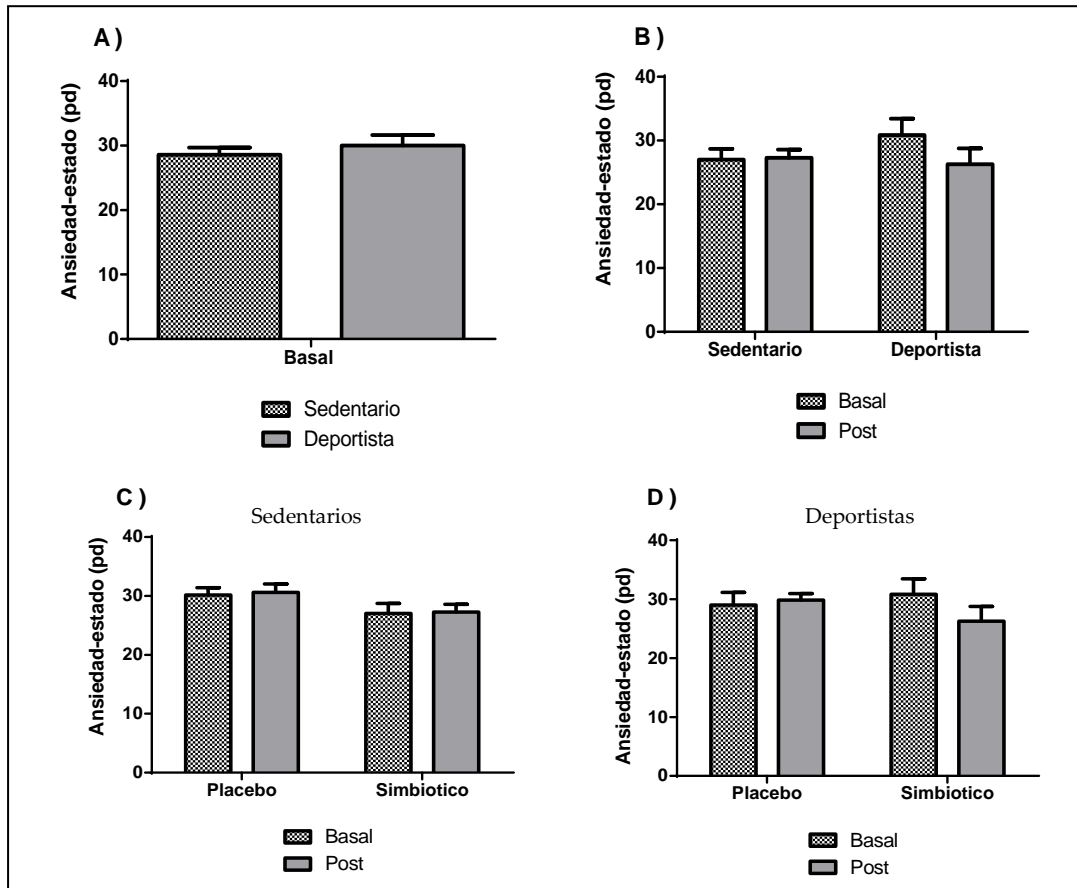


Figura 19. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre los niveles de ansiedad-estado. A) Resultados basales de los niveles de ansiedad-estado en hombres sedentarios ($n=14$) y deportistas ($n=13$); B) Influencia del entrenamiento sobre los efectos del simbiótico en los niveles de ansiedad-estado ($n=7$ y $n=6$ en grupos sedentario y deportista respectivamente); C) Efecto del consumo de un simbiótico sobre los niveles de ansiedad-estado en individuos sedentarios con placebo ($n=7$) o con simbiótico ($n=7$); D) Efecto del consumo de un simbiótico sobre los niveles de ansiedad-estado en individuos deportistas con placebo ($n=6$) o con simbiótico ($n=7$). Las determinaciones se expresan mediante la media \pm EMS de cada una de las muestras.

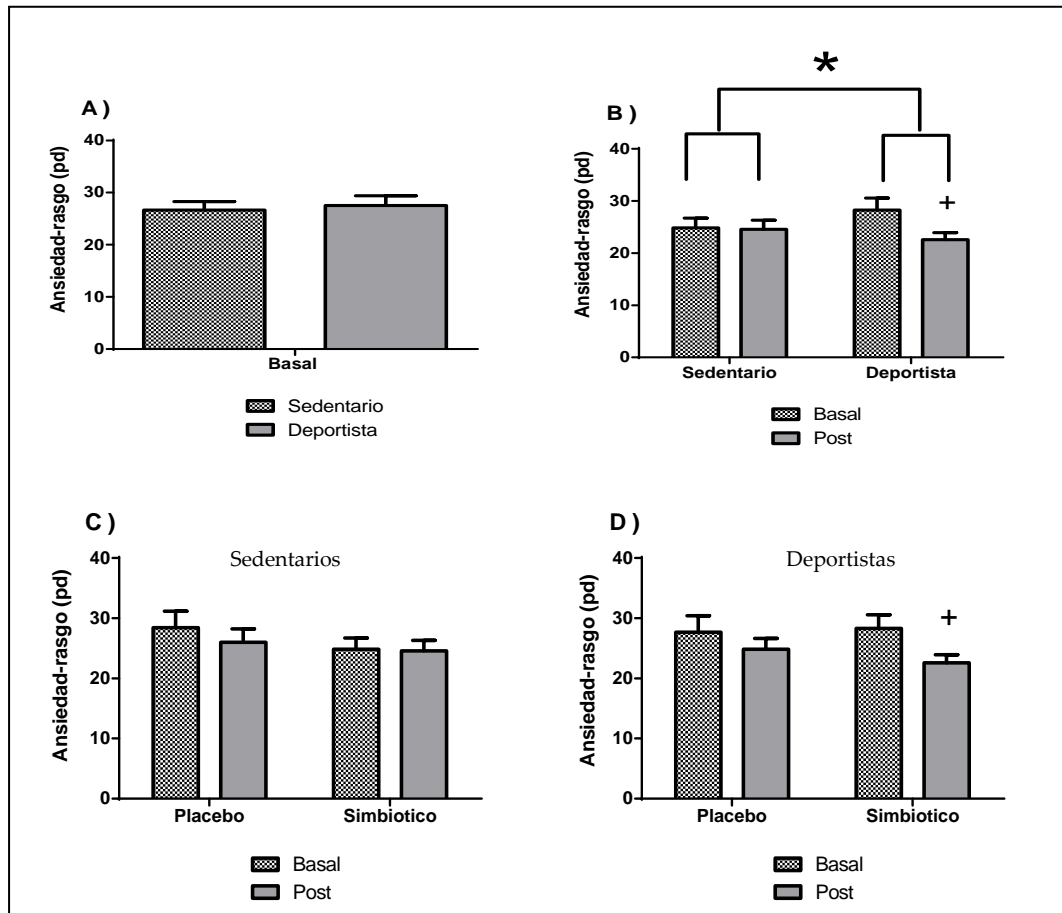


Figura 20. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre los niveles de ansiedad-estado. A) Resultados basales de los niveles de ansiedad-rasgo en hombres sedentarios ($n=14$) y deportistas ($n=13$); B) Influencia del entrenamiento sobre los efectos del simbiótico en los niveles de ansiedad-rasgo ($n=7$ y $n=6$ en grupos sedentario y deportista respectivamente); C) Efecto del consumo de un simbiótico sobre los niveles de ansiedad-rasgo en individuos sedentarios con placebo ($n=7$) o con simbiótico ($n=7$); D) Efecto del consumo de un simbiótico sobre los niveles de ansiedad-rasgo en individuos deportistas con placebo ($n=6$) o con simbiótico ($n=7$). Las determinaciones se expresan mediante la media \pm EMS de cada una de las muestras. * $p<0,05$ grupo sedentario respecto al deportista, + $p<0,05$ respecto al basal.

5.4.4. Efecto sobre los niveles de estrés percibidos

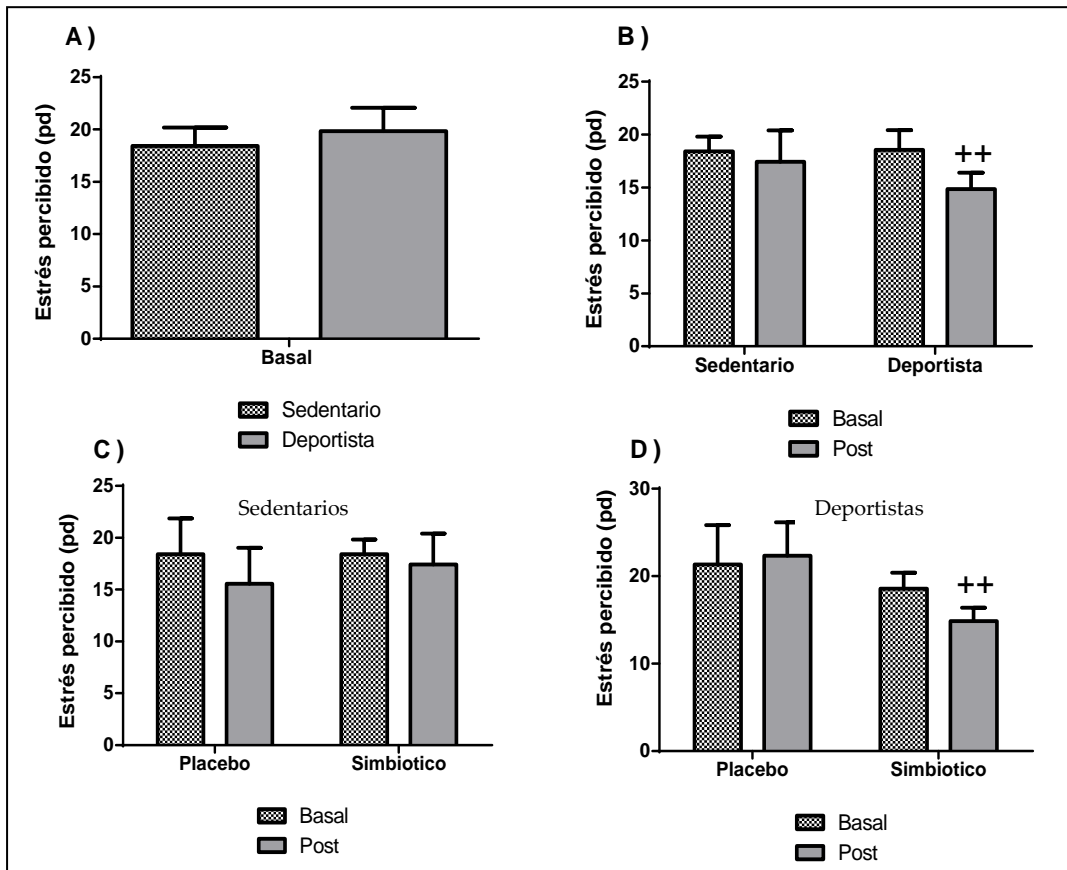


Figura 21. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre los niveles de estrés percibido. A) Resultados basales de los niveles de estrés percibido en hombres sedentarios ($n=14$) y deportistas ($n=13$); B) Influencia del entrenamiento sobre los efectos del simbiótico en los niveles de estrés percibido ($n=7$ y $n=6$ en grupos sedentario y deportista respectivamente); C) Efecto del consumo de un simbiótico sobre los niveles de estrés percibido en individuos sedentarios con placebo ($n=7$) o con simbiótico ($n=7$); D) Efecto del consumo de un simbiótico sobre los niveles de estrés percibido en individuos deportistas con placebo ($n=6$) o con simbiótico ($n=7$). Las determinaciones se expresan mediante la media \pm EMS de cada una de las muestras. ++ $p < 0,01$ respecto al basal.

5.4.5. Efecto sobre los niveles de fatiga percibidos

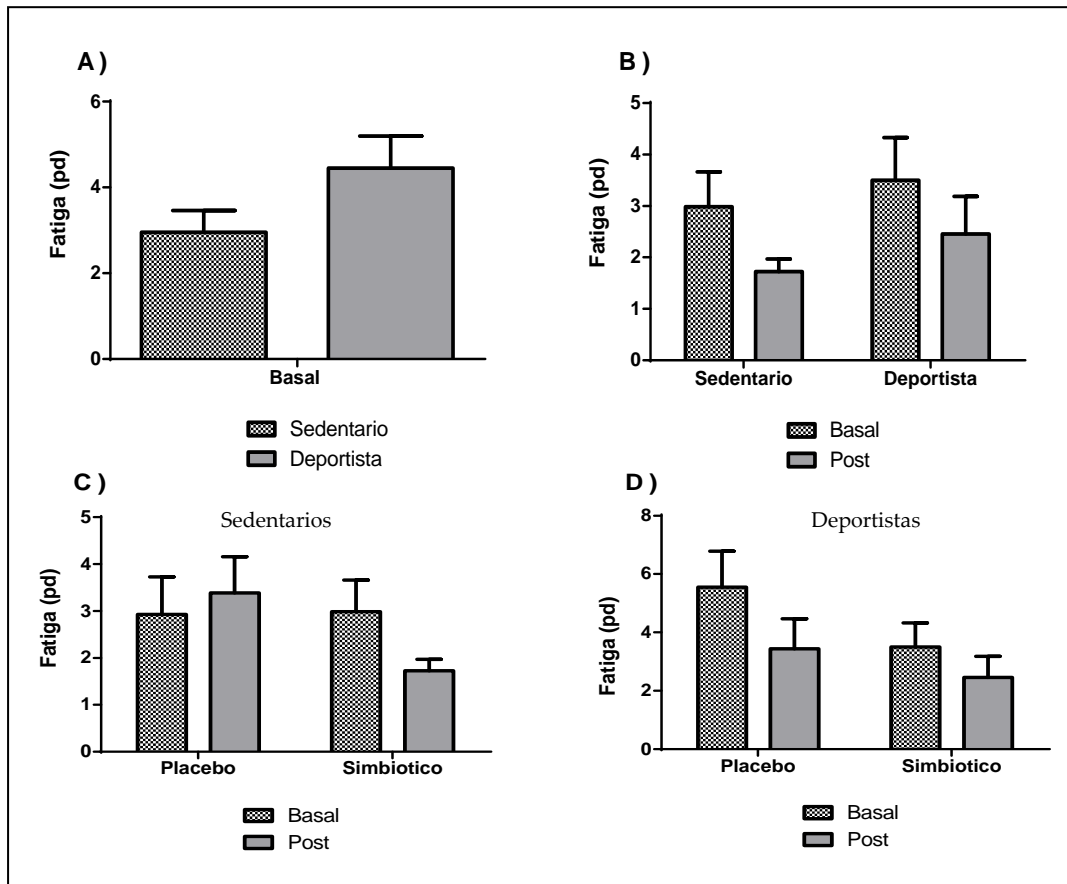


Figura 22. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre los niveles de fatiga percibidos. A) Resultados basales de los niveles de fatiga percibidos en hombres sedentarios (n=14) y deportistas (n=13); B) Influencia del entrenamiento sobre los efectos del simbiótico en los niveles de fatiga percibidos (n=7 y n=6 en grupos sedentario y deportista respectivamente); C) Efecto del consumo de un simbiótico sobre los niveles de fatiga percibidos en individuos sedentarios con placebo (n=7) o con simbiótico (n=7); D) Efecto del consumo de un simbiótico sobre los niveles de fatiga percibidos en individuos deportistas con placebo (n=6) o con simbiótico (n=7). Las determinaciones se expresan mediante la media \pm EMS de cada una de las muestras. * $p < 0,05$ respecto al basal.

5.4.6. Efecto sobre los niveles de depresión percibidos: Depresión de Beck

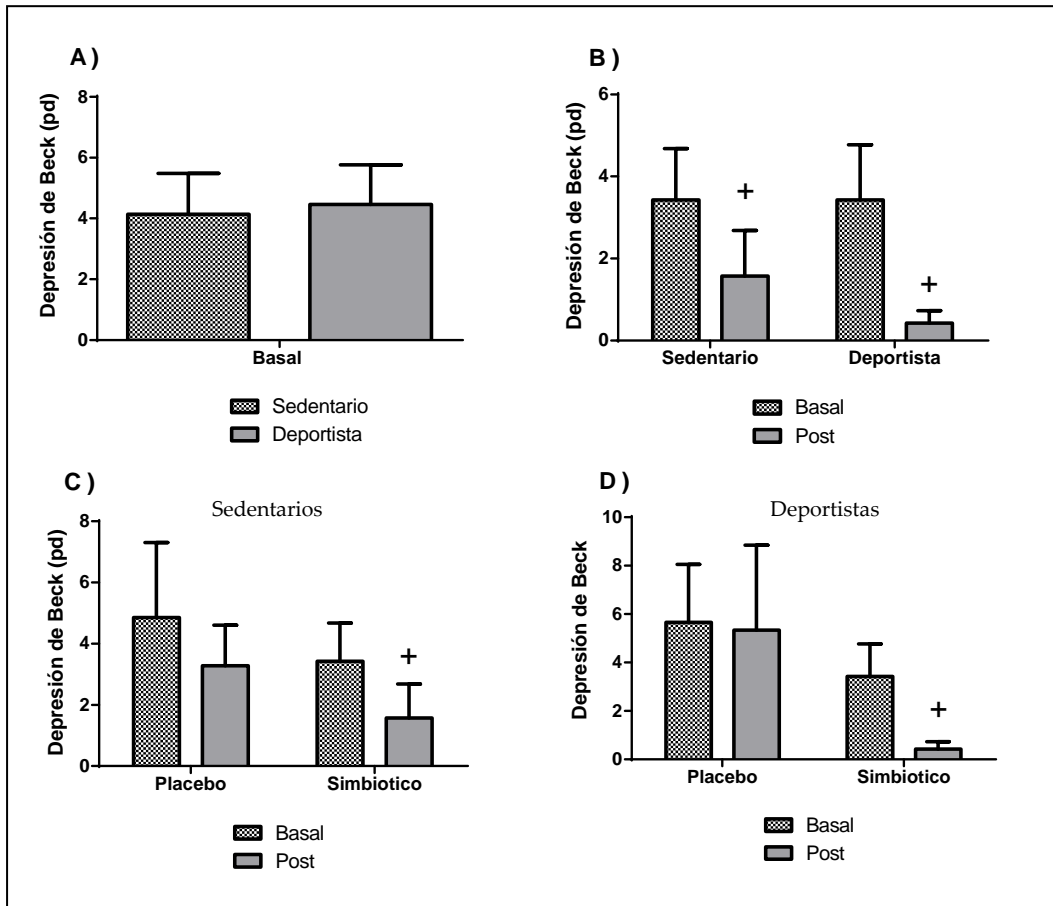


Figura 23. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre los niveles de depresión. A) Resultados basales de los niveles de depresión en hombres sedentarios ($n=14$) y deportistas ($n=13$); B) Influencia del entrenamiento sobre los efectos del simbiótico en los niveles de depresión ($n=7$ y $n=6$ en grupos sedentario y deportista respectivamente); C) Efecto del consumo de un simbiótico sobre los niveles de depresión en individuos sedentarios con placebo ($n=7$) o con simbiótico ($n=7$); D) Efecto del consumo de un simbiótico sobre los niveles de depresión en individuos deportistas con placebo ($n=6$) o con simbiótico ($n=7$). Las determinaciones se expresan mediante la media \pm EMS de cada una de las muestras. + $p < 0,05$ respecto al basal.

Los resultados obtenidos del análisis de los diferentes cuestionarios no muestran diferencias significativas en referencia a sus niveles basales entre el grupo deportista y el grupo sedentario. Sí se observan diferencias estadísticamente significativas en los niveles de ansiedad-rasgo ($p < 0,05$) representado en la figura 20, apreciándose una disminución de la misma en los deportistas intervenidos con el simbiótico, un efecto que no se observa ni en sedentarios ni puede ser atribuido a un efecto placebo. Este mismo efecto se observó en los futbolistas al determinar los niveles de depresión percibidos. Incluso, la administración del simbiótico disminuyó drásticamente y de forma significativa ($p < 0,05$), tanto en sedentarios como en deportistas, influencia que tampoco es atribuida al efecto del placebo (Figura 23). Los efectos beneficiosos de los probióticos en la ansiedad y la depresión podrían explicarse por la exclusión competitiva de patógenos intestinales dañinos, disminución de citoquinas proinflamatorias y cambios en la comunicación con el sistema nervioso central generando cambios en diversos neurotransmisores que pudieran ser claves en dichos niveles de ansiedad (Forsythe, Sudo, Dinan, Taylor & Bienenstock, 2010).

Existen multitud de estudios que han analizado los posibles efectos de algunas cepas probióticas en síntomas de ansiedad y depresión en humanos, muchos de los cuales reportan beneficios tras la intervención. Messaoudi et al. (2011), reportó diferencias significativas en el grupo experimental respecto al control a través de diferentes índices y escalas de medición (HADS, *Hospital Anxiety and Depression Scale*). Así mismo, en otro estudio, se observaron reducciones severas entre los grupos en cuanto a otras escalas de medición (LEIDS-r, *Leiden Index of Depression Sensitivity*) tras el uso de determinadas cepas probióticas: *Bifidobacterium bifidum* W23, *Bifidobacterium lactis* W52, *Lactobacillus acidophilus* W37, *Lactobacillus brevis* W63, *Lactobacillus casei* W56, *Lactobacillus salivarius* W24, y *Lactobacillus lactis* (Steenberger et al., 2015). Dichos estudios coinciden con los resultados obtenidos con Gasteel Plus ® y con otros estudios (Bravo et al., 2011) observando una disminución significativa ($p < 0,05$) de los niveles de depresión en sujetos sedentarios y deportistas que consumieron el simbiótico respecto a sus niveles basales (Figura 23, B).

