

EFECTOS
CRÓNICOS
REFIX

ESTUDIO 2

Junio '24

ÍNDICE

03.
Abreviaturas

04.
Highlits

06.
Objetivo

07.
Método

11.
Resultados

76.
Conclusión

ÍNDICE ABREVIATURAS

GC = Grupo Control

RL = Refix Limón

RN = Refix Naranja

ALT = alanina aminotransferasa

AST = aspartato aminotransferasa

MDA = malondialdehído

K⁺ = Potasio

Na⁺ = Sodio

Mg²⁺ = Magnesio

Ca²⁺ = Calcio

HbA1C = Hemoglobina glicosilada

Kg = kilogramos

m² = metros al cuadrado

MG = masa grasa

MLG = masa libre de grasa

% = porcentaje

MM = masa muscular

PAS = Presión Arterial Sistólica

PAD = Presión Arterial Diastólica

mmHg = milímetros de mercurio

mg/dL = miligramos / decilitro

μU/mL = microunidades por mililitro

U/L = unidades por litro

mmol = milimol

μM/L = micromole por litro

ng/mL = nanogramos por mililitro

DM = diferencia medias

Beneficios Gastrointestinales

Los grupos REFIX mostraron mejoras notables en la función gastrointestinal, con **reducciones significativas en los síntomas de estreñimiento** y mejoras en la **consistencia de las heces**, como se evidenció en la Escala de Bristol. La intervención parece ser efectiva para mejorar la salud digestiva y promover un tránsito intestinal más regular y saludable. Estos beneficios están asociados con el **incremento en la abundancia de bacterias muconutritivas** como *Akkermansia muciniphila*, *Faecalibacterium prausnitzii*, *Roseburia intestinalis* y *Eubacterium rectale*, que son esenciales para la integridad de la mucosa intestinal y la producción de butirato, un compuesto antiinflamatorio. Además, el **aumento en las bacterias reguladoras** como *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* apoya la fermentación de fibras y la producción de ácidos grasos de cadena corta, mejorando aún más la salud intestinal.

Mejoras hepáticas

Los grupos REFIX experimentaron disminuciones en los niveles de ALT, indicando una **posible regeneración o mejora en la función hepática**. El alto contenido en contenido de magnesio, calcio y potasio puede ser el responsable.

Control glucémico

Los participantes de los grupos REFIX experimentaron una reducción de los niveles de glucosa en sangre, lo que indica una mejora en el control glucémico. Este efecto se complementó con una disminución en los niveles de insulina, sugiriendo una mejora en la sensibilidad a la insulina y un potencial para ayudar en la gestión de la glucosa a largo plazo.

Mood

The study revealed improvements in various dimensions of mood, including **reductions in tension and depression**, according to the Profile of Mood States (POMS) Scale. These changes reinforce the role of the intervention as a beneficial supplement for mental health and emotional well-being.

Oxidative stress reduction

A **significant decrease in malondialdehyde (MDA) levels**, a marker of oxidative stress, was observed. This indicates that the intervention in the REFIX groups contributed to the reduction of cellular oxidative damage, promoting a better antioxidant balance in the body.



OBJECTIVE

To evaluate the **chronic effects** of REFIX intake on body composition, blood pressure, sleep, stress, mood, constipation, blood, liver, urine biomarkers, antioxidants, and microbiota in healthy adult men and women.