Marcos et al. (2004) evaluaron los efectos de una determinada cepa probiótica en parámetros inmunitarios y en la ansiedad en una población estudiantil antes y después de un periodo de exámenes. Respecto a los resultados de inmunidad, se observaron mejoras significativas en el aumento de algunos marcadores como linfocitos totales en comparación al grupo control, mientras que en el Inventario de Ansiedad-Rasgo (STAI), se notaron peores resultados en ambos grupos de estudio. Está claro que estos resultados no coinciden con este estudio, en el que los sujetos sedentarios que consumieron el simbiótico no mostraron un aumento en los niveles de ansiedad en dicho cuestionario y todo ello, a pesar de encontrarse en periodo de exámenes.

La fatiga, los trastornos del estado de ánimo, el bajo rendimiento y el malestar gastrointestinal son factores comunes que algunos deportistas sufren durante los periodos competitivos o de mayor intensidad física. Dichas demandas físicas y psicosociales del ejercicio pueden iniciar en sí mismas una respuesta de estrés (Clark & Mach, 2016), que pudieran a su vez generar fatiga, insomnio y una disminución del rendimiento (Purvis, Gonsalves & Deuster, 2010; Mackinnon, 2000). Se observa en este estudio, que el grupo sedentario muestra valores basales más bajos que el grupo deportista (Figura 22 A), y que, sin embargo, se produce una disminución de los niveles de fatiga percibidos en ambos grupos que ingirieron el simbiótico. Estos resultados coinciden con otros que afirman la reducción de fatiga a través del uso de determinadas cepas probióticas (Sullivan et al., 2009; Díaz-Ferrer et al., 2012).

En la figura 21 se observa también cómo, en los niveles de estrés percibidos basales, no se aprecian diferencias entre los sujetos deportistas y sedentarios, mientras que sí que se observa una disminución en sujetos deportistas que habían consumido el simbiótico ($p < 0,01$) frente al placebo. Esto coincide con multitud de estudios que afirman que el estrés juega un papel muy importante en la salud gastrointestinal (Lyte, Vulchanova & Brown, 2011), generando ciertas respuestas que pudieran ser mediadas por bacterias que pudieran ser beneficiosas para el organismo (Clarke et al., 2014; Walsh et al., 2011). Son muchos los posibles mecanismos de acción propuestos pero aún no

existe suficiente literatura que determine la causa principal de dichos resultados (Messaoudi et al., 2011).

5.5 EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DEL SIMBIÓTICO SOBRE LOS PARÁMETROS METABÓLICOS EN INDIVIDUOS SEDENTARIOS Y DEPORTISTAS

5.5.1. Efecto sobre el perfil glucémico y lipídico:

Actualmente, y debido a los diferentes estilos de vida (sedentarismo, pautas alimentarias inadecuadas), ha aumentado el número de enfermedades cardiovasculares y metabólicas, como pueden ser la diabetes, la obesidad y el síndrome metabólico (Quilés, Portolés, Vicente Sorlí & Corell, 2015). Los diversos trastornos en el perfil glucémico y lipídico, caracterizados por niveles elevados de triglicéridos y colesterol, constituyen factores predisponentes para el desarrollo de dichas enfermedades.

Además del ejercicio, la dieta se plantea como la principal intervención para establecer cambios en el perfil lipídico y glucémico, donde los probióticos y prebióticos podrían ser de gran interés en la reducción de lípidos en la sangre (Mazloom, Yousefinejad & Dabbaghmanesh, 2013; Saéz-Lara, Robles-Sanchez, Ruiz-Ojeda, Plaza-Díaz & Gil, 2016). Los lactobacilos y las bifidobacterias son los principales géneros probióticos relacionados con la reducción del colesterol, aunque otras bacterias comparables como el ácido láctico y el enterococo también podrían tener resultados similares (Ali, Velasques, Hansen, Mohamed & Bhatena, 2004). Gilliland & Walker (1990), observaron que unas determinadas cepas de *Lactobacillus acidophilus* podían disminuir la absorción del colesterol al mejorar la unión de dicho colesterol al lumen intestinal. Otras posibles propiedades reductoras del colesterol a través del uso de probióticos son la descojugación de la bilis por la hidrólisis de las sales biliares. Aunque los mecanismos de dichos resultados parece que aún no están del todo claros (Gilliland, Nelson & Maxwell, 1985). Los principales resultados obtenidos en este estudio, reflejados en la tabla 7, muestran, en primer lugar, que tanto el grupo de individuos sedentarios como el de deportistas presentaron un rango de perfil lipídico y glucémico compatibles con rangos normales y saludables, por lo que en

principio, parecería poco probable que el consumo del simbiótico conllevara a un efecto apreciable o significativo.

Tabla 7. Resultados del perfil glucémico y lipídico

| VARIABLE | SEDENTARIOS | | | | DEPORTISTAS | | | |
|-------------------------|----------------|----------------|------------------|----------------|---------------|---------------|------------------|----------------|
| | PLACEBO (n=7) | | SIMBIÓTICO (n=7) | | PLACEBO (n=6) | | SIMBIÓTICO (n=7) | |
| | BASAL | POST | BASAL | POST | BASAL | POST | BASAL | POST |
| Glucosa(mg/dl) | 82 ± 6,45 | 79,71 ± 7,25 | 87,42 ± 9,6 | 81,85 ± 9,33 | 89 ± 6,09 | 86,33 ± 6,05 | 88,28 ± 7,88 | 83,57 ± 6,39 |
| Colesterol total(mg/dl) | 169,28 ± 20,61 | 169,57 ± 15,95 | 154,71 ± 31,23 | 154,14 ± 29,82 | 143,5 ± 17,09 | 141 ± 28,93 | 171,14 ± 22,93 | 164,85 ± 21,25 |
| Colesterol HDL(mg/dl) | 45 ± 8,75 | 45,57 ± 7,18 | 48 ± 4,28 | 49,28 ± 4,78 | 54 ± 10,43 | 50,5 ± 12,73 | 55,42 ± 7,06 | 50,14 ± 8,02* |
| Colesterol LDL(mg/dl) | 104,85 ± 17,35 | 108 ± 14,79 | 94,71 ± 28,84 | 92,71 ± 25,38 | 81,16 ± 17,78 | 79,33 ± 24,13 | 103,42 ± 21,34 | 99 ± 21,14 |
| Triglicéridos (mg/dl) | 96,85 ± 37,72 | 80,42 ± 33,52 | 60,14 ± 23,83 | 60 ± 27,09 | 40,83 ± 19,34 | 56,16 ± 31,13 | 61,85 ± 23,31 | 78,71 ± 44,35 |

* P<0,05 respecto a BASAL. Los resultados se expresan como la media ± desviación estándar. HDL: High Density Lipoprotein; LDL: Low Density lipoprotein.

Respecto a los resultados sobre los niveles de glucemia en sangre, no se aprecian diferencias significativas en ninguno de los grupos ($p>0,05$). Esto coincide con los resultados del estudio de Mazloom et al. (2013) en los que el grupo probiótico no presentó diferencias respecto al grupo control.

Los probióticos y prebióticos, sin embargo, sí que han ofrecido resultados más favorables en el efecto sobre algunos marcadores del perfil lipídico como son el colesterol total, colesterol LDL (lipoproteínas de baja densidad), colesterol HDL (lipoproteínas de alta densidad) y triglicéridos, tal y como muestra en su estudio Ipar et al. (2015), en los que los valores de colesterol total, colesterol LDL y triglicéridos se redujeron significativamente tras un mes de tratamiento con un simbiótico. Otro estudio también afirma mejoras en dichos valores a través del uso de un probiótico combinado con Omega-3 (Rajkumar, Mahmood, Kumad, Varikuti, Challa & Myakala, 2014). No se muestran resultados significativos respecto a dicho perfil lipídico, coincidiendo con varios estudios que mostraron resultados inconsistentes (Parnell & Reimer, 2009; Pourghassem Gargari, Dehghan, Aliasgharzadeh & Asghari Jafar-abadi, 2013), siendo plausible pensar que modificar valores normales y saludables carece de sentido.

5.6 EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DEL SIMBIÓTICO SOBRE LOS PARÁMETROS INMUNITARIOS/INFLAMATORIOS EN INDIVIDUOS SEDENTARIOS Y DEPORTISTAS

El objetivo principal de un programa de entrenamiento de un deportista es mejorar su rendimiento. En este intento de mejora, los deportistas incrementan sus niveles de ejercicio e intensidad, pudiendo generar un estrés físico y mental que pudiera crear malas adaptaciones fisiológicas, así como posibles afecciones en el sistema inmunitario (Hackney & Koltun, 2012). La alta carga musculoesquelética produce daños en el tejido muscular y en la respuesta inflamatoria sistémica, que se transmiten a través de señales químicas inflamatorias del sistema inmune, como son las citoquinas (Lehman et al., 1997). Acorde a Smith (2004), el trauma inflamatorio del tejido resulta en la producción de una serie de citoquinas proinflamatorias (IL-1 β , IL-6, TNF- α), que conllevan al desarrollo de enfermedad o fatiga en el comportamiento del deportista.

En individuos sedentarios dicho estrés suele ser más mental pudiendo generar también una reducción en la inmunocompetencia. Algunos estudios (Petersen & Pedersen, 2005) afirman que, además, la dieta saludable y la realización de actividad física moderada mantienen un estado antiinflamatorio en el tejido adiposo (IL-10), cuya función principal es disminuir la inflamación inducida por el daño en el tejido. En este contexto, es importante reseñar que aquí es fisiológicamente relevante no valorar únicamente una citoquina aislada o un pequeño grupo de citoquinas pro- y anti-inflamatorias, sino que es necesario valorarlas en su conjunto. Es por ello que, en este trabajo, se ha determinado la concentración circulante de citoquinas pro-inflamatorias (IL-1 β , IL-8, TNF- α), de la anti-inflamatoria IL-10 y de la reguladora de la inflamación IL-6 (de carácter tanto pro- como anti-inflamatoria según el contexto de la respuesta inmunitaria). Se observa, tal y como muestran los resultados (figuras 24A, 25A, 26A y 27A) que el grupo de deportistas presentaban, al igual que los sedentarios, unos niveles basales en rangos normales de respuesta inflamatoria.

Esto se corrobora también con la ausencia de detección en los diferentes grupos en los niveles circulantes de IL-6, medidos a través de la técnica Bioplex-Luminex. Además, al no existir una desregulación inflamatoria de base, no cabría esperar un efecto del simbiótico fisiológicamente relevante para una óptima respuesta inflamatoria, que ya era presentada por los individuos objeto de la investigación. Sí se ha observado un efecto modulador del simbiótico en relación, fundamentalmente, a la citoquina IL-1 β ; y paradójicamente un efecto contrario entre individuos sedentarios y deportistas, por lo que la respuesta se podría encuadrar dentro de los denominados efectos bioreguladores (Ortega, 2016) como será especificado más adelante.

Los probióticos y prebióticos podrían ser una buena estrategia para mejorar la salud humana, ya sea a través de inmunomodulación de la inmunidad local, al mantener la integridad de la pared intestinal o por su actuación sobre la inmunidad sistémica (Hao, Dong, Huang & Wu, 2011). Existen multitud de estudios, mayoritariamente con el uso de probióticos, que han estudiado la posible interacción de dichos complementos en el sistema inflamatorio/inmunitario (Clancy et al., 2006; Cox et al., 2010; Gill et al., 2016a; Gill et al., 2017b; Gepner et al., 2017; Lampretcht et al., 2012) y otros, aunque en menor medida, con simbióticos (West et al., 2012; Roberts et al., 2016; Coman et al., 2017).

Los resultados de las citoquinas participantes en la respuesta inflamatoria analizadas en esta investigación se muestran a continuación en las figuras de la 24 a la 27.

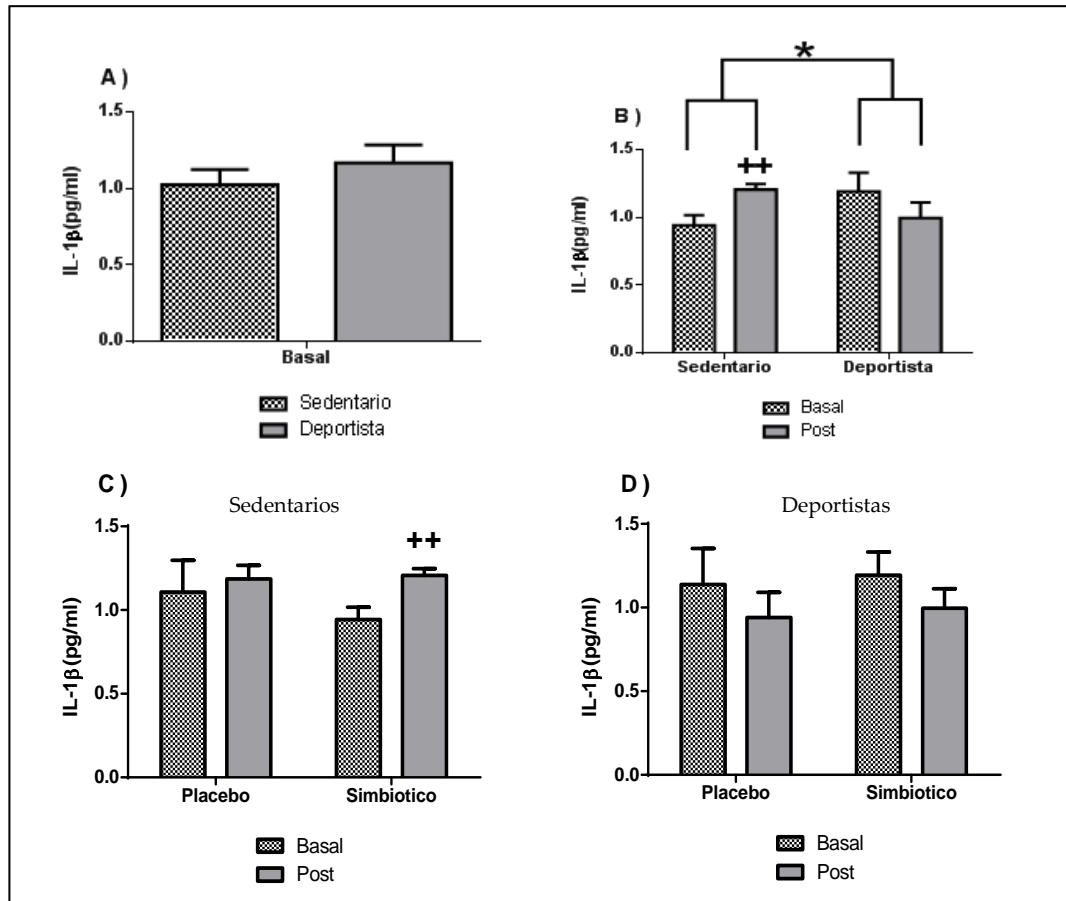
5.6.1. Efecto sobre la citoquina IL-1 β 

Figura 24. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre la citoquina IL-1 β . A) Concentraciones séricas basales de IL-1 β en hombres sedentarios (n=14) y deportistas (n=13); B) Influencia del entrenamiento sobre los efectos del simbiótico en la concentración sérica de IL-1 β (n=7 y n=6 en grupos sedentario y deportista respectivamente); C) Efecto del consumo de un simbiótico sobre la IL-1 β en individuos sedentarios con placebo (n=7) o con simbiótico (n=7); D) Efecto del consumo de un simbiótico sobre la IL-1 β en individuos deportistas con placebo (n=6) o con simbiótico (n=7). Las determinaciones se expresan mediante la media \pm EMS de cada una de las muestras. *p<0,05 grupo sedentario respecto a deportista; ++p<0,01 respecto al basal.

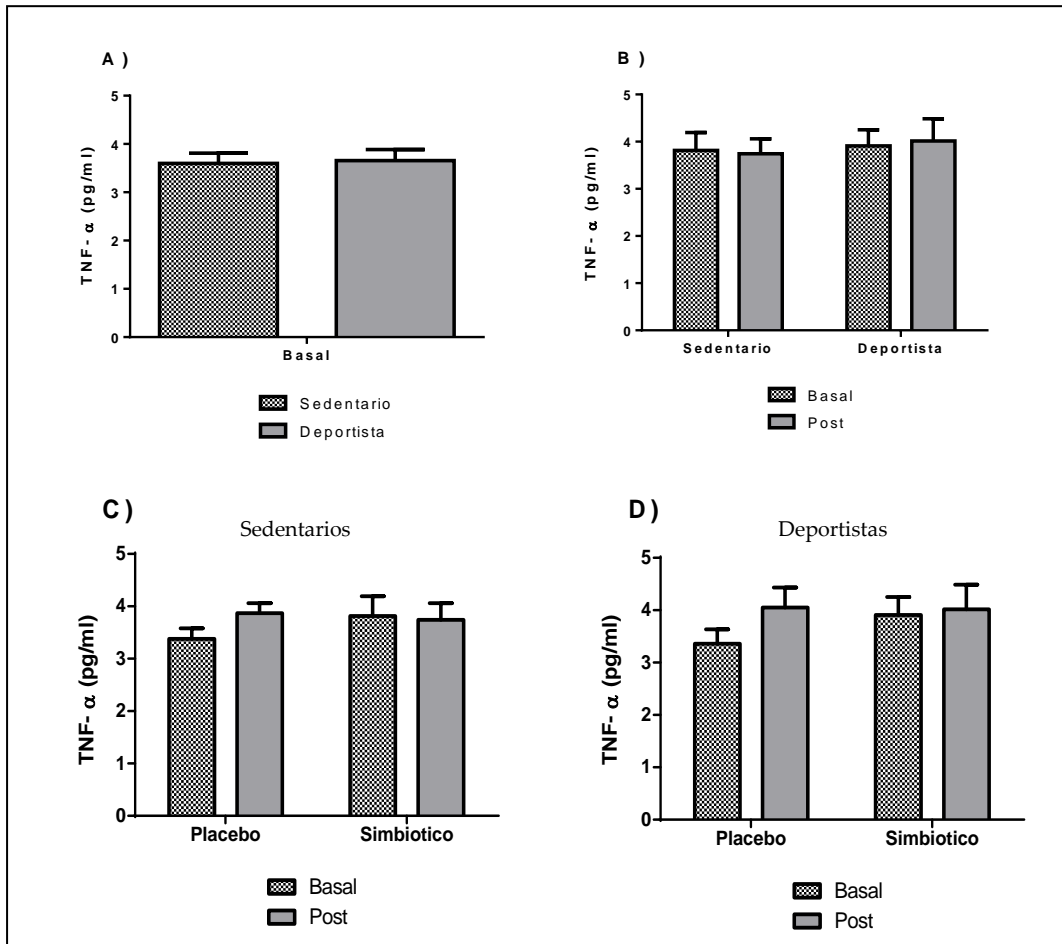
5.6.2. Efecto sobre la citoquina TNF- α 

Figura 25. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre la citoquina TNF- α . A) Concentraciones séricas basales de TNF- α en hombres sedentarios (n=14) y deportistas (n=13); B) Influencia del entrenamiento sobre los efectos del simbiótico en la concentración sérica de TNF- α (n=7 y n=6 en grupos sedentarios y deportistas respectivamente); C) Efecto del consumo de un simbiótico sobre la TNF- α en individuos sedentarios con placebo (n=7) o con simbiótico (n=7); D) Efecto del consumo de un simbiótico sobre la TNF- α en individuos deportistas con placebo (n=6) o con simbiótico (n=7). Las determinaciones se expresan mediante la media \pm EMS de cada una de las muestras.

5.6.3. Efecto sobre la citoquina IL-8

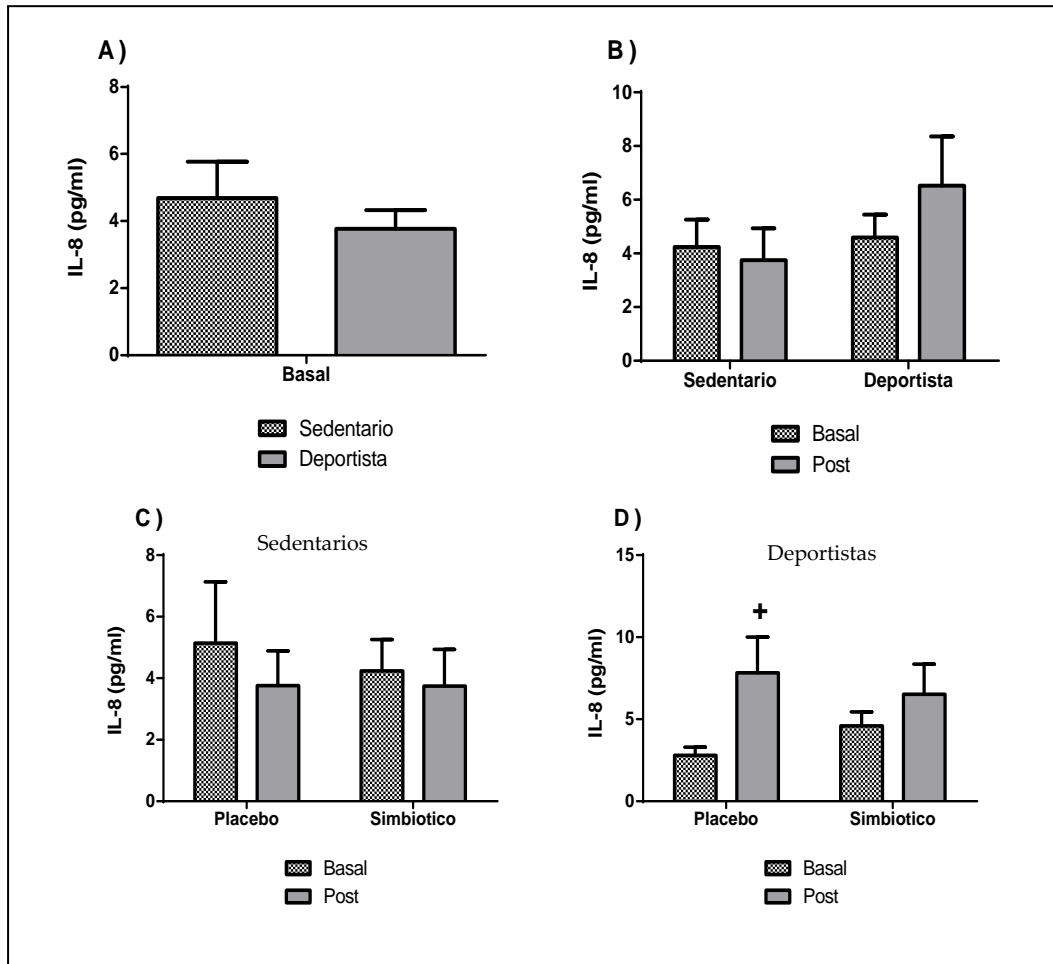


Figura 26. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre la citoquina IL-8. A) Concentraciones séricas basales de IL-8 en hombres sedentarios (n=14) y deportistas (n=13); B) Influencia del entrenamiento sobre los efectos del simbiótico en la concentración sérica de IL-8 (n=7 y n=6 en grupos sedentario y deportista respectivamente); C) Efecto del consumo de un simbiótico sobre la IL-8 en individuos sedentarios con placebo (n=7) o con simbiótico (n=7); D) Efecto del consumo de un simbiótico sobre la IL-8 en individuos deportistas con placebo (n=6) o con simbiótico (n=7). Las determinaciones se expresan mediante la media \pm EMS de cada una de las muestras. ⁺p<0,05 respecto al basal

5.6.4. Efecto sobre la citoquina IL-10

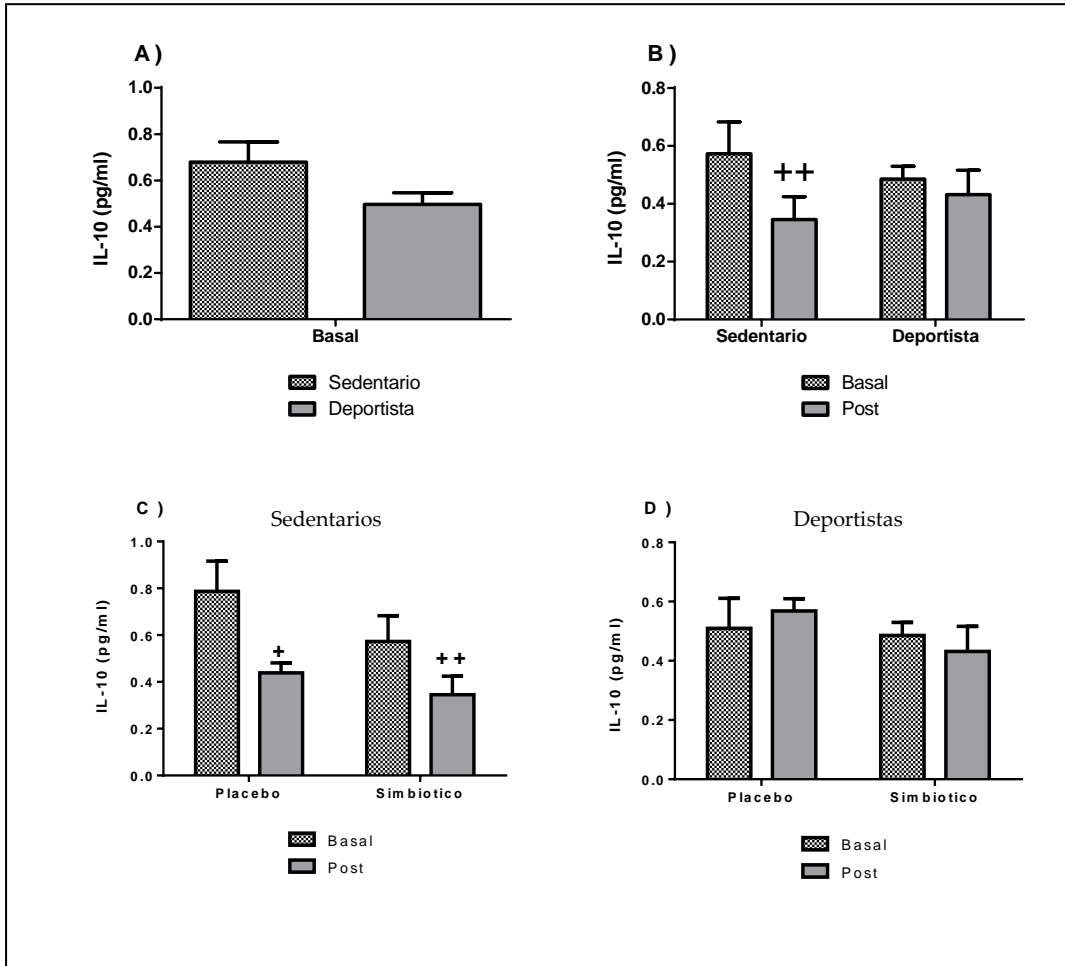


Figura 27. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre la citoquina IL-10. A) Concentraciones séricas basales de IL-10 en hombres sedentarios (n=14) y deportistas (n=13); B) Influencia del entrenamiento sobre los efectos del simbiótico en la concentración sérica de IL-10 (n=7 y n=6 en grupos sedentario y deportista respectivamente); C) Efecto del consumo de un simbiótico sobre la IL-10 en individuos sedentarios con placebo (n=7) o con simbiótico (n=7); D) Efecto del consumo de un simbiótico sobre la IL-10 en individuos deportistas con placebo (n=6) o con simbiótico (n=7). Las determinaciones se expresan mediante la media \pm EMS de cada una de las muestras. ⁺p<0,05 y ⁺⁺p<0,01 respecto al basal.

5.6.5. Efecto sobre la citoquina IL-6

La citoquina IL-6 no se detectó en la mayoría de los participantes en el suero analizado con el kit de detección y sensibilización utilizados (límite de detección de 7,45 pg/ml) y a través del sistema Bioplex-Luminex. Por tanto, aunque no se pudieron establecer comparaciones medias entre grupos, sí que se puede afirmar con estos resultados que los grupos experimentales no presentaban una respuesta inflamatoria desregulada.

Como se puede apreciar en la figura 24 (B) las diferencias existentes al analizar la interacción estadística ($p < 0,05$) que existe entre el grupo sedentario y el grupo deportista que habían recibido el tratamiento simbiótico. Se aprecia una disminución, aunque no estadísticamente significativa, de la citoquina IL-1 β en deportistas, mientras que el comportamiento en los sedentarios es inverso, produciéndose un aumento, que es a su vez significativo ($p < 0,01$) y que, además, no se observa en el grupo placebo (figura 24C). Este hecho parece tener fundamento en un aparente mayor nivel de IL-1 β basal en los deportistas (figura 24B) y que constituye un claro ejemplo del “efecto bioregulador del simbiótico”, el cual es pro-inflamatorio en individuos sedentarios (potencialmente ayudando a prevenir infecciones) y anti-inflamatorio en deportistas con niveles elevados; según la hipótesis biorreguladora de la respuesta innata/inflamatoria (Ortega, 2016). Asimismo, se observa en la figura 27 (B y C) la disminución en la interleuquina 10 (IL-10) inducida por el simbiótico en el grupo sedentario ($p < 0,01$) que pudiera contribuir al efecto pro-inflamatorio en estos, si bien también se observó en el grupo placebo ($p < 0,05$) mostrado en la figura 27 C. Dichos resultados podrían deberse al efecto en sí del deporte. Según Ortega (2016), el ejercicio regular puede inducir a una estabilización neuroinmunoendocrina en personas con inflamación desregulada y la retroalimentación de estrés, al reducir la presencia de hormonas de estrés y citoquinas inflamatorias. Respuestas anti-inflamatorias y anti-estrés parecen ser también inducidas, lo que se conoce y ya ha sido comentado previamente como efecto bioregulador del ejercicio.

Además, no se observaron diferencias significativas ($p > 0,05$) en los niveles del tumor de necrosis alfa (TNF- α) tal y como se refleja en la figura 25.

Esto coincide con los resultados de Gill et al. (2016) en los que la suplementación con *L.casei* durante un periodo de 7 días no indujo cambios significativos en algunas citoquinas que fueron analizadas (TNF- α , IL-8, IL-1 β , IL-6 e IL-10). Estos estudios son contradictorios a otros en los que sí que se producen cambios significativos en algunas de las citoquinas anteriormente mencionadas. Según Gepner et al. (2017), afirma que se produjeron cambios en los valores circulantes en plasma de las citoquinas TNF- α , IL-1 β e IL2 tras el consumo de un probiótico *Bacillus coagulans* combinado con calcio. Según Lampretch et al. (2012) la citoquina TNF- α mostró niveles basales similares, mientras que después de 14 semanas de tratamiento con probióticos, esta disminuyó significativamente en el grupo experimental.

El aumento de la IL-6 en la circulación durante el ejercicio parece ser la causa del aumento posterior de las concentraciones de la citoquina antiinflamatoria IL-10, y el receptor antagónico de IL-1, que estimulan la liberación de cortisol (hormona que suprime el sistema inmunológico) por parte de las glándulas suprarrenales (Keller, Steensberg, Hansen, Fischer, Plomgaard & Pedersen, 2005). Según Ibrahim et al. (2017), no se observaron diferencias significativas en la IL-6 en su estudio realizado en sujetos sedentarios sanos que tuvieron tratamiento probiótico. A su vez concuerda con los resultados de Lampretch et al. (2012) en su estudio a 23 hombres deportistas, en el que la IL6 no tuvo significación conforme al tratamiento. No obstante, a la luz de los resultados, ni el deporte realizado, ni el consumo del simbiótico, inducen el aumento de esta citoquina, si bien puede ser planteables nuevos estudios que mejoren la sensibilidad del límite de detección.

Otra de las variables inmunitarias que ha adquirido una especial atención por parte de los investigadores es la inmunoglobulina A (IgA). Dicha variable en saliva (sIgA) se ha asociado constantemente con la incidencia de infecciones, donde bajas concentraciones o caídas transitorias sustanciales de dicha variable se relaciona con un aumento de las enfermedades del tracto respiratorio superior (Neville et al., 2008).

Además, la mayoría de los estudios en los que está involucrado el ejercicio monitorean los posibles cambios de la inmunoglobulina A en saliva, ya que es un anticuerpo crítico para la inmunidad de la mucosa, así como para otros cambios que han sido registrados en marcadores inmunitarios (Dahl, Benterki, Girard & Tompkins, 2016). Gleeson et al. (2011), en su estudio, concluyen que la ingesta regular de un probiótico, *Lactobacillus casei* parece ser beneficioso en la reducción de la frecuencia de síntomas del tracto respiratorio superior, y todo ello, debido a un mantenimiento en los niveles de IgA en saliva, que coincide, además, con los resultados de otros estudios (Clancy et al., 2006; Neville et al., 2008), sugiriendo un hallazgo importante: el aumento de la inmunidad de la mucosa debido a la administración de probióticos serviría para proteger contra la infección debido a patógenos que penetran en la mucosa.

También se observó en un estudio con jugadores de elite de rugby, que la ingesta de una cepa determinada de probióticos (*Lactobacillus gasseri*; *Bifidobacterium bifidum* and *Bifidobacterium longum*), redujo la incidencia de cualquier síntoma de infección (Haywood, Black, Baker, McGarvey, Healey & Brown, 2014). Además de otros estudios experimentales (Michalickova, Minic, Dikic, Andjelkovic, Kostic-Vucicevic, Stojmenovic & Djordjevic, 2016; Salarkia et al., 2013) que afirman que el consumo de dichos complementos reduce síntomas de infección y del tracto respiratorio, y produce una mejora general del rendimiento en población deportista, y por ende, una mejora del consumo máximo de oxígeno (VO_{2max}).

Existe una falta de concreción metodológica en muchos de los estudios de la literatura en referencia a marcadores inflamatorios e inmunitarios. No es así en el estudio de Cox et al. (2010), donde se concluyeron resultados clínicos relevantes, observándose que no se produjeron cambios significativos en la inmunoglobulina A en saliva entre el grupo placebo y el grupo experimental que consumió un probiótico *Lactobacillus fermentum*. Además, otros autores (Gill et al., 2016) mantienen que la suplementación probiótica durante un periodo de siete días no produjo cambios sobre las respuestas de proteínas antimicrobianas salivales en comparación con el grupo placebo.

Estos resultados están en concordancia con los resultados obtenidos en esta tesis doctoral, en los cuales no se producen cambios significativos ($p > 0,05$) entre grupos ni a consecuencia del simbiótico (Figura 28), quizás debido al corto periodo de tratamiento. Sin embargo, se observa un mayor aumento en los niveles de inmunoglobulina A en el grupo de deportistas que tomaron el simbiótico respecto al grupo de deportistas que consumieron el placebo, todo ello podría justificar la compensación, en el grupo de deportistas, de sus niveles ligeramente disminuidos en relación a los sedentarios. Serán necesarios futuros trabajos en los que el tiempo de intervención sea mayor a 30 días.

Además, existen controversias entre los resultados de los diversos estudios debido al uso diferente de género de bacterias, así como el tipo de población sometida a estudio. Se hace necesario, para obtener futuros y más concisos resultados, una mayor unificación metodológica, así como una óptima selección de los marcadores funcionales que se vayan a determinar.

5.6.6. Efecto sobre la inmunoglobulina A (IgA)

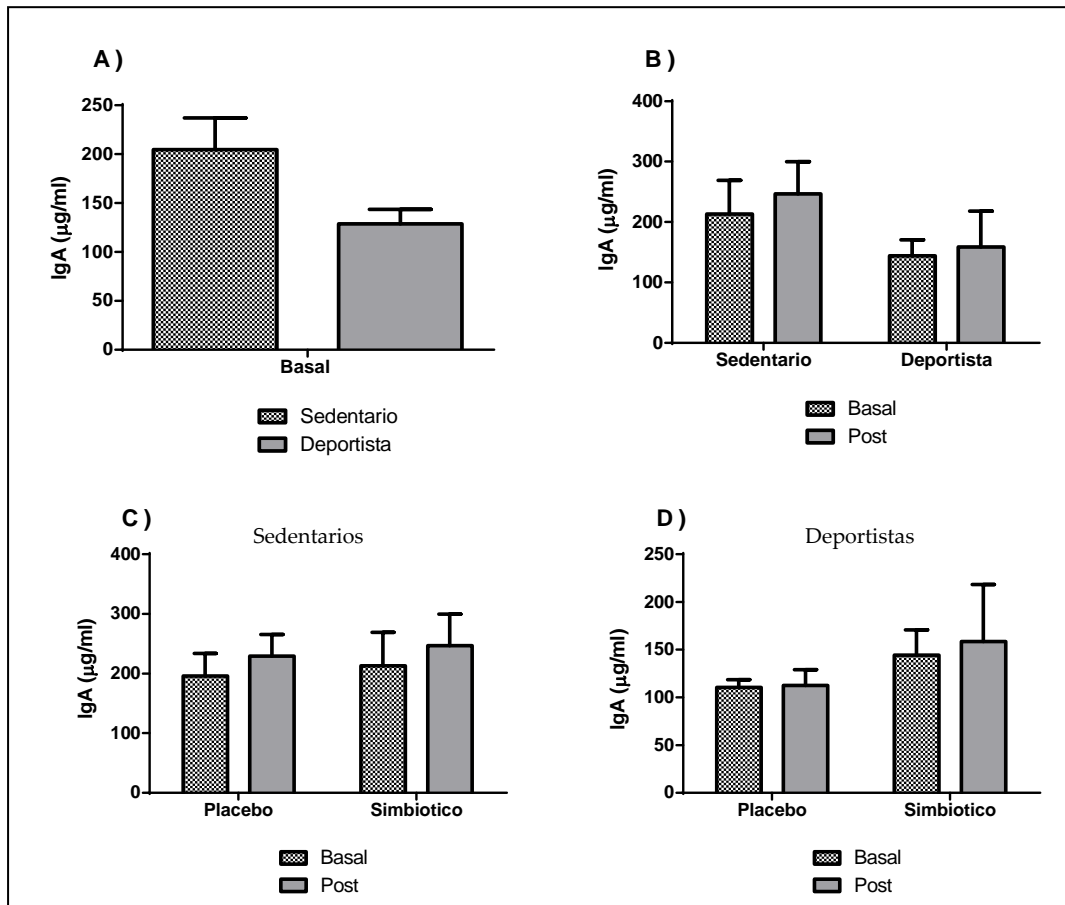


Figura 28. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre la inmunoglobulina A (IgA). A) Concentraciones en saliva basales de IgA en hombres sedentarios ($n=14$) y deportistas ($n=13$); B) Influencia del entrenamiento sobre los efectos del simbiótico en la concentración en saliva de IgA ($n=7$ y $n=6$ en grupos sedentario y deportista respectivamente); C) Efecto del consumo de un simbiótico sobre la IgA en individuos sedentarios con placebo ($n=7$) o con simbiótico ($n=7$); D) Efecto del consumo de un simbiótico sobre la IgA en individuos deportistas con placebo ($n=6$) o con simbiótico ($n=7$). Las determinaciones se expresan mediante la media \pm EMS de cada una de las muestras.

5.7 EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DEL SIMBIÓTICO SOBRE LOS PARÁMETROS NEUROENDOCRINOS EN INDIVIDUOS SEDENTARIOS Y DEPORTISTAS

Durante el ejercicio, y debido a la activación del eje HHA (hipotálamo-hipófisis-adrenal) y del sistema nervioso simpático, aumenta la secreción de cortisol y adrenalina, así como la liberación de otras catecolaminas como son la noradrenalina (médula suprarrenal) y la hormona adrenocorticotropina (ACTH), que estimula la secreción de cortisol poco después de iniciar el ejercicio. El cortisol ejerce un gran efecto antiinflamatorio, y las catecolaminas disminuyen la producción de algunas citoquinas inflamatorias (Cupps & Fauci, 1982; Bergmann, Gornikiewicz, Sautner, Waldmann, Weber, Mittlböck & Függer, 1999). Dichas catecolaminas y glucocorticoides vertidos al sistema circulatorio alcanzan finalmente tejidos periféricos, como son el tracto gastrointestinal y el sistema cardiovascular (Ulrich-lai, 2009).

Además, aparece una respuesta de estrés cuando un individuo se enfrenta a un cambio endógeno o exógeno percibido como amenazante o poco placentero, producido no solo por un estímulo físico, sino también psicológico (Galley et al., 2014). Existe evidencia de que, además, la microbiota intestinal modula una serie de neurotransmisores excitatorios e inhibitorios (serotonina, dopamina y el ácido gamma-aminobutírico o GABA), así como otras sustancias similares a los neurotransmisores, especialmente en posibles situaciones de estrés físico y emocional (Clarke et al., 2014; Moloney, Desbonnet, Clarke, Dinan & Cryan, 2014). Es por ello que la dieta se sitúa como parte principal del mecanismo de regulación de este eje de comunicación “intestino-cerebro”, entrando en juego el papel de los probióticos, prebióticos y simbióticos. Las figuras (de la 29 a la 34) reflejan los principales resultados obtenidos en las determinaciones de las catecolaminas sistémicas, neurotransmisores y diversas hormonas de esta investigación.

5.7.1. Efecto sobre los niveles de las catecolaminas sistémicas: dopamina, epinefrina y norepinefrina

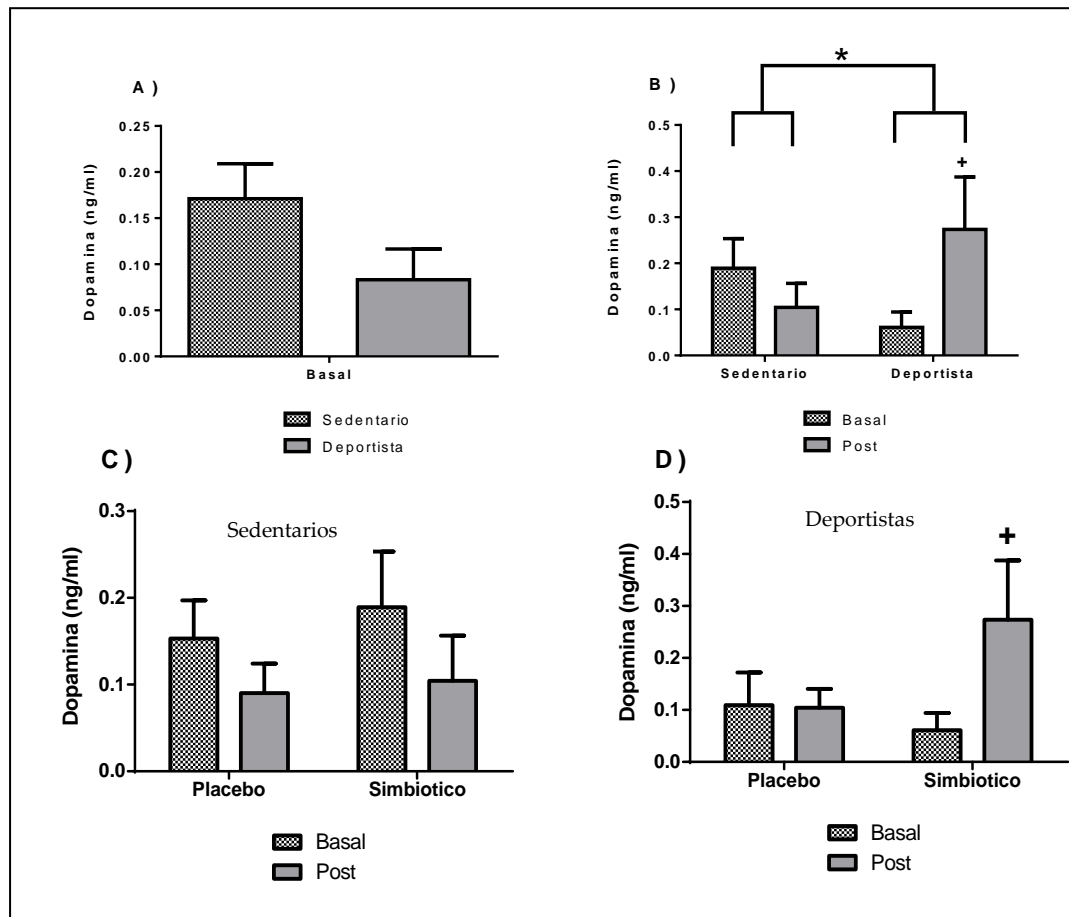


Figura 29. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre la catecolamina sistémica dopamina. A) Concentraciones séricas basales de dopamina en hombres sedentarios (n=14) y deportistas (n=13); B) Influencia del entrenamiento sobre los efectos del simbiótico en la concentración sérica de dopamina (n=7 y n=6 en grupos sedentario y deportista respectivamente); C) Efecto del consumo de un simbiótico sobre la dopamina en individuos sedentarios con placebo (n=7) o con simbiótico (n=7); D) Efecto del consumo de un simbiótico sobre la dopamina en individuos deportistas con placebo (n=6) o con simbiótico (n=7). Las determinaciones se expresan mediante la media \pm EMS de cada una de las muestras. + $p < 0,05$ respecto al basal; * $p < 0,05$ grupo sedentario respecto a deportista.

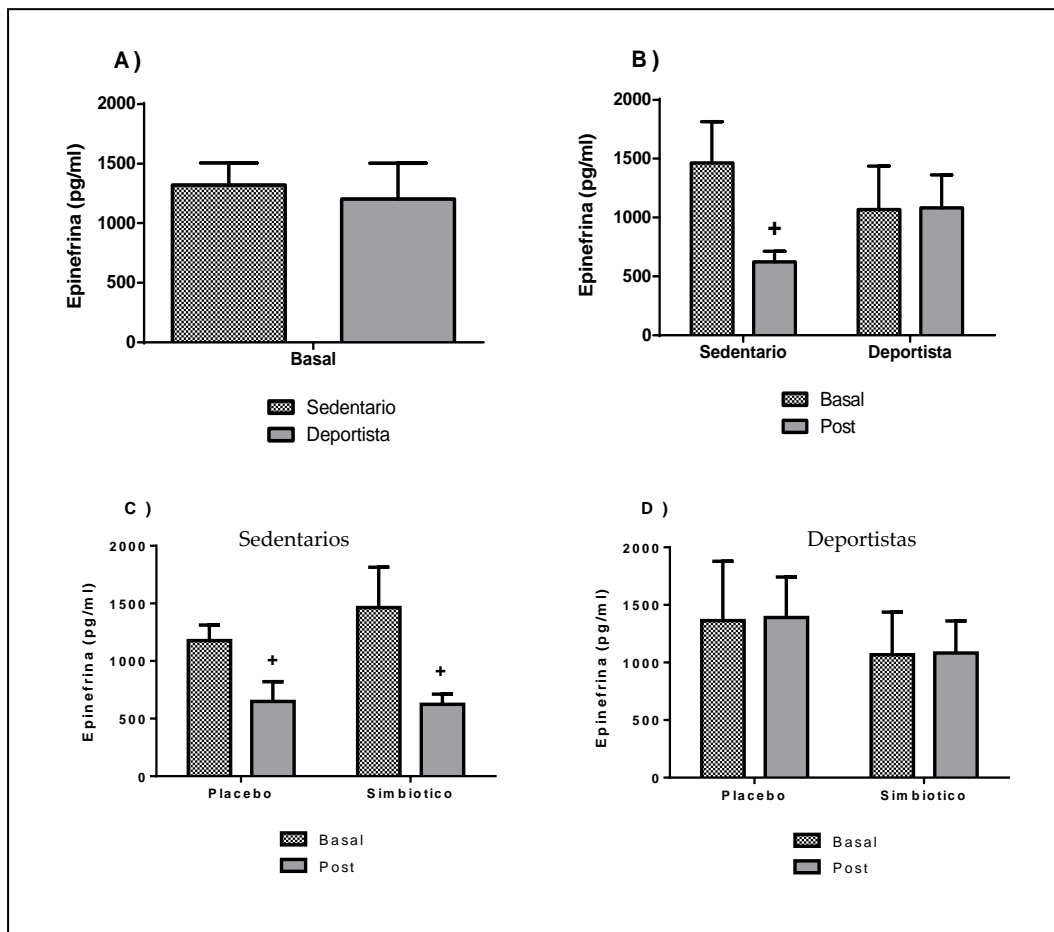


Figura 30. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre la catecolamina sistémica epinefrina. A) Concentraciones séricas basales de epinefrina en hombres sedentarios (n=14) y deportistas (n=13); B) Influencia del entrenamiento sobre los efectos del simbiótico en la concentración sérica de epinefrina (n=7 y n=6 en grupos sedentario y deportista respectivamente); C) Efecto del consumo de un simbiótico sobre la epinefrina en individuos sedentarios con placebo (n=7) o con simbiótico (n=7); D) Efecto del consumo de un simbiótico sobre la epinefrina en individuos deportistas con placebo (n=6) o con simbiótico (n=7). Las determinaciones se expresan mediante la media \pm EMS de cada una de las muestras. ⁺ p<0,05 respecto al basal.

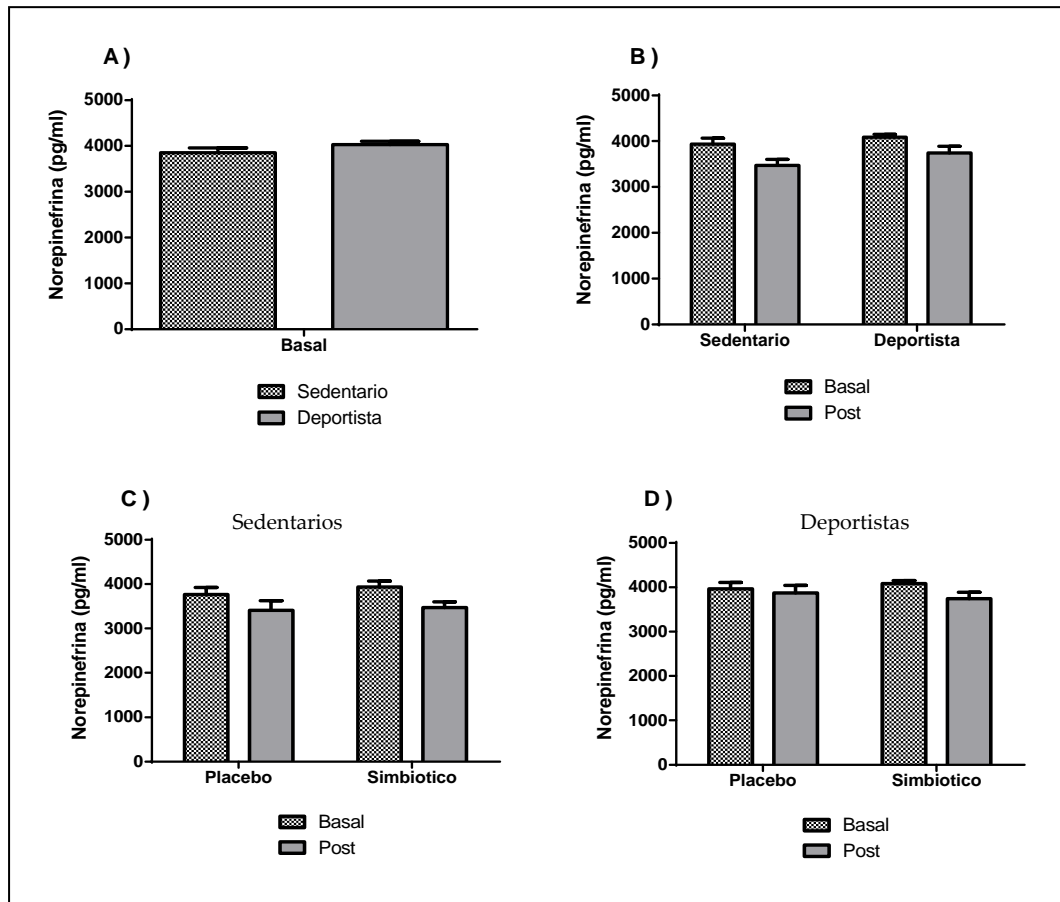


Figura 31. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre la catecolamina sistémica norepinefrina. A) Concentraciones séricas basales de norepinefrina en hombres sedentarios ($n=14$) y deportistas ($n=13$); B) Influencia del entrenamiento sobre los efectos del simbiótico en la concentración sérica de norepinefrina ($n=7$ y $n=6$ en grupos sedentario y deportista respectivamente); C) Efecto del consumo de un simbiótico sobre la norepinefrina en individuos sedentarios con placebo ($n=7$) o con simbiótico ($n=7$); D) Efecto del consumo de un simbiótico sobre la norepinefrina en individuos deportistas con placebo ($n=6$) o con simbiótico ($n=7$). Las determinaciones se expresan mediante la media \pm EMS de cada una de las muestras.

5.7.2. Efecto sobre los niveles sistémicos de la serotonina

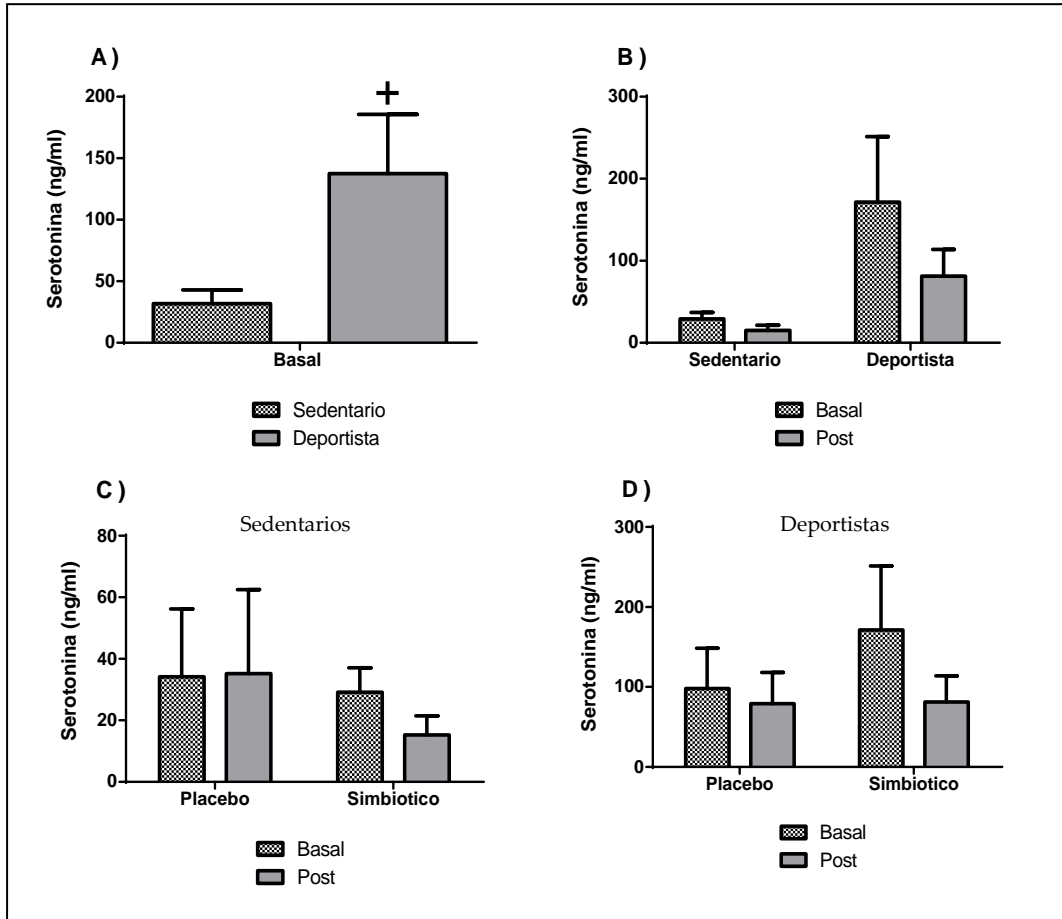


Figura 32. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre la serotonina. A) Concentraciones séricas basales de serotonina en hombres sedentarios (n=14) y deportistas (n=13); B) Influencia del entrenamiento sobre los efectos del simbiótico en la concentración sérica de dopamina (n=7 y n=6 en grupos sedentario y deportista respectivamente); C) Efecto del consumo de un simbiótico sobre la dopamina en individuos sedentarios con placebo (n=7) o con simbiótico (n=7); D) Efecto del consumo de un simbiótico sobre la dopamina en individuos deportistas con placebo (n=6) o con simbiótico (n=7). Las determinaciones se expresan mediante la media \pm EMS de cada una de las muestras. + $p < 0,05$ grupo sedentario respecto a deportista en situación basal.

En la figura 29 se observan los resultados obtenidos de la concentración de dopamina. Lo primero que se aprecia es una menor concentración de dopamina sérica en los deportistas respecto al grupo sedentario, si bien sin diferencias significativas (figura 29 A). Sí se observan diferencias significativas ($p < 0,05$) en el comportamiento entre sujetos sedentarios y deportistas tras la administración del simbiótico, produciéndose una disminución en el grupo de sedentarios y un aumento significativo ($p < 0,05$) en el grupo deportistas respecto a sus niveles basales, compensando claramente los valores basales inferiores. Dichos resultados muestran cómo, además del posible efecto del deporte sobre dicho neurotransmisor, el posible efecto del simbiótico en población deportista. Dicha afirmación coincide con los resultados de Heijnen et al., (2016), que afirman que el ejercicio habitual de una o dos horas al día aumenta los niveles de dopamina en el cerebro. Además, aumentos en la dopamina y serotonina parecen modular la fatiga durante ejercicio prolongado. El agotamiento parece establecerse cuando los niveles de dopamina comienzan a descender mientras los niveles de serotonina aún están elevados (Meeusen & Meirleir., 1995). En este contexto, los resultados obtenidos en este trabajo respecto a la fatiga (figura 22) en los deportistas, podrían estar relacionados con los niveles menores de dopamina junto a los elevados de serotonina (figura 32), pudiendo aquí el simbiótico contrarrestar dichos efectos, puesto que además dicho efecto del simbiótico sobre la dopamina en deportistas no se observa en el grupo placebo (figura 29 D).

La dopamina es precursor de la epinefrina y norepinefrina, sintetizándose, además, en el tracto digestivo durante situaciones de estrés. Su producción depende de varios factores: niveles de tirosina, bacterias entéricas que producen dopamina, el tipo de estrés generado y el sexo de la persona. Existen varios receptores de dopamina en todo el intestino, pudiendo jugar un papel muy importante en el eje intestino-cerebro (Eisenhofer, Aneman, Friberg, Hooper, Frandiks, Lonroth & Mezey, 1997). Algunos estudios muestran cómo determinadas cepas probióticas inducen al aumento en la producción de dopamina en modelos in vitro (Asano et al., 2012; Clarke et al., 2014).

Según Holzer & Farzi (2014), géneros de *Candida*, *Streptococcus*, *Escherichia* y *Enterococcus* sintetizan la serotonina, mientras que géneros de otras cepas *Escherichia*, *Bacillus* y *Saccharomyces* generan dopamina y/o noradrenalina.

Los resultados que se aprecian en la figura 32 muestran los niveles de serotonina obtenidos en este estudio, en los que se observa que sólo existen diferencias significativas ($p < 0,05$) entre los niveles basales del grupo deportista respecto al sedentario, siendo más bajos en este último. La serotonina (5-HT) también es un neurotransmisor clave en el eje intestino-cerebro (Clarke et al., 2014). Aproximadamente el 95% de la serotonina del cuerpo se encuentra en el intestino donde, periféricamente, actúa en la regulación de la secreción gastrointestinal, motilidad y percepción del dolor (Costedio et al., 2007), mientras que en el cerebro tiene gran importancia en el estado de ánimo y en la función cognitiva (Wrase et al., 2006). Además, la serotonina podría tener un importante efecto antidepresivo/ansiolítico tras un moderado nivel de estrés (Otsuka, Nishii, Amemiya, Kubota, Nishijima & Kita, 2016).

Se afirma que el consumo de probióticos incrementa los niveles plasmáticos de triptófano, el precursor de la serotonina (Moore et al., 2000). Naslund et al. (2013) afirman que la inhibición de la enzima que convierte el triptófano en serotonina indolamina-2,3-dioxigenasa (IDO), produjo una disminución de los niveles de serotonina en el cerebro y dichos cambios se asociaron con un comportamiento de ansiedad en un estudio con ratas. Hasta la fecha, el mecanismo específico subyacente de esta interacción sigue siendo desconocido pero deja entrever la estrecha relación entre el sistema nervioso y el sistema endocrino. En general en este trabajo no se ha apreciado un efecto significativo del simbiótico sobre los niveles en sangre de la serotonina.

Las catecolaminas, epinefrina y norepinefrina, son esenciales en la comunicación entre el sistema nervioso, inmunitario y endocrino, pudiendo provocar cambios en bacterias, motilidad intestinal y producción de ácidos biliares, y que a su vez pueden provocar una disbiosis bacteriana (Sudo, 2014).

Los resultados del estudio muestran una disminución significativa ($p < 0,05$) de los niveles de epinefrina en los participantes del grupo sedentario administrados con el simbiótico respecto a sus niveles basales, mientras que no se observan cambios significativos en los niveles de norepinefrina (figura 31). Tampoco se aprecian cambios en los sujetos deportistas ($p > 0,05$). Esto coincide con el estudio de Winder et al. (1978), afirman que la respuesta de las catecolaminas plasmáticas (norepinefrina y epinefrina) se reducen levemente al final de un periodo de entrenamiento.

Hasta la fecha, existen pocos estudios que analicen los efectos de un simbiótico en los niveles de catecolaminas tanto en población deportista como sedentaria. No obstante, la disminución inducida por el simbiótico en los niveles de epinefrina en el grupo sedentario podría estar relacionada con el aumento en este mismo grupo de la concentración de la citoquina IL-1 β . Todo ello puede explicarse debido a que en individuos sanos, una disminución de la epinefrina y las catecolaminas en general, estimulan la liberación de IL-1 a través de macrófagos, así como las citoquinas inflamatorias a través de linfocitos Th1 (Elenkov & Chrousos, 2002; Ortega, 2016).

5.7.3. Efecto sobre el eje hipotálamo-hipófisis adrenal: CRH y cortisol

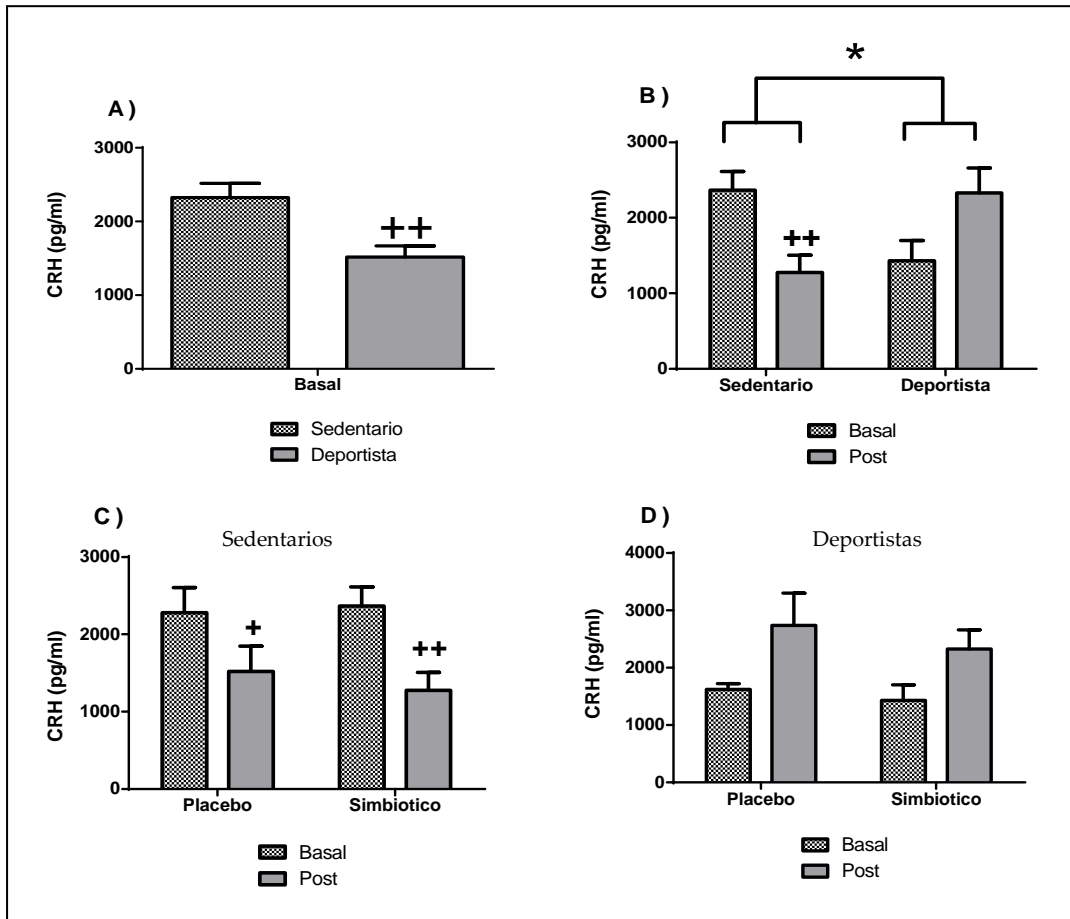


Figura 33. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre la hormona liberadora de corticotropina (CRH). A) Concentraciones séricas basales de CRH en hombres sedentarios (n=14) y deportistas (n=13); B) Influencia del entrenamiento sobre los efectos del simbiótico en la concentración sérica de CRH (n=7 y n=6 en grupos sedentario y deportista respectivamente); C) Efecto del consumo de un simbiótico sobre la CRH en individuos sedentarios con placebo (n=7) o con simbiótico (n=7); D) Efecto del consumo de un simbiótico sobre la CRH en individuos deportistas con placebo (n=6) o con simbiótico (n=7). Las determinaciones se expresan mediante la media \pm EMS de cada una de las muestras. + $p < 0,05$ y ++ $p < 0,01$ respecto al basal; * $p < 0,05$ grupo sedentario respecto a deportista.

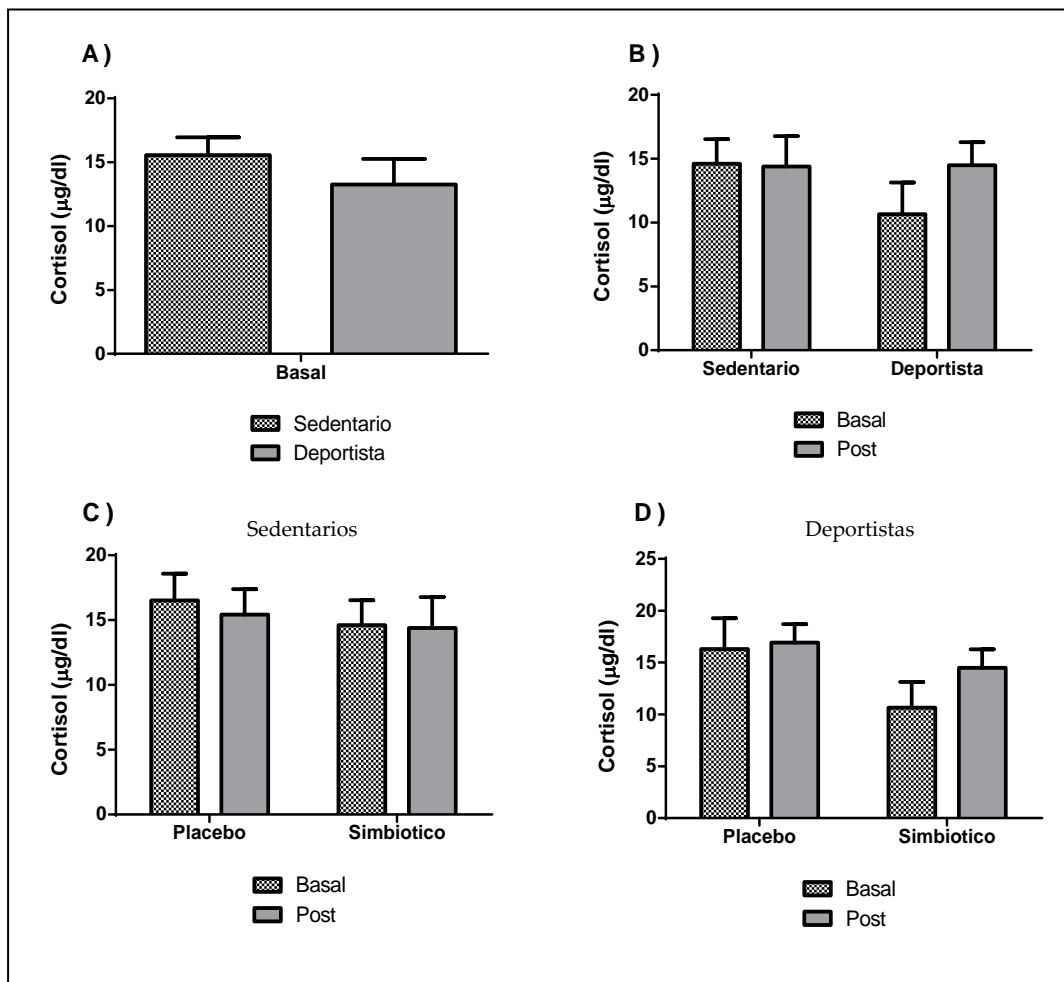


Figura 34. Efecto del entrenamiento y del consumo de un simbiótico en esta condición sobre la hormona cortisol. A) Concentraciones séricas basales de cortisol en hombres sedentarios (n=14) y deportistas (n=13); B) Influencia del entrenamiento sobre los efectos del simbiótico en la concentración sérica de cortisol (n=7 y n=6 en grupos sedentario y deportista respectivamente); C) Efecto del consumo de un simbiótico sobre el cortisol en individuos sedentarios con placebo (n=7) o con simbiótico (n=7); D) Efecto del consumo de un simbiótico sobre el cortisol en individuos deportistas con placebo (n=6) o con simbiótico (n=7). Las determinaciones se expresan mediante la media \pm EMS de cada una de las muestras.

Bajo estrés, el eje HHA, libera cortisol, considerada la hormona del estrés, regulando así el movimiento intestinal y las respuestas del sistema inmunitario (a través de células, citoquinas y secreción de inmunoglobulina A. El estrés, a través del eje mediado por la hormona liberadora de corticotropina (CRH), aumenta la permeabilidad intestinal elevada facilitando así el acceso de los microbios a las células inmunes y neuronales del sistema nervioso intrínseco y en consecuencia, alterando la microbiota intestinal. Altos niveles circulantes de cortisol hacen que la hipófisis anterior disminuya la secreción de ACTH, de la misma forma que altos niveles de ACTH y cortisol pueden ordenar al hipotálamo disminuir la secreción de CRH (Widmaier, 1992), todo ello regulado por el sistema de retroalimentación negativa endocrina.

Se observa en la figura 33 una diferencia significativa ($p < 0,05$) en el comportamiento de secreción de CRH en respuesta al simbiótico entre el grupo deportista y el grupo sedentario, disminuyendo de forma significativa ($p < 0,05$) en el grupo sedentario respecto a sus niveles basales y aumentando ligeramente en el grupo deportista. Se intuye que los niveles de CRH en el grupo deportista aumentan debido al aumento de estrés físico, y sin embargo, disminuyen en el grupo “sedentario simbiótico” pudiendo deberse al efecto del simbiótico. Algunos estudios muestran resultados derivados de la administración de un probiótico (*Lactobacillus farciminis*) que indujeron la atenuación de la respuesta del eje HHA al estrés a través de la prevención del deterioro de la barrera intestinal y la disminución de los niveles circulantes de lipopolisacáridos, significando una mejor protección de frente a desordenes gastrointestinales (Ait-Belgnaoui et al., 2012).

En cualquier caso, parece interesante observar cómo este aparente “comportamiento biorregulador” del simbiótico, entre individuos sedentarios y deportistas con niveles menores basales ($p < 0,05$) de CRH, es similar al observado en el comportamiento de la IL-1 β , siendo por tanto plausible pensar que las variaciones inducidas por el simbiótico en el SNS (ya comentado anteriormente con la epinefrina), y en el eje HHA, ahora a través de variaciones en la CRH, están involucradas en los efectos bioreguladores de la respuesta inflamatoria (Heijnen, Kavelaars & Ballieux, 1991).

No obstante, esta disminución de la CRH también se observó en el grupo “placebo sedentario”, por lo que se hacen necesarias más investigaciones en esta situación estudiada. Además, las variaciones significativas observadas en la CRH únicamente se tradujeron en una ligera menor concentración de los niveles de cortisol en los deportistas respecto a los sedentarios, y en un incremento no significativo en los deportistas en respuesta al consumo del simbiótico.

Es posible que en futuros estudios, además de elevar el número de participantes, fuera necesario un mayor tiempo de intervención para obtener respuestas más significativas y debido a que la modificación de la dieta de una forma positiva para la microbiota intestinal a través del eje de comunicación “intestino-cerebro” se plantea como una mejora fisiológica, no solo para deportistas y su posible mejora en el rendimiento, sino también para la población en general.

VI - CONCLUSIONES

VI - CONCLUSIONES

A continuación se establecen las conclusiones de cada uno de los subobjetivos planteados para la consecución del objetivo general, siendo este el de conocer los efectos del simbiótico Gasteel Plus® y sus posibles diferencias entre población deportista y sedentaria respecto a la respuesta neuroinmunoendocrina y a las características de actividad física cotidiana, calidad de sueño asociada a la salud y calidad de rendimiento deportivo.

A) En relación a la influencia del simbiótico sobre la composición corporal, y como cabía esperar, dado que todos los individuos presentaban normopeso, no se han observado variaciones significativas inducidas por el simbiótico. Sin embargo, a pesar de tener ambos grupos un peso corporal e IMC basales similares, se manifiesta una mayor masa muscular junto a menores niveles de masa grasa en los deportistas, siendo esta una relación muy importante e indicativa de salud. En cualquier caso, se podría resaltar que el consumo del simbiótico no perjudicó estos aspectos en relación a la masa muscular y masa grasa de los futbolistas, que sí aumento, esta última, en población sedentaria durante la intervención.

B) En relación de la influencia de Gasteel Plus® sobre los niveles de actividad física podemos concluir que, en los individuos sedentarios, el simbiótico parece inducir a un aumento en la actividad física y metabólica a través de la determinación objetiva del consumo de kilocalorías mediante acelerometría, mientras que los principales efectos observados en los deportistas fueron, además del aumento en los niveles del consumo de Kcal al igual que en los sedentarios, una mejora significativa y relevante en la calidad del sueño, entre ellas, su eficiencia y latencia.

C) En el estudio de la variabilidad de la frecuencia cardíaca en reposo se comprueba que, en estado basal, la salud cardiovascular de los participantes deportistas es notablemente mejor respecto a los participantes sedentarios. Se observa, además un aumento, aunque no estadísticamente significativo, en la variable RR en deportistas y sedentarios tras el periodo de tratamiento con el

simbiótico, pudiendo indicar una mejora en la reducción de la frecuencia cardíaca en reposo y, por ende, en una mejora de la condición cardíaca, no pudiendo atribuirse a un efecto placebo. Además, el simbiótico no produjo efectos negativos que pudieran afectar a la salud cardiovascular de los grupos estudiados.

D)En relación a la influencia del simbiótico sobre los niveles de “salud percibida”, en primer lugar podemos concluir que nuestro grupo de individuos sedentarios no presentaba una salud percibida inferior al grupo de deportistas y se manifiesta a través de los diferentes cuestionarios de salud, calidad del sueño, ansiedad y estrés, fatiga y depresión.

- Es relevante destacar, que el simbiótico produjo una mejora en la percepción de la calidad de vida de los deportistas, un efecto que no se observó en individuos sedentarios y que no pueden atribuirse a un efecto placebo.
- A diferencia de lo que ocurre en el grupo de individuos sedentarios (en los que no se observaron diferencias inducidas por el simbiótico), Gasteel Plus® indujo en los deportistas a una reducción en los niveles percibidos de ansiedad y estrés; y al igual que en el grupo sedentario una disminución en los niveles de fatiga e índices de depresión percibidos. Todos estos efectos son independientes de un efecto placebo.
- Se produjo, únicamente en los deportistas, una ligera mejora de la calidad del sueño percibida; paradójicamente, coincidiendo con la mejora significativa determinada de forma objetiva mediante acelerometría, tanto en la eficiencia como en la latencia del sueño, y dándole así importancia a los biomarcadores objetivos en este tipo de investigación.

E)En relación a la influencia del simbiótico sobre el estado metabólico, indicar que tanto el grupo sedentario como el de deportistas, presentaron un rango de perfil lipídico y glucémico saludables en niveles basales, por lo que la ausencia general de modificaciones fisiológicas relevantes en estos niveles inducidas por el

simbiótico, permiten concluir que este no provocó efectos negativos en ninguno de los dos grupos.

F) En relación a la respuesta inmunoneuroendocrina podemos concluir:

- En primer lugar, y en referencia a la respuesta inflamatoria, que el grupo de deportistas, al igual que los sedentarios, presentaban unos niveles en rangos normales en estado basal. Si bien, reseñar que, aunque sin diferencias estadísticamente significativas, los deportistas presentaron unos niveles ligeramente elevados de la citoquina pro-inflamatoria IL-1 β y ligeramente reducidos de la citoquina anti-inflamatoria IL-10. En relación a los efectos del simbiótico sobre los mediadores de la respuesta inflamatoria, la principal conclusión que podemos observar es que Gasteel Plus[®] induce a un claro efecto “biorregulador” en los niveles de IL-1 β , manifestado en un aumento, “efecto pro-inflamatorio”, en individuos sedentarios y una disminución, “efecto anti-inflamatorio” de los niveles ligeramente elevados de esta citoquina en los futbolistas hasta alcanzar niveles bastantes similares a los niveles basales de los sedentarios, un efecto que no puede ser atribuido a un efecto placebo. A su vez, el efecto proinflamatorio en individuos sedentarios se complementa al disminuir dicho simbiótico los niveles de IL-10 en estos individuos, un efecto que, no obstante y, paradójicamente, también se observó al administrar la solución placebo.
- En relación a los mediadores neuroinmunoendocrinos, indicar que, mientras no existen diferencias entre el grupo de futbolistas y los estudiantes sedentarios en los niveles de epinefrina y norepinefrina, sí se observan unos niveles inferiores (aun sin diferencias estadísticamente significativas), en los niveles de dopamina y unos niveles mayores de serotonina en el grupo de deportistas. En relación a los efectos de Gasteel Plus[®], las principales conclusiones de este trabajo se manifiestan en el efecto “biorregulador” del mismo sobre los niveles de dopamina, y de forma menos drástica, en los niveles de serotonina, dado que el tratamiento solo elevó los niveles de dopamina basalmente disminuidos en el grupo de deportistas, así como disminuyó ligeramente los niveles de

serotonina hasta niveles próximos a los de los sujetos sedentarios. Estos resultados, además podrían explicar los efectos del simbiótico en los niveles de fatiga percibidos, jugando la dopamina (biomarcador objetivo) un papel fundamental y muy relacionado con los efectos del simbiótico en los niveles percibidos de estrés y ansiedad en el grupo de deportistas. Además, el simbiótico provocó una disminución en los niveles sistémicos de epinefrina en los sedentarios, claramente relacionado con el efecto pro-inflamatorio a través de la elevación de los niveles de IL-1 β y la disminución de los niveles de IL-10

- En relación al eje HHA, indicar, en primer lugar, que los futbolistas presentaron niveles basales menores de CRH que los individuos sedentarios, lo que se tradujo únicamente en unos ligeros menores valores de cortisol. De nuevo el simbiótico ejerce un efecto biorregulador elevando los niveles sólo en los participantes deportistas. Este efecto se relaciona claramente con el inducido en la respuesta inflamatoria a través de la IL-1 β .

G) En relación a la influencia del simbiótico sobre los niveles de Inmunoglobulina A en saliva, no encontramos resultados significativos entre grupos ni como consecuencia de la intervención, si bien, los deportistas presentan unos niveles ligeramente inferiores que pueden ser compensados por el consumo del simbiótico, efecto que debería ser estudiado en mayor profundidad.

Como conclusión general, asumiendo los posibles errores que toda generalización conlleva, podemos establecer que el simbiótico Gasteel Plus® induce un “efecto biorregulador”, y por tanto dependiente del estado basal de la respuesta en cada individuo o grupo poblacional de la respuesta inflamatoria que involucra fundamentalmente a la IL-1 β , con un efecto pro-inflamatorio en sedentarios (no patológico sino probablemente facilitador de la respuesta innata) y anti-inflamatorio en deportistas con niveles basales elevados. Este efecto parece ser regulado, al menos parcialmente, por un efecto biorregulador inducido en el hipotálamo a través de la liberación de CRH. Los efectos biorreguladores de Gasteel Plus® en la respuesta neuroendocrina, fundamentalmente en los deportistas, también afectan a la dopamina (y en menor medida a la serotonina), y

pueden subyacer a la reducción inducida por el simbiótico en los niveles percibidos de ansiedad y estrés, fatiga y depresión; así como a la mejora objetiva en la calidad de sueño. Indicar, finalmente, que Gasteel Plus® no provocó ningún perjuicio desde los puntos de vista inmunofisiológicos, antropométricos y metabólicos evaluados en este trabajo.

VII – LIMITACIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

VII – LIMITACIONES Y FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

7.1 LIMITACIONES

La principal limitación de la presente tesis doctoral, común a todos los parámetros estudiados, podría ser un no muy elevado número de la muestra, si bien, ésta es acorde a otros estudios previos. Además, el tiempo del consumo del simbiótico fue de 30 días, quizás un periodo corto para apreciar grandes variaciones en los diversos parámetros estudiados, establecidos por ser momentos de mayor estrés mental y físico de los participantes. Para la mejor valoración de las respuestas del eje HHA está pendiente de valorar la ACTH y con mayor sensibilidad, caso de ser posible, la IL-6; pero las circunstancias de la pandemia de covid 19 lo han impedido puesto que desde 2020 había imposibilidad de conseguir los reactivos de los kits.

7.2 FUTURAS LÍNEAS DE INVESTIGACIÓN

Debido a la gran información que se encuentra en la literatura acerca de la relación que existe entre el estudio de la microbiota intestinal y su relación con los sistemas inmunoendocrino y nervioso, sería muy interesante, para futuras investigaciones, el estudio de la composición de la microbiota intestinal de sujetos deportistas y sedentarios y sus posibles variaciones tras la intervención con dicho simbiótico, todo ello, a través del análisis de las heces.

Finalmente, es fundamental para futuros trabajos la unificación de enfoques metodológicos para evitar interpretaciones parciales de los resultados, así como evaluar la relevancia fisiológica y clínica de los efectos *in vitro* y *ex vivo* de los probióticos, prebióticos y simbióticos, especialmente como herramienta nutricional para deportistas.

VIII - REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

VIII – REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abbas, A., Lichtman, A., & Pillai, S. (2004). *Inmunología Celular y Molecular*. 6 ta. Edición. Edit. Elsevier España, SA Madrid, España.

Abellán Aynés, O. (2019). Influencia de la temperatura y la humedad relativa sobre la variabilidad de la frecuencia cardiaca en deportistas de fondo aficionados.

Ait-Belgnaoui, A., Durand, H., Cartier, C., Chaumaz, G., Eutamene, H., Ferrier, L., & Theodorou, V. (2012). Prevention of gut leakiness by a probiotic treatment leads to attenuated HPA response to an acute psychological stress in rats. *Psychoneuroendocrinology*, 37(11), 1885-1895.

Ali, A., Velasquez, M., Hansen, C., Mohamed, A., & Bhathena, S. (2004). Effects of soybean isoflavones, probiotics, and their interactions on lipid metabolism and endocrine system in an animal model of obesity and diabetes. *The Journal of nutritional biochemistry*, 15(10), 583-590.

Anadón, A., Martínez-Larrañaga, M., & Martínez, M. (2006). Probiotics for animal nutrition in the European Union. Regulation and safety assessment. *Regulatory toxicology and pharmacology*, 45(1), 91-95.

Aoi, W., & Naito, Y. (2019). Immune Function, Nutrition, and Exercise. In *Nutrition and Enhanced Sports Performance* (pp. 83-95): Elsevier.

Aronsson, L., Huang, Y., Parini, P., Korach-André, M., Håkansson, J., Gustafsson, J., & Rafter, J. (2010). Decreased fat storage by *Lactobacillus paracasei* is associated with increased levels of angiopoietin-like 4 protein (ANGPTL4). *PLoS one*, 5(9).

Asano, Y., Hiramoto, T., Nishino, R., Aiba, Y., Kimura, T., Yoshihara, K., & Sudo, N. (2012). Critical role of gut microbiota in the production of biologically active,

free catecholamines in the gut lumen of mice. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*, 303(11), G1288-G1295.

Aubert, A., Seps, B., & Beckers, F. (2003). Heart rate variability in athletes. *Sports medicine*, 33(12), 889-919.

Axelrod, J., & Reisine, T. D. (1984). Stress hormones: their interaction and regulation. *Science*, 224(4648), 452-459.

Ayas, N., White, D., Manson, J., Stampfer, M., Speizer, F., Malhotra, A., & Hu, F. (2003). A prospective study of sleep duration and coronary heart disease in women. *Archives of internal medicine*, 163(2), 205-209.

Bandyopadhyay, B., & Mandal, N. (2014). Probiotics, prebiotics and synbiotics-in health improvement by modulating gut microbiota: The concept revisited. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 3(3), 410-420.

Barengolts, E. (2016). Gut microbiota, prebiotics, probiotics, and synbiotics in management of obesity and prediabetes: review of randomized controlled trials. *Endocrine Practice*, 22(10), 1224-1234.

Barrio de Ugarte, E. (2017). Estudio conformacional de la Dopamina.

Beck, A. T., Ward, C., Mendelson, M., Mock, J., & Erbaugh, J. (1961). Beck depression inventory (BDI). *Arch Gen Psychiatry*, 4(6), 561-571.

Berger, M., Gray, J., & Roth, B. (2009). The expanded biology of serotonin. *Annual review of medicine*, 60, 355-366.

Bergmann, M., Gornikiewicz, A., Sautner, T., Waldmann, E., Weber, T., Mittlböck, M., & Függer, R. (1999). Attenuation of catecholamine-induced immunosuppression in whole blood from patients with sepsis. *Shock (Augusta, Ga.)*, 12(6), 421-427.

Besedovsky, H., & Sorkin, E. (1977). Network of immune-neuroendocrine interactions. *Clinical and experimental immunology*, 27(1), 1.

Besedovsky, H., & del Rey, A. (1996). Immune-neuro-endocrine interactions: facts and hypotheses. *Endocrine reviews*, 17(1), 64-102.

Besedovsky, H., & del Rey, A. (2007). Physiology of psychoneuroimmunology: a personal view. *Brain, behavior, and immunity*, 21(1), 34-44.

Blankson, H., Stakkestad, J. A., Fagertun, H., Thom, E., Wadstein, J., & Gudmundsen, O. (2000). Conjugated linoleic acid reduces body fat mass in overweight and obese humans. *The Journal of nutrition*, 130(12), 2943-2948.

Blazquez Simón, P. (2018). Estudio nutricional, hábitos deportivos y su relación con datos antropométricos en deportistas federados versus sedentarios. Universidad Complutense de Madrid,

Bosscher, D., Breynaert, A., Pieters, L., & Hermans, N. (2009). Food-based strategies to modulate the composition of the microbiota and their associated health effects. *Journal of physiology and pharmacology/Polish Physiological Society.-Kraków, 1991, currens*, 60(S: 6), 5-11.

Brandan, N., Llanos, I., Ruiz, D., & Rodríguez, A. (2010). Hormonas Catecolamínicas Adrenales. Cátedra de Bioquímica Facultad de Medicina.[acceso: 4 de abril de 2015]. URL: <http://med.unne.edu.ar/sitio/multimedia/imagenes/ckfinder/files/files/Carrera-Medicina/BIOQUIMICA/catecolaminas.pdf>.

Brandão, R., Castro, I., Bambirra, E., Amaral, S., Fietto, L., Tropia, M., & Nicoli, J. (1998). Intracellular Signal Triggered by Cholera Toxin in *Saccharomyces boulardii* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 64(2), 564-568.

Bravo, J, Forsythe, P., Chew, M., Escaravage, E., Savignac, H., Dinan, T., & Cryan, J. (2011). Ingestion of Lactobacillus strain regulates emotional behavior and central GABA receptor expression in a mouse via the vagus nerve. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 108(38), 16050-16055.

Brooks, K., & Carter, J. (2013). Overtraining, Exercise, and Adrenal Insufficiency. *Journal of novel physiotherapies*, 3(125).

Camm, A. J., Malik, M., Bigger, J. T., Breithardt, G., Cerutti, S., Cohen, R., & Kleiger, R. (1996). Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology.

Ceapa, C., Wopereis, H., Rezaïki, L., Kleerebezem, M., Knol, J., & Oozeer, R. (2013). Influence of fermented milk products, prebiotics and probiotics on microbiota composition and health. *Best Practice & Research Clinical Gastroenterology*, 27(1), 139-155.

Cecic, A., & Chingwaru, W. (2010). The Role of Functional Foods. Nutraceuticals, and Food Supplements in Intestinal Health. *Nutrients*, 2, 611-625.

Chard, T. (1981). An introduction to radioimmunoassay and related techniques.

Chung, W., Walker, A., Louis, P., Parkhill, J., Vermeiren, J., Bosscher, D., & Flint, H. (2016). Modulation of the human gut microbiota by dietary fibres occurs at the species level. *BMC biology*, 14(1), 3.

Clancy, R., Gleeson, M., Cox, A., Callister, R., Dorrington, M., D'este, C., & Henriksson, A. (2006). Reversal in fatigued athletes of a defect in interferon γ secretion after administration of Lactobacillus acidophilus. *British journal of sports medicine*, 40(4), 351-354.

Clark, A., & Mach, N. (2016). Exercise-induced stress behavior, gut-microbiota-brain axis and diet: a systematic review for athletes. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 13(1), 43.

Clarke, G., Stilling, R., Kennedy, P., Stanton, C., Cryan, J., & Dinan, T. (2014). Minireview: gut microbiota: the neglected endocrine organ. *Molecular endocrinology*, 28(8), 1221-1238.

Claros, J., Álvarez, C., Cuellar, C., & Mora, M. (2011). Actividad física: estrategia de promoción de la salud. *Revista Hacia la promoción de la salud*, 16(1), 202-218.

Clemente, F., Nikolaidis, P., Martins, F., & Mendes, R. (2016). Weekly physical activity patterns of university students: Are athletes more active than non-athletes? *SpringerPlus*, 5(1), 1808.

Cohen, S., Kamarck, T., & Mermelstein, R. (1983). A global measure of perceived stress. *Journal of health and social behavior*, 385-396.

Colbey, C., Cox, A., Pyne, D., Zhang, P., Cripps, A. W., & West, N. (2018). Upper respiratory symptoms, gut health and mucosal immunity in athletes. *Sports Medicine*, 48(1), 65-77.

Collins, M., & Gibson, G. (1999). Probiotics, prebiotics, and synbiotics: approaches for modulating the microbial ecology of the gut. *The American journal of clinical nutrition*, 69(5), 1052s-1057s.

Coman, M., Verdenelli, M., Silvi, S., Cecchini, C., Gabbianelli, R., Amadio, E., & Cresci, A. (2017). Knowledge and acceptance of functional foods: a preliminary study on influence of a synbiotic fermented milk on athlete health. *International Journal of Probiotics & Prebiotics*, 12(1).

Costa, A., Leite, G., Resende, A., Blachier, F., & AH Jr, L. (2017). Exercise, nutrition and gut microbiota: possible links and consequences. *Int J Sports Exerc Med*, 069.

Costa, R., Knechtle, B., Tarnopolsky, M., & Hoffman, M. (2019). Nutrition for ultramarathon running: trail, track, and road. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*, 29(2), 130-140.

Costill, D., Kenney, W., & Wilmore, J. (2008). *Physiology of sport and exercise: Human kinetics*.

Cox, A., Pyne, D., Saunders, P., & Fricker, P. (2010). Oral administration of the probiotic *Lactobacillus fermentum* VRI-003 and mucosal immunity in endurance athletes. *British Journal of Sports Medicine*, 44(4), 222-226.

Crespo-Salgado, J., Delgado-Martín, J., Blanco-Iglesias, O., & Aldecoa-Landesa, S. (2015). Guía básica de detección del sedentarismo y recomendaciones de actividad física en atención primaria. *Atención Primaria*, 47(3), 175-183.

Crittenden, R., & Playne, M. (2009). *Handbook of probiotics and prebiotics*. Lee YK, Salminen S (edn) John Wiley & Sons, New Jersey, 535-584.

Cupps, T., & Fauci, A. (1982). Corticosteroid-mediated immunoregulation in man. *Immunological reviews*, 65(1), 133-155.

Da Silva, S., Dos Santos, C., & Bressan, J. (2013). Intestinal microbiota; relevance to obesity and modulation by prebiotics and probiotics. *Nutricion hospitalaria*, 28(4), 1039-1048.

Dahl, W., Benterki, I., Girard, S., & Tompkins, T. (2016). Improved health for athletes: A case for *Lactobacillus Lafti* L10. *Agro FOOD Industry Hi Tech*, 27(2).

Darviri, C., Alexopoulos, E., Artemiadis, A., Tigani, X., Kraniotou, C., Darvyri, P., & Chrousos, G. (2014). The Healthy Lifestyle and Personal Control Questionnaire (HLPCQ): a novel tool for assessing self-empowerment through a constellation of daily activities. *BMC public health*, 14(1), 995.

de Frutos, G. (2016). Impacto del sedentarismo sobre la práctica de actividad física y la salud. Análisis de la situación en España. *Revista Española de Educación Física y Deportes*(412), 33-44.

De Vrese, M., & Schrezenmeir, J. (2008). Probiotics, prebiotics, and synbiotics. In *Food biotechnology* (pp. 1-66): Springer.

Delgado-Rodríguez, M., Martínez-González, M., & Aguinaga, I. (2001). *Actividad física y salud*. Piédrola Gil, medicina preventiva y salud pública. Barcelona: Masson, 935-944.

Diaz Ferrer, J., Parra, V., Bendaño, T., Montes, P., & Solorzano, P. (2012). Utilidad del suplemento de probióticos (*Lactobacillus acidophilus* y *bulgaricus*) en el tratamiento del Síndrome de Intestino Irritable. *Revista de Gastroenterología del Perú*, 32(4), 387-393.

Dixon, E., Kamath, M., McCartney, N., & Fallen, E. (1992). Neural regulation of heart rate variability in endurance athletes and sedentary controls. *Cardiovascular research*, 26(7), 713-719.

Eisenhofer, G., Aneman, A., Friberg, P., Hooper, D., Fändriks, L., Lonroth, H., & Mezey, E. (1997). Substantial production of dopamine in the human gastrointestinal tract. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 82(11), 3864-3871.

Elenkov, I. (2008). Neurohormonal-cytokine interactions: implications for inflammation, common human diseases and well-being. *Neurochemistry international*, 52(1-2), 40-51.

Elenkov, I., & Chrousos, G. (2002). Stress hormones, proinflammatory and antiinflammatory cytokines, and autoimmunity. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 966(1), 290-303.

Everson, C. (2005). Clinical assessment of blood leukocytes, serum cytokines, and serum immunoglobulins as responses to sleep deprivation in laboratory rats. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 289(4), R1054-R1063.

FAO, W. (2002). Guidelines for the evaluation of probiotic in food. Recuperado en :< <ftp://ftp.fao.org/esn/food/wgreport2.pdf>.

Firouzi, S., Barakatun-Nisak, M., Ismail, A., Majid, H., & Azmi, K.(2013). Role of probiotics in modulating glucose homeostasis: evidence from animal and human studies. *International journal of food sciences and nutrition*, 64(6), 780-786.

Ford, D., & Kamerow, D. (1989). Epidemiologic study of sleep disturbances and psychiatric disorders: an opportunity for prevention? *Jama*, 262(11), 1479-1484

Forsythe, P., Sudo, N., Dinan, T., Taylor, V., & Bienenstock, J. (2010). Mood and gut feelings. *Brain, behavior, and immunity*, 24(1), 9-16.

Freedson, P., Melanson, E., & Sirard, J. (1998). Calibration of the computer science and applications, Inc. accelerometer. *Medicine & science in sports & exercise*, 30(5), 777-781.

Fuller, R. (1989). Probiotics in man and animals. *The Journal of applied bacteriology*, 66(5), 365-378.

Furushiro, M., Sawada, H., Hirai, K., Motoike, M., Sansawa, H., Kobayashi, S., & Yokokura, T. (1990). Blood pressure-lowering effect of extract from *Lactobacillus casei* in spontaneously hypertensive rats (SHR). *Agricultural and biological chemistry*, 54(9), 2193-2198.

Gaggia, F., Mattarelli, P., & Biavati, B. (2010). Probiotics and prebiotics in animal feeding for safe food production. *International journal of food microbiology*, 141, S15-S28.

Gall, B., Parkhouse, W., & Goodman, D. (2004). Heart rate variability of recently concussed athletes at rest and exercise. *Medicine & science in sports & exercise*, 36(8), 1269-1274.

Galley, J., Nelson, M., Yu, Z., Dowd, S., Walter, J., Kumar, P., & Bailey, M. (2014). Exposure to a social stressor disrupts the community structure of the colonic mucosa-associated microbiota. *BMC microbiology*, 14(1), 189.

Gepner, Y., Hoffman, J., Shemesh, E., Stout, J., Church, D., Varanoske, A., & Frankel, H. (2017). Combined effect of *Bacillus coagulans* GBI-30, 6086 and HMB supplementation on muscle integrity and cytokine response during intense military training. *Journal of Applied Physiology*, 123(1), 11-18.

Gibson, G., & Roberfroid, M. (1995). Dietary modulation of the human colonic microbiota: introducing the concept of prebiotics. *The Journal of nutrition*, 125(6), 1401-1412.

Gill, H., & Cross, M. (2002). 13 Probiotics and Immune Function. *Nutrition and immune function*, 251.

Gill, S., Allerton, D., Ansley-Robson, P., Hemmings, K., Cox, M., & Costa, R. J. (2016). Does short-term high dose probiotic supplementation containing *Lactobacillus casei* attenuate exertional-heat stress induced endotoxaemia and cytokinaemia? *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*, 26(3), 268-275.

Gill, S., Teixeira, A., Rosado, F., Cox, M., & Costa, R. (2016). High-dose probiotic supplementation containing *Lactobacillus casei* for 7 days does not enhance salivary antimicrobial protein responses to exertional heat stress

compared with placebo. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*, 26(2), 150-160.

Gilliland, S., Nelson, C., & Maxwell, C. (1985). Assimilation of cholesterol by *Lactobacillus acidophilus*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 49(2), 377-381.

Gilliland, S., & Walker, D. (1990). Factors to consider when selecting a culture of *Lactobacillus acidophilus* as a dietary adjunct to produce a hypocholesterolemic effect in humans. *Journal of dairy science*, 73(4), 905-911.

Gleeson, M., Bishop, N. C., Oliveira, M., & Tauler, P. (2011). Daily probiotic's (*Lactobacillus casei* Shirota) reduction of infection incidence in athletes. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*, 21(1), 55-64.

Gleeson, M., Nieman, D., & Pedersen, B. (2004). Exercise, nutrition and immune function. *Journal of sports sciences*, 22(1), 115-125.

Gleeson, M., & Williams, C. (2013). Intense exercise training and immune function. In *Limits of Human Endurance* (Vol. 76, pp. 39-50): Karger Publishers.

Goldsmith, R., Bigger, J., Steinman, R., & Fleiss, J. (1992). Comparison of 24-hour parasympathetic activity in endurance-trained and untrained young men. *Journal of the American College of Cardiology*, 20(3), 552-558.

Grao-Cruces, A., Nuviala, A., Fernández-Martínez, A., Porcel-Gálvez, A.-M., Moral-García, J., & Martínez-López, E. (2013). Adherencia a la dieta mediterránea en adolescentes rurales y urbanos del sur de España, satisfacción con la vida, antropometría y actividades físicas y sedentarias. *Nutrición Hospitalaria*, 28(4), 1129-1135.

Grund, A., Krause, H., Kraus, M., Siewers, M., Rieckert, H., & Müller, M. (2001). Association between different attributes of physical activity and fat mass in untrained, endurance-and resistance-trained men. *European journal of applied physiology*, 84(4), 310-320.

Hackney, A. (2006). Stress and the neuroendocrine system: the role of exercise as a stressor and modifier of stress. *Expert review of endocrinology & metabolism*, 1(6), 783-792.

Hackney, A. & Koltun, K. (2012). The immune system and overtraining in athletes: clinical implications. *Acta clinica Croatica*, 51(4.), 633-640.

Hao, Q., Dong, B., & Wu, T. (2015). Probiotics for preventing acute upper respiratory tract infections. *Cochrane Database of Systematic Reviews*(2).

Haywood, B., Black, K., Baker, D., McGarvey, J., Healey, P., & Brown, R. (2014). Probiotic supplementation reduces the duration and incidence of infections but not severity in elite rugby union players. *Journal of science and medicine in sport*, 17(4), 356-360.

Health, D., Human Services, W., & People, H. (2000). *Healthy people 2010: Understanding and improving health*: US Department of Health and Human Services.

Heijnen, C., Kavelaars, A., & Ballieux, R. (1991). Corticotropin-releasing hormone and proopiomelanocortin-derived peptides in the modulation of immune function. In *Psychoneuroimmunology* (pp. 429-446): Elsevier.

Heijnen, S., Hommel, B., Kibele, A., & Colzato, L. S. (2016). Neuromodulation of aerobic exercise—a review. *Frontiers in psychology*, 6, 1890.

Hill, C., Guarner, F., Reid, G., Gibson, G., Merenstein, D., Pot, B., & Salminen, S. (2014). The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 11(8), 506-514.

Hill, E., Zack, E., Battaglini, C., Viru, M., Viru, A., & Hackney, A. (2008). Exercise and circulating cortisol levels: the intensity threshold effect. *Journal of endocrinological investigation*, 31(7), 587-591.

Holzer, P., & Farzi, A. (2014). Neuropeptides and the microbiota-gut-brain axis. In *Microbial endocrinology: The microbiota-gut-brain axis in health and disease* (pp. 195-219): Springer.

Howlett, T. (1987). Hormonal responses to exercise and training: a short review. *Clinical endocrinology*, 26(6), 723-742.

Hütt, P., Songisepp, E., Rätsep, M., Mahlapuu, R., Kilk, K., & Mikelsaar, M. (2015). Impact of probiotic *Lactobacillus plantarum* TENSIA in different dairy products on anthropometric and blood biochemical indices of healthy adults. *Beneficial microbes*, 6(3), 233-243.

Ipar, N., Aydogdu, S., Yildirim, G., Inal, M., Gies, I., Vandenplas, Y., & Dinleyici, E. (2015). Effects of synbiotic on anthropometry, lipid profile and oxidative stress in obese children. *Beneficial microbes*, 6(6), 775-781.

Isolauri, E., Sütas, Y., Kankaanpää, P., Arvilommi, H., & Salminen, S. (2001). Probiotics: effects on immunity. *The American journal of clinical nutrition*, 73(2), 444s-450s.

Jürgens, I. (2006). Práctica deportiva y percepción de calidad de vida. *Revista Internacional de Medicina y Ciencias de la Actividad Física y del Deporte/International Journal of Medicine and Science of Physical Activity and Sport*, 6(22), 62-74.

Kasapis, C., & Thompson, P. (2005). The effects of physical activity on serum C-reactive protein and inflammatory markers: a systematic review. *Journal of the American College of Cardiology*, 45(10), 1563-1569.

Katz, D., & McHorney, C. (2002). The relationship between insomnia and health-related quality of life in patients with chronic illness. *Journal of Family Practice*, 51(3), 229-234.

Kekkonen, R., Vasankari, T., Vuorimaa, T., Haahtela, T., Julkunen, I., & Korpela, R. (2007). The effect of probiotics on respiratory infections and gastrointestinal symptoms during training in marathon runners. *International journal of sport nutrition and exercise metabolism*, 17(4), 352-363.

Keller, C., Steensberg, A., Hansen, A., Fischer, C. P., Plomgaard, P., & Pedersen, B. (2005). Effect of exercise, training, and glycogen availability on IL-6 receptor expression in human skeletal muscle. *Journal of Applied Physiology*, 99(6), 2075-2079.

Kim, N., Yun, M., Oh, Y., & Choi, H.-J. (2018). Mind-altering with the gut: Modulation of the gut-brain axis with probiotics. *journal of microbiology*, 56(3), 172-182.

Kleiger, R., Stein, P., & Bigger Jr, J. T. (2005). Heart rate variability: measurement and clinical utility. *Annals of Noninvasive Electrocardiology*, 10(1), 88-101.

Kyle, U., Gremion, G., Genton, L., Slosman, D., Golay, A., & Pichard, C. (2001). Physical activity and fat-free and fat mass by bioelectrical impedance in 3853 adults. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 33(4), 576-584.

Lamprecht, M., & Frauwallner, A. (2012). Exercise, intestinal barrier dysfunction and probiotic supplementation. In *Acute topics in sport nutrition* (Vol. 59, pp. 47-56): Karger Publishers.

Lee, R., Wang, Z., Heo, M., Ross, R., Janssen, I., & Heymsfield, S. (2000). Total-body skeletal muscle mass: development and cross-validation of anthropometric prediction models. *The American journal of clinical nutrition*, 72(3), 796-803.

Lehmann, M., Lormes, W., Opitz-Gress, A., Steinacker, J. M., Netzer, N., Foster, C., & Gastmann, U. (1997). Training and overtraining: an overview and experimental results in endurance sports. *Journal of sports medicine and physical fitness*, 37(1), 7-17.

Lilly, D., & Stillwell, R. (1965). Probiotics: growth-promoting factors produced by microorganisms. *Science*, 147(3659), 747-748.

Luger, A., Deuster, P., Kyle, S., Gallucci, W., Montgomery, L., Gold, P., & Chrousos, G. (1987). Acute hypothalamic-pituitary-adrenal responses to the stress of treadmill exercise. *New England Journal of Medicine*, 316(21), 1309-1315.

Luyster, F., Strollo, P., Zee, P., & Walsh, J. (2012). Sleep: a health imperative. *Sleep*, 35(6), 727-734.

Lyte, M., Vulchanova, L., & Brown, D. (2011). Stress at the intestinal surface: catecholamines and mucosa-bacteria interactions. *Cell and tissue research*, 343(1), 23-32.

Mach, N., & Fuster-Botella, D. (2017). Endurance exercise and gut microbiota: A review. *Journal of Sport and Health Science*, 6(2), 179-197.

MacKinnon, L. (2000). Overtraining effects on immunity and performance in athletes. *Immunology and cell biology*, 78(5), 502-509.

Maidana, P., Bruno, O., & Mesch, V. (2013). Medición de cortisol y sus fracciones una puesta al día. *Medicina (Buenos Aires)*, 73(6).

Manigandan, T., Mangaiyarkarasi, S., Hemalatha, R., Hemalatha, V., & Murali, N. (2012). Probiotics, prebiotics and synbiotics-a review. *Biomedical & Pharmacology Journal*, 5(2), 295.

Marcos, A., Wärnberg, J., Nova, E., Gómez, S., Alvarez, A., Alvarez, R., & Cobo, J. M. (2004). The effect of milk fermented by yogurt cultures plus

Lactobacillus casei DN-114001 on the immune response of subjects under academic examination stress. *European journal of nutrition*, 43(6), 381-389.

Markowiak, P., & Ślizewska, K. (2017). Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health. *Nutrients*, 9(9), 1021.

Martarelli, D., Verdenelli, M., Scuri, S., Cocchioni, M., Silvi, S., Cecchini, C., & Pompei, P. (2011). Effect of a probiotic intake on oxidant and antioxidant parameters in plasma of athletes during intense exercise training. *Current microbiology*, 62(6), 1689-1696.

Martinelli, F., Chacon-Mikahil, M., Martins, L., Lima-Filho, E., Golfetti, R., Paschoal, M., & Gallo-Junior, L. (2005). Heart rate variability in athletes and nonathletes at rest and during head-up tilt. *Brazilian journal of medical and biological research*, 38(4), 639-647.

Mazloom, Z., Yousefinejad, A., & Dabbaghmanesh, M. (2013). Effect of probiotics on lipid profile, glycemic control, insulin action, oxidative stress, and inflammatory markers in patients with type 2 diabetes: a clinical trial. *Iranian journal of medical sciences*, 38(1), 38.

Medicine, A. C. O. S. ACSM issues new recommendations on quantity and quality of exercise, February 2017.

Meerlo, P., Sgoifo, A., & Suchecki, D. (2008). Restricted and disrupted sleep: effects on autonomic function, neuroendocrine stress systems and stress responsivity. *Sleep medicine reviews*, 12(3), 197-210.

Meeusen, R., & De Meirleir, K. (1995). Exercise and brain neurotransmission. *Sports Medicine*, 20(3), 160-188.

Meijer, G., Westerterp, K., Verhoeven, F., Koper, H., & ten Hoor, F. (1991). Methods to assess physical activity with special reference to motion sensors and accelerometers. *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, 38(3), 221-229.

Melanson, E., & Freedson, P. (2001). The effect of endurance training on resting heart rate variability in sedentary adult males. *European journal of applied physiology*, 85(5), 442-449.

Mendoza, T., Wang, X., Cleeland, C., Morrissey, M., Johnson, B., Wendt, J. K., & Huber, S. (1999). The rapid assessment of fatigue severity in cancer patients: use of the Brief Fatigue Inventory. *Cancer*, 85(5), 1186-1196.

Messaoudi, M., Lalonde, R., Violle, N., Javelot, H., Desor, D., Nejdi, A., & Cazaubiel, M. (2011). Assessment of psychotropic-like properties of a probiotic formulation (*Lactobacillus helveticus* R0052 and *Bifidobacterium longum* R0175) in rats and human subjects. *British Journal of Nutrition*, 105(5), 755-764.

Michalickova, D., Minic, R., Dikic, N., Andjelkovic, M., Kostic-Vucicevic, M., Stojmenovic, T., & Djordjevic, B. (2016). *Lactobacillus helveticus* Lafti L10 supplementation reduces respiratory infection duration in a cohort of elite athletes: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Applied Physiology, Nutrition, and Metabolism*, 41(7), 782-789.

Mohammadi, A., Jazayeri, S., Khosravi-Darani, K., Solati, Z., Mohammadpour, N., Asemi, Z., & Hosseini, M. (2016). The effects of probiotics on mental health and hypothalamic–pituitary–adrenal axis: A randomized, double-blind, placebo-controlled trial in petrochemical workers. *Nutritional neuroscience*, 19(9), 387-395.

Moloney, R., Desbonnet, L., Clarke, G., Dinan, T., & Cryan, J. (2014). The microbiome: stress, health and disease. *Mammalian Genome*, 25(1-2), 49-74.

Moore, P., Landolt, H., Seifritz, E., Clark, C., Bhatti, T., Kelsoe, J., & Gillin, J. (2000). Clinical and physiological consequences of rapid tryptophan depletion. *Neuropsychopharmacology*, 23(6), 601-622.

Neville, V., Gleeson, M., & Folland, J. (2008). Salivary IgA as a risk factor for upper respiratory infections in elite professional athletes. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 40(7), 1228-1236.

Näslund, J., Studer, E., Nilsson, K., Westberg, L., & Eriksson, E. (2013). Serotonin depletion counteracts sex differences in anxiety-related behaviour in rat. *Psychopharmacology*, 230(1), 29-35.

Oelschlaeger, T. (2010). Mechanisms of probiotic actions—a review. *International Journal of Medical Microbiology*, 300(1), 57-62.

Orellana, J., de la Cruz Torres, B., Cachadiña, E., de Hoyo, M., & Cobo, S. (2015). Two new indexes for the assessment of autonomic balance in elite soccer players. *International journal of sports physiology and performance*, 10(4), 452-457.

Ortega, E. (2003). Neuroendocrine mediators in the modulation of phagocytosis by exercise: physiological implications. *Exercise immunology review*, 9, 70-93.

Ortega, E. (2016). The “bioregulatory effect of exercise” on the innate/inflammatory responses. *Journal of physiology and biochemistry*, 72(2), 361-369.

Ortega, E., García, J., Bote, M., Martín-Cordero, L., Escalante, Y., Saavedra, J., & Giraldo, E. (2009). Exercise in fibromyalgia and related inflammatory disorders: known effects and unknown chances. *Exerc Immunol Rev*, 15(15), 42-65.

Otero, L. (2011). Citoquinas: de fieles aliadas a temibles enemigas. *Anales de la Real Academia de Ciencias Veterinarias de Andalucía Oriental*(24), 75-90.

Otsuka, T., Nishii, A., Amemiya, S., Kubota, N., Nishijima, T., & Kita, I. (2016). Effects of acute treadmill running at different intensities on activities of serotonin and corticotropin-releasing factor neurons, and anxiety-and depressive-like behaviors in rats. *Behavioural brain research*, 298, 44-51.

Pandey, K., Naik, S., & Vakil, B. (2015). Probiotics, prebiotics and synbiotics- a review. *Journal of food science and technology*, 52(12), 7577-7587.

Parnell, J., & Reimer, R. (2009). Weight loss during oligofructose supplementation is associated with decreased ghrelin and increased peptide YY in overweight and obese adults. *The American journal of clinical nutrition*, 89(6), 1751-1759.

Perrotta, A., Jeklin, A., Hives, B., Meanwell, L., & Warburton, D. (2017). Validity of the elite HRV smartphone application for examining heart rate variability in a field-based setting. *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 31(8), 2296-2302.

Peña, A. (2007). Flora intestinal, probióticos, prebióticos, simbióticos y alimentos novedosos. *Revista Española de Enfermedades Digestivas*, 99(11), 653-658.

Pourghassem Gargari, B., Dehghan, P., Aliasgharzadeh, A., & Asghari Jafarabadi, M. (2013). Effects of high performance inulin supplementation on glycemic control and antioxidant status in women with type 2 diabetes. *Diabetes & metabolism journal*, 37(2), 140-148.

Pumprla, J., Howorka, K., Groves, D., Chester, M., & Nolan, J. (2002). Functional assessment of heart rate variability: physiological basis and practical applications. *International journal of cardiology*, 84(1), 1-14.

Purvis, D., Gonsalves, S., & Deuster, P. A. (2010). Physiological and psychological fatigue in extreme conditions: overtraining and elite athletes. *Pm&r*, 2(5), 442-450.

Pyne, D., West, N., Cox, A., & Cripps, A. (2015). Probiotics supplementation for athletes—clinical and physiological effects. *European journal of sport science*, 15(1), 63-72.

Quiles, L., Portolés, O., Vicente Sorlí, J., & Corell, D. (2015). Efectos a corto plazo en el perfil lipídico y la glucemia de una dieta vegetariana baja en grasa. *Nutrición Hospitalaria*, 32(1), 156-164.

Raizada, M., Joe, B., Bryan, N., Chang, E., Dewhirst, F., Borisy, G., & Ketchum, C. (2017). Report of the National Heart, Lung, and Blood Institute Working Group on the role of microbiota in blood pressure regulation: current status and future directions. *Hypertension*, 70(3), 479-485.

Rajkumar, H., Mahmood, N., Kumar, M., Varikuti, S. R., Challa, H., & Myakala, S. (2014). Effect of probiotic (VSL# 3) and omega-3 on lipid profile, insulin sensitivity, inflammatory markers, and gut colonization in overweight adults: a randomized, controlled trial. *Mediators of inflammation*, 2014.

Reardon, M., & Malik, M. (1996). Changes in heart rate variability with age. *Pacing and clinical electrophysiology*, 19(11), 1863-1866.

Remor, E. (2006). Psychometric properties of a European Spanish version of the Perceived Stress Scale (PSS). *The Spanish journal of psychology*, 9(1), 86-93.

Rhee, Y., & Kim, H. (1987). The correlation between sleeping-time and numerical change of intestinal normal flora in psychiatric insomnia patients. *Bull. Nat. Sci. Chungbuk Natl. Univ*, 1, 159-172.

Ricci, A., Allende, A., Bolton, D., Chemaly, M., Davies, R., Girones, R., & Nørrung, B. (2017). Scientific Opinion on the update of the list of QPS-recommended biological agents intentionally added to food or feed as notified to EFSA. *EFSA Journal*, 15(3).

Rincón, E. (1994). Physiology and biochemistry: influence of exercise on phagocytosis. *International Journal of Sports Medicine*, 15(Suppl 3), S172-178.

Roberfroid, M. (1998). Prebiotics and synbiotics: concepts and nutritional properties. *British Journal of Nutrition*, 80(S2), S197-S202.

Roberts, J., Suckling, C., Peedle, G., Murphy, J., Dawkins, T., & Roberts, M. (2016). An exploratory investigation of endotoxin levels in novice long distance triathletes, and the effects of a multi-strain probiotic/prebiotic, antioxidant intervention. *Nutrients*, 8(11), 733.

Romero, T. (2009). Hacia una definición de Sedentarismo. *Revista chilena de cardiología*, 28(4), 409-413.

Ruan, Y., Sun, J., He, J., Chen, F., Chen, R., & Chen, H. (2015). Effect of probiotics on glycemic control: a systematic review and meta-analysis of randomized, controlled trials. *PloS one*, 10(7).

Salarkia, N., Ghadamli, L., Zaeri, F., & Rad, L. (2013). Effects of probiotic yogurt on performance, respiratory and digestive systems of young adult female endurance swimmers: a randomized controlled trial. *Medical journal of the Islamic Republic of Iran*, 27(3), 141.

Santos-Lozano, A. (2013). Validación del acelerómetro actigraph GT3x para la cuantificación de la actividad física. Universidad de León.

Schley, P., & Field, C. (2002). The immune-enhancing effects of dietary fibres and prebiotics. *British Journal of Nutrition*, 87(S2), S221-S230.

Serrano, E. (2011). Actividad física para la mejora de la respuesta inflamatoria y neuroendocrina en mujeres con fibromialgia. Universidad de Extremadura,

Shing, C., Peake, J., Lim, C., Briskey, D., Walsh, N., Fortes, M., & Vitetta, L. (2014). Effects of probiotics supplementation on gastrointestinal permeability, inflammation and exercise performance in the heat. *European journal of applied physiology*, 114(1), 93-103.

Siquier-Coll, J., Collado-Martín, Y., Sánchez-Puente, M., Grijota-Pérez, F., Pérez-Quintero, M., Sánchez, I., & Muñoz-Marín, D. (2018). Estudio comparativo

de las variables determinantes de la condición física y salud entre jóvenes deportistas y sedentarios del género masculino. *Nutrición Hospitalaria*, 35(3), 689-697.

Smith, L. (2004). Tissue trauma: the underlying cause of overtraining syndrome? *The Journal of Strength & Conditioning Research*, 18(1), 185-193.

Spielberger, C., Gorsuch, R., Lushene, R., & Cubero, N. (1999). STAI: Cuestionario de ansiedad estado-rasgo: TEA ediciones Madrid.

Starcke, K., & Brand, M. (2012). Decision making under stress: a selective review. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 36(4), 1228-1248.

Steenbergen, L., Sellaro, R., van Hemert, S., Bosch, J., & Colzato, L. (2015). A randomized controlled trial to test the effect of multispecies probiotics on cognitive reactivity to sad mood. *Brain, behavior, and immunity*, 48, 258-264.

Sternberg, E. (1997). Neural-immune interactions in health and disease. *The Journal of clinical investigation*, 100(11), 2641-2647.

Sudo, N. (2014). Microbiome, HPA axis and production of endocrine hormones in the gut. In *Microbial endocrinology: the microbiota-gut-brain axis in health and disease* (pp. 177-194): Springer.

Sullivan, Å., Nord, C. E., & Evengård, B. (2009). Effect of supplement with lactic-acid producing bacteria on fatigue and physical activity in patients with chronic fatigue syndrome. *Nutrition journal*, 8(1), 4.

Szelényi, J., & Vizi, E. (2007). The catecholamine–cytokine balance: interaction between the brain and the immune system. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1113(1), 311-324.

Sáez-Lara, M., Robles-Sanchez, C., Ruiz-Ojeda, F., Plaza-Diaz, J., & Gil, A. (2016). Effects of probiotics and synbiotics on obesity, insulin resistance

syndrome, type 2 diabetes and non-alcoholic fatty liver disease: a review of human clinical trials. *International journal of molecular sciences*, 17(6), 928.

Tarvainen, M., Niskanen, J., Lipponen, J., Ranta-Aho, P., & Karjalainen, P. (2014). Kubios HRV—heart rate variability analysis software. *Computer methods and programs in biomedicine*, 113(1), 210-220.

Turnbull, A., & Rivier, C. (1999). Regulation of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis by cytokines: actions and mechanisms of action. *Physiological reviews*, 79(1), 1-71.

Ulrich-Lai, Y., & Herman, J. (2009). Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses. *Nature reviews neuroscience*, 10(6), 397-409.

Valois, R., Zullig, K., Huebner, E., & Drane, J. (2004). Physical activity behaviors and perceived life satisfaction among public high school adolescents. *Journal of school health*, 74(2), 59-65.

Vandenbergh, P. (1993). Lactic acid bacteria, their metabolic products and interference with microbial growth. *FEMS Microbiology Reviews*, 12(1-3), 221-237.

Vasquez, E., Meyrelles, S., & Gava, A. (2018). Beneficial effects of the synbiotic kefir on the neural control of cardiovascular function. *J Food Microbiol.* 2018; 2 (S1): 10, 18.

Vgontzas, A., Zoumakis, E., Bixler, E., Lin, H.-M., Follett, H., Kales, A., & Chrousos, G. (2004). Adverse effects of modest sleep restriction on sleepiness, performance, and inflammatory cytokines. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 89(5), 2119-2126.

Vilagut, G., Ferrer, M., Rajmil, L., Rebollo, P., Permanyer-Miralda, G., Quintana, J., & Alonso, J. (2005). El cuestionario de salud SF-36 español: una década de experiencia y nuevos desarrollos. *Gaceta sanitaria*, 19, 135-150.

Vitali, B., Ndagijimana, M., Cruciani, F., Carnevali, P., Candela, M., Guerzoni, M., & Brigidi, P. (2010). Impact of a synbiotic food on the gut microbial ecology and metabolic profiles. *Bmc Microbiology*, 10(1), 4.

Vyas, U., & Ranganathan, N. (2012). Probiotics, prebiotics, and synbiotics: gut and beyond. *Gastroenterology research and practice*, 2012.

Walsh, N., Gleeson, M., Pyne, D., Nieman, D., Dhabhar, F., Shephard, R., & Kajeniene, A. (2011). Position statement part two: maintaining immune health.

Walsh, N., Gleeson, M., Shephard, R., Gleeson, M., Woods, J., Bishop, N., & Hoffman-Goete, L. (2011). Position statement part one: immune function and exercise.

Wang, Y. (2009). Prebiotics: Present and future in food science and technology. *Food Research International*, 42(1), 8-12.

Warburton, D., Nicol, C., & Bredin, S. (2006). Health benefits of physical activity: the evidence. *Cmaj*, 174(6), 801-809.

West, N., Pyne, D., Peake, J., & Cripps, A. (2009). Probiotics, immunity and exercise: a review. *Exerc Immunol Rev*, 15(107), e26.

West, N., Pyne, D., Cripps, A., Christophersen, C., Conlon, M., & Fricker, P. (2012). Gut Balance, a synbiotic supplement, increases fecal *Lactobacillus paracasei* but has little effect on immunity in healthy physically active individuals. *Gut microbes*, 3(3), 221-227.

Widmaier, E. (1992). Metabolic feedback in mammalian endocrine systems. *Hormone and metabolic research*, 24(04), 147-153.

Winder, W., Hagberg, J., Hickson, R., Ehsani, A., & McLane, J. (1978). Time course of sympathoadrenal adaptation to endurance exercise training in man. *Journal of Applied Physiology*, 45(3), 370-374.

Withers, R., Craig, N., Bourdon, P., & Norton, K. (1987). Relative body fat and anthropometric prediction of body density of male athletes. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, 56(2), 191-200.

Wittert, G., Livesey, J., Espiner, E., & Donald, R. (1996). Adaptation of the hypothalamopituitary adrenal axis to chronic exercise stress in humans. *Medicine & Science in Sports & Exercise*, 28(8), 1015-1019.

Wrase, J., Reimold, M., Puls, I., Kienast, T., & Heinz, A. (2006). Serotonergic dysfunction: brain imaging and behavioral correlates. *Cognitive, Affective, & Behavioral Neuroscience*, 6(1), 53-61.

Wullems, J., Verschueren, S., Degens, H., Morse, C., & Onambélé, G. (2016). A review of the assessment and prevalence of sedentarism in older adults, its physiology/health impact and non-exercise mobility counter-measures. *Biogerontology*, 17(3), 547-565.

Yang, C., & Hsu, Y. (2010). A review of accelerometry-based wearable motion detectors for physical activity monitoring. *Sensors*, 10(8), 7772-7788.

Yin, Y., Yu, Q., Fu, N., Liu, X., & Lu, F. (2010). Effects of four Bifidobacteria on obesity in high-fat diet induced rats. *World journal of gastroenterology: WJG*, 16(27), 3394.

Zhang, M., Cheng, J., Lu, Y., Yi, Z., Yang, P., & Wu, X. (2010). Use of pre-, pro-and synbiotics in patients with acute pancreatitis: a meta-analysis. *World journal of gastroenterology: WJG*, 16(31), 3970.

IX – ANEXOS

IX- ANEXOS

ANEXO 1: CUESTIONARIOS

Cuestionario de salud SF-36

MARQUE UNA SOLA RESPUESTA

1. En general, usted diría que su salud es:

- 1 Excelente
- 2 Muy buena
- 3 Buena
- 4 Regular
- 5 Mala

2. ¿Cómo diría que es su salud actual, comparada con la de hace un año?

- 1 Mucho mejor ahora que hace un año
- 2 Algo mejor ahora que hace un año
- 3 Más o menos igual que hace un año
- 4 Algo peor ahora que hace un año
- 5 Mucho peor ahora que hace un año

LAS SIGUIENTES PREGUNTAS SE REFIEREN A ACTIVIDADES O COSAS QUE USTED PODRÍA HACER EN UN DÍA NORMAL.

3. Su salud actual, ¿le limita para hacer **esfuerzos intensos**, tales como correr, levantar objetos pesados, o participar en deportes agotadores?

- 1 Sí, me limita mucho
- 2 Sí, me limita un poco
- 3 No, no me limita nada

9. Su salud actual, ¿le limita para caminar **un kilómetro o más**?

- 1 Sí, me limita mucho
- 2 Sí, me limita un poco
- 3 No, no me limita nada

10. Su salud actual, ¿le limita para caminar **varias manzanas** (varios centenares de metros)?

- 1 Sí, me limita mucho
- 2 Sí, me limita un poco
- 3 No, no me limita nada

11. Su salud actual, ¿le limita para caminar **una sola manzana** (unos 100 metros)?

- 1 Sí, me limita mucho
- 2 Sí, me limita un poco
- 3 No, no me limita nada

12. Su salud actual, ¿le limita para **bañarse o vestirse por sí mismo**?

- 1 Sí, me limita mucho
- 2 Sí, me limita un poco
- 3 No, no me limita nada

4. Su salud actual, ¿le limita para hacer **esfuerzos moderados**, como mover una mesa, pasar la aspiradora, jugar a los bolos o caminar más de una hora?

- 1 Sí, me limita mucho
- 2 Sí, me limita un poco
- 3 No, no me limita nada

5. Su salud actual, ¿le limita para **coger o llevar la bolsa de la compra**?

- 1 Sí, me limita mucho
- 2 Sí, me limita un poco
- 3 No, no me limita nada

6. Su salud actual, ¿le limita para **subir varios pisos** por la escalera?

- 1 Sí, me limita mucho
- 2 Sí, me limita un poco
- 3 No, no me limita nada

7. Su salud actual, ¿le limita para **subir un solo piso** por la escalera?

- 1 Sí, me limita mucho
- 2 Sí, me limita un poco
- 3 No, no me limita nada

8. Su salud actual, ¿le limita para **agacharse o arrodillarse**?

- 1 Sí, me limita mucho
- 2 Sí, me limita un poco
- 3 No, no me limita nada

LAS SIGUIENTES PREGUNTAS SE REFIEREN A PROBLEMAS EN SU TRABAJO O EN SUS ACTIVIDADES COTIDIANAS.

13. Durante las **4 últimas semanas**, ¿tuvo que **reducir el tiempo** dedicado al trabajo o a sus actividades cotidianas, **a causa de su salud física**?

- 1 Sí
- 2 No

14. Durante las **4 últimas semanas**, ¿**hizo menos** de lo que hubiera querido hacer, **a causa de su salud física**?

- 1 Sí
- 2 No

15. Durante las **4 últimas semanas**, ¿tuvo que **dejar de hacer algunas tareas** en su trabajo o en sus actividades cotidianas, **a causa de su salud física**?

- 1 Sí
- 2 No

16. Durante las **4 últimas semanas**, ¿tuvo **dificultad** para hacer su trabajo o sus actividades cotidianas (por ejemplo, le costó más de lo normal), **a causa de su salud física**?

- 1 Sí
- 2 No

17. Durante las 4 últimas semanas, ¿tuvo que **reducir el tiempo** dedicado al trabajo o a sus actividades cotidianas, a causa de algún problema emocional (como estar triste, deprimido, o nervioso)?

- Sí
 No

18. Durante las 4 últimas semanas, ¿hizo **menos** de lo que hubiera querido hacer, a causa de algún problema emocional (como estar triste, deprimido, o nervioso)?

- Sí
 No

19. Durante las 4 últimas semanas, ¿no hizo su trabajo o sus actividades cotidianas tan **cuidadosamente** como de costumbre, a causa de algún problema emocional (como estar triste, deprimido, o nervioso)?

- Sí
 No

20. Durante las 4 últimas semanas, ¿hasta qué punto su salud física o los problemas emocionales han dificultado sus actividades sociales habituales con la familia, los amigos, los vecinos u otras personas?

- Nada
 Un poco
 Regular
 Bastante
 Mucho

24. Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto tiempo estuvo muy nervioso?

- Siempre
 Casi siempre
 Muchas veces
 Algunas veces
 Sólo alguna vez
 Nunca

25. Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto tiempo se sintió tan bajo de moral que nada podía animarle?

- Siempre
 Casi siempre
 Muchas veces
 Algunas veces
 Sólo alguna vez
 Nunca

26. Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto tiempo se sintió calmado y tranquilo?

- Siempre
 Casi siempre
 Muchas veces
 Algunas veces
 Sólo alguna vez
 Nunca

30. Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto tiempo se sintió feliz?

- Siempre
 Casi siempre
 Muchas veces
 Algunas veces
 Sólo alguna vez
 Nunca

31. Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto tiempo se sintió cansado?

- Siempre
 Casi siempre
 Muchas veces
 Algunas veces
 Sólo alguna vez
 Nunca

32. Durante las 4 últimas semanas, ¿con qué frecuencia la salud física o los problemas emocionales le han dificultado sus actividades sociales (como visitar a los amigos o familiares)?

- Siempre
 Casi siempre
 Algunas veces
 Sólo alguna vez
 Nunca

21. ¿Tuvo dolor en alguna parte del cuerpo durante las 4 últimas semanas?

- No, ninguno
 Sí, muy poco
 Sí, un poco
 Sí, moderado
 Sí, mucho
 Sí, muchísimo

22. Durante las 4 últimas semanas, ¿hasta qué punto el dolor le ha dificultado su trabajo habitual (incluido el trabajo fuera de casa y las tareas domésticas)?

- Nada
 Un poco
 Regular
 Bastante
 Mucho

LAS PREGUNTAS QUE SIGUEN SE REFIEREN A CÓMO SE HA SENTIDO Y CÓMO LE HAN IDO LAS COSAS DURANTE LAS 4 ÚLTIMAS SEMANAS. EN CADA PREGUNTA RESPONDA LO QUE SE PAREZCA MÁS A CÓMO SE HA SENTIDO USTED.

23. Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto tiempo se sintió lleno de vitalidad?

- Siempre
 Casi siempre
 Muchas veces
 Algunas veces
 Sólo alguna vez
 Nunca

27. Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto tiempo tuvo mucha energía?

- Siempre
 Casi siempre
 Muchas veces
 Algunas veces
 Sólo alguna vez
 Nunca

28. Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto tiempo se sintió desanimado y triste?

- Siempre
 Casi siempre
 Muchas veces
 Algunas veces
 Sólo alguna vez
 Nunca

29. Durante las 4 últimas semanas, ¿cuánto tiempo se sintió agotado?

- Siempre
 Casi siempre
 Muchas veces
 Algunas veces
 Sólo alguna vez
 Nunca

POR FAVOR, DIGA SI LE PARECE CIERTA O FALSA CADA UNA DE LAS SIGUIENTES FRASES.

33. Creo que me pongo enfermo más fácilmente que otras personas.

- Totalmente cierta
 Bastante cierta
 No lo sé
 Bastante falsa
 Totalmente falsa

34. Estoy tan sano como cualquiera.

- Totalmente cierta
 Bastante cierta
 No lo sé
 Bastante falsa
 Totalmente falsa

35. Creo que mi salud va a empeorar.

- Totalmente cierta
 Bastante cierta
 No lo sé
 Bastante falsa
 Totalmente falsa

36. Mi salud es excelente.

- Totalmente cierta
 Bastante cierta
 No lo sé
 Bastante falsa
 Totalmente falsa

Cuestionario de vida saludable y control personal (HLPCQ)

| | Nunca/ Raramente | A veces | A menudo | Siempre |
|---|---------------------|---------|----------|---------|
| 1. ¿Tiene cuidado con la cantidad de comida que pone en su plato? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. ¿Revisa las etiquetas de los alimentos antes de comprar un producto? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. ¿Calcula las calorías de sus comidas? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4. ¿Limita las grasas en sus comidas? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. ¿Le gusta cocinar? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 6. ¿Come alimentos orgánicos? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 7. ¿Come productos integrales? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 8. ¿Evita comer comida precocinada o rápida? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 9. ¿Evita las bebidas gaseosas? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 10. ¿Evita comer cuando está estresado o desanimado? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 11. ¿Evita comer en exceso cuando está fuera con los amigos? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 12. ¿Come sus comidas a la misma hora todos los días? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 13. ¿Tiene cuidado para no saltarse alguna comida? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 14. ¿Toma un buen desayuno? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 15. ¿Duerme a la misma hora todos los días? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 16. ¿Tiene una rutina para sus actividades diarias? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 17. ¿Toma el desayuno a la misma hora todos los días? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 18. ¿Almuerza todos los días a la misma hora? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 19. ¿Cena todos los días a la misma hora? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 20. ¿Práctica ejercicio aeróbico durante 20 minutos o más, al menos 3 veces por semana? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 21. ¿Hace ejercicio de manera organizada? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 22. ¿Comparte sus problemas personales o preocupaciones con los demás? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 23. ¿Se concentra en pensamientos positivos durante las dificultades? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 24. ¿Es capaz de dejar la mente en blanco a la hora de acostarse? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 25. ¿Le preocupa discutir con tu familia diariamente? | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 26. ¿Es capaz de equilibrar su trabajo, vida personal y ocio? | 1 | 2 | 3 | 4 |

Cuestionario de calidad del sueño (HLPCQ)

TEST CALIDAD DE SUEÑO:

Darviri et al.:The Healthy Lifestyle and Personal Control Questionnaire (HLPCQ): a novel tool for assessing selfempowerment through a constellation of daily activities. BMC Public Health 2014 14:995.

1. ¿Estás satisfecho/a con tu sueño?

- En absoluto (0)
- Poco (1)
- Moderadamente (2)
- Mucho (3)
- Muchísimo (4)

2. ¿Tomas algún medicamento para dormir?

- SI (-1)
- NO (0)


3. ¿Te quedas dormido con facilidad?

- Nunca (0)
- Algunas veces (1)
- Frecuentemente (2)
- Siempre (3)

4. Te sientes descansado después de despertar:

- Nunca (0)
- Algunas veces (1)
- Frecuentemente (2)
- Siempre (3)

Cuestionario de ansiedad-estado y ansiedad-rasgo (STAI)



Universidad Complutense Madrid
Proyecto de Apoyo a la Evaluación Psicológica Clínica
Instrumentos - Material de Prácticas

Inventario de Ansiedad Estado-Rasgo (State-Trait Anxiety Inventory, STAI)

ANSIEDAD-ESTADO

Instrucciones: A continuación encontrará unas frases que se utilizan comúnmente para describirse uno a sí mismo. Lea cada frase y señale la puntuación de 0 a 3 que indique mejor cómo se siente usted ahora mismo, en este momento. No hay respuestas buenas ni malas. No emplee demasiado tiempo en cada frase y conteste señalando la respuesta que mejor describa su situación presente.

| | Nada | Algo | Bastante | Mucho |
|---|------|------|----------|-------|
| 1. Me siento calmado | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 2. Me siento seguro | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 3. Estoy tenso | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 4. Estoy contrariado | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 5. Me siento cómodo (estoy a gusto) | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 6. Me siento alterado | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 7. Estoy preocupado ahora por posibles desgracias futuras | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 8. Me siento descansado | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 9. Me siento angustiado | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 10. Me siento confortable | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 11. Tengo confianza en mí mismo | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 12. Me siento nervioso | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 13. Estoy desasosegado | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 14. Me siento muy «atado» (como oprimido) | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 15. Estoy relajado | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 16. Me siento satisfecho | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 17. Estoy preocupado | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 18. Me siento aturdido y sobreexcitado | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 19. Me siento alegre | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 20. En este momento me siento bien | 0 | 1 | 2 | 3 |


Universidad Complutense Madrid
Proyecto de Apoyo a la Evaluación Psicológica Clínica
Instrumentos - Material de Prácticas

ANSIEDAD-RASGO

Instrucciones: A continuación encontrará unas frases que se utilizan comúnmente para describirse uno a sí mismo. Lea cada frase y señale la puntuación de 0 a 3 que indique mejor cómo se siente usted en general, en la mayoría de las ocasiones. No hay respuestas buenas ni malas. No emplee demasiado tiempo en cada frase y conteste señalando la respuesta que mejor describa cómo se siente usted generalmente.

| | Casi nunca | A veces | A menudo | Casi siempre |
|--|------------|---------|----------|--------------|
| 21. Me siento bien | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 22. Me canso rápidamente | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 23. Siento ganas de llorar | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 24. Me gustaría ser tan feliz como otros | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 25. Pierdo oportunidades por no decidirme pronto | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 26. Me siento descansado | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 27. Soy una persona tranquila, serena y sosegada | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 28. Veo que las dificultades se amontonan y no puedo con ellas | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 29. Me preocupo demasiado por cosas sin importancia | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 30. Soy feliz | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 31. Suelo tomar las cosas demasiado seriamente | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 32. Me falta confianza en mí mismo | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 33. Me siento seguro | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 34. No suelo afrontar las crisis o dificultades | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 35. Me siento triste (melancólico) | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 36. Estoy satisfecho | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 37. Me rondan y molestan pensamientos sin importancia | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 38. Me afectan tanto los desengaños que no puedo olvidarlos | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 39. Soy una persona estable | 0 | 1 | 2 | 3 |
| 40. Cuando pienso sobre asuntos y preocupaciones actuales me pongo tenso y agitado | 0 | 1 | 2 | 3 |

Cuestionario de estrés percibido (PSS)

Versión española (2.0) de la *Perceived Stress Scale (PSS)* de Cohen, S., Kamarck, T., & Mermelstein, R. (1983), adaptada por el Dr. Eduardo Remor.

Escala de Estrés Percibido - *Perceived Stress Scale (PSS)* – versión completa 14 ítems.

Las preguntas en esta escala hacen referencia a sus sentimientos y pensamientos durante el **último mes**. En cada caso, por favor indique con una "X" cómo usted se ha sentido o ha pensado en cada situación.

| | Nunca | Casi nunca | De vez en cuando | A menudo | Muy a menudo |
|--|-------|------------|------------------|----------|--------------|
| 1. En el último mes, ¿con qué frecuencia ha estado afectado por algo que ha ocurrido inesperadamente? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 2. En el último mes, ¿con qué frecuencia se ha sentido incapaz de controlar las cosas importantes en su vida? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 3. En el último mes, ¿con qué frecuencia se ha sentido nervioso o estresado? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 4. En el último mes, ¿con qué frecuencia ha manejado con éxito los pequeños problemas irritantes de la vida? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 5. En el último mes, ¿con qué frecuencia ha sentido que ha afrontado efectivamente los cambios importantes que han estado ocurriendo en su vida? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 6. En el último mes, ¿con qué frecuencia ha estado seguro sobre su capacidad para manejar sus problemas personales? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 7. En el último mes, ¿con qué frecuencia ha sentido que las cosas le van bien? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 8. En el último mes, ¿con qué frecuencia ha sentido que no podía afrontar todas las cosas que tenía que hacer? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 9. En el último mes, ¿con qué frecuencia ha podido controlar las dificultades de su vida? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 10. En el último mes, ¿con qué frecuencia se ha sentido que tenía todo bajo control? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 11. En el último mes, ¿con qué frecuencia ha estado enfadado porque las cosas que le han ocurrido estaban fuera de su control? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 12. En el último mes, ¿con qué frecuencia ha pensado sobre las cosas que le quedan por hacer? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 13. En el último mes, ¿con qué frecuencia ha podido controlar la forma de pasar el tiempo? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| 14. En el último mes, ¿con qué frecuencia ha sentido que las dificultades se acumulan tanto que no puede superarlas? | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |

Cuestionario breve sobre la percepción de fatiga (BFI)

| | | | | | | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|--------------------------------------|
| <p>Durante el transcurso de nuestras vidas, la mayoría de nosotros tenemos momentos en que nos sentimos cansados o fatigados. ¿Se sintió usted muy cansado (fatigado) durante la semana pasada? Si <input type="checkbox"/> No <input type="checkbox"/></p> | | | | | | | | | | |
| <p>1. Por favor, califique su fatiga (cansancio) haciendo un círculo alrededor del número que describe su fatiga EN ESTE MOMENTO.</p> | | | | | | | | | | |
| 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Ninguna Fatiga | | | | | | | | | | La peor fatiga que se puede imaginar |
| <p>2. Por favor, califique su fatiga (cansancio) haciendo un círculo alrededor del número que describe su fatiga USUAL durante las últimas 24 horas.</p> | | | | | | | | | | |
| 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Ninguna Fatiga | | | | | | | | | | La peor fatiga que se puede imaginar |
| <p>3. Por favor, califique su fatiga (cansancio) haciendo un círculo alrededor del número que describe su fatiga PEOR durante las últimas 24 horas.</p> | | | | | | | | | | |
| 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| Ninguna Fatiga | | | | | | | | | | La peor fatiga que se puede imaginar |
| <p>4. Haga un círculo alrededor del número que mejor describe la manera en que su fatiga ha interferido, durante las últimas 24 horas, con su:</p> | | | | | | | | | | |
| <p>A. Actividad en general</p> | | | | | | | | | | |
| 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| No interfiere | | | | | | | | | | Interfiere por completo |
| <p>B. Estado de ánimo</p> | | | | | | | | | | |
| 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| No interfiere | | | | | | | | | | Interfiere por completo |
| <p>C. Capacidad para caminar</p> | | | | | | | | | | |
| 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| No interfiere | | | | | | | | | | Interfiere por completo |
| <p>D. Trabajo normal (ya sea en casa o afuera del hogar)</p> | | | | | | | | | | |
| 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| No interfiere | | | | | | | | | | Interfiere por completo |
| <p>E. Relaciones con otras personas</p> | | | | | | | | | | |
| 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| No interfiere | | | | | | | | | | Interfiere por completo |
| <p>F. Capacidad de diversión (disfrutar la vida)</p> | | | | | | | | | | |
| 0 | 1 | 2 | 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 9 | 10 |
| No interfiere | | | | | | | | | | Interfiere por completo |

Cuestionario depresión de Beck (BDI)

| | |
|----|--|
| 1) | No me siento triste Me siento triste Me siento triste todo el tiempo y no puedo librarme de ello Me siento tan triste o desdichado que no puedo soportarlo |
| 2) | No estoy particularmente desanimado con respecto al futuro Me siento desanimado con respecto al futuro Siento que no puedo esperar nada del futuro Siento que el futuro es irremediable y que las cosas no pueden mejorar |
| 3) | No me siento fracasado Siento que he fracasado más que la persona normal Cuando miro hacia el pasado lo único que puedo ver en mi vida es un montón de fracasos Siento que como persona soy un fracaso completo |
| 4) | Sigo obteniendo tanto placer de las cosas como antes No disfruto de las cosas como solía hacerlo Yo nada me satisface realmente Todo me aburre o me desagrada |
| 5) | No siento ninguna culpa particular Me siento culpable buena parte del tiempo Me siento bastante culpable la mayor parte del tiempo Me siento culpable todo el tiempo |
| 6) | No siento que esté siendo castigado Siento que puedo estar siendo castigado Espero ser castigado Siento que estoy siendo castigado |
| 7) | No me siento decepcionado en mí mismo Estoy decepcionado conmigo Estoy harto de mí mismo Me odio a mí mismo |
| 8) | No me siento peor que otros Me critico por mis debilidades o errores Me culpo todo el tiempo por mis faltas Me culpo por todas las cosas malas que suceden |

| | |
|-----|---|
| 9) | No tengo ninguna idea de matarme Tengo ideas de matarme, pero no las llevo a cabo Me gustaría matarme Me mataría si tuviera la oportunidad |
| 10) | No lloro más de lo habitual Lloro más que antes Ahora lloro todo el tiempo Antes era capaz de llorar, pero ahora no puedo llorar nunca aunque quisiera |
| 11) | No me irrito más ahora que antes Me enojo o irrito más fácilmente ahora que antes Me siento irritado todo el tiempo No me irrito para nada con las cosas que solía irritarme |
| 12) | No he perdido interés en otras personas Estoy menos interesado en otras personas de lo que solía estar He perdido la mayor parte de mi interés en los demás He perdido todo interés en los demás |
| 13) | Tomo decisiones como siempre Dejo de tomar decisiones más frecuentemente que antes Tengo mayor dificultad que antes en tomar decisiones Ya no puedo tomar ninguna decisión |
| 14) | No creo que me vea peor que antes Me preocupa que esté pareciendo avejentado o inactivo Siento que hay cambios permanentes en mi apariencia que me hacen parecer inactivo Creo que me veo horrible |
| 15) | Puedo trabajar tan bien como antes Me cuesta un mayor esfuerzo empezar a hacer algo Tengo que hacer un gran esfuerzo para hacer cualquier cosa No puedo hacer ningún tipo de trabajo |
| 16) | Puedo dormir tan bien como antes No duermo tan bien como antes Me despierto 1 ó 2 horas más temprano de lo habitual y me cuesta volver a dormir Me despierto varias horas más temprano de lo habitual y no puedo volver a dormirme |

| | |
|-----|---|
| 17) | No me canso más de lo habitual Me canso más fácilmente de lo que solía cansarme Me canso al hacer cualquier cosa Estoy demasiado cansado para hacer cualquier cosa |
| 18) | Mi apetito no ha variado Mi apetito no es tan bueno como antes Mi apetito es mucho peor que antes Ya no tengo nada de apetito |
| 19) | Últimamente no he perdido mucho peso, si es que perdí algo He perdido más de 2 kilos He perdido más de 4 kilos He perdido más de 6 kilos |
| 20) | No estoy más preocupado por mi salud de lo habitual Estoy preocupado por problemas físicos tales como malestares y dolores de estómago o constipación Estoy muy preocupado por problemas físicos y es difícil pensar en otra cosa Estoy tan preocupado por mis problemas físicos que no puedo pensar en nada más |
| 21) | No he notado cambio reciente de mi interés por el sexo Estoy menos interesado por el sexo que antes Estoy mucho menos interesado por el sexo ahora He perdido por completo mi interés por el sexo |

ANEXO 2: CONSENTIMIENTO INFORMADO

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo,, con DNI:

DECLARO:

Haber sido informado/a del estudio y procedimientos de la investigación del Proyecto titulado: Efectos diferenciales en la salud a través del uso de un simbiótico en deportistas profesionales y personas sedentarias

Los investigadores que van a acceder a mis datos personales y a los resultados de las pruebas son: Carmen Daniela Quero Calero, Eduardo Ortega Rincón y Pedro Manonelles Marqueta.

Asimismo, he podido hacer preguntas del estudio, comprendiendo que me presto de forma voluntaria al mismo y que en cualquier momento puedo abandonarlo sin que me suponga perjuicio de ningún tipo.

CONSIENTO:

1.-) Someterme a las siguientes pruebas exploratorias (en su caso): Toma muestra plasma en sangre, toma muestra de heces y orina, ingesta de un complemento alimenticio (simbiótico Gasteel Plus) o placebo, antropometría, acelerometría, medidas de la variabilidad de la frecuencia cardíaca, cuestionarios validados para el estudio del estrés, ansiedad y percepción de calidad de vida.

2.-) El uso de los datos obtenidos según lo indicado en el párrafo siguiente:

En cumplimiento de la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal, le comunicamos que la información que ha facilitado y la obtenida como consecuencia de las exploraciones a las que se va a someter pasará a formar parte del fichero automatizado INVESALUD, cuyo titular es la FUNDACIÓN UNIVERSITARIA SAN ANTONIO, con la finalidad de INVESTIGACIÓN Y DOCENCIA EN LAS ÁREAS DE CONOCIMIENTO CIENCIAS EXPERIMENTALES Y CIENCIAS DE LA SALUD. Tiene derecho a acceder a esta información y cancelarla o rectificarla, dirigiéndose al domicilio de la entidad, en Avda. de los Jerónimos de Guadalupe 30107 (Murcia). Esta entidad le garantiza la adopción de las medidas oportunas para asegurar el tratamiento confidencial de dichos datos.

En Guadalupe (Murcia) a de de 20

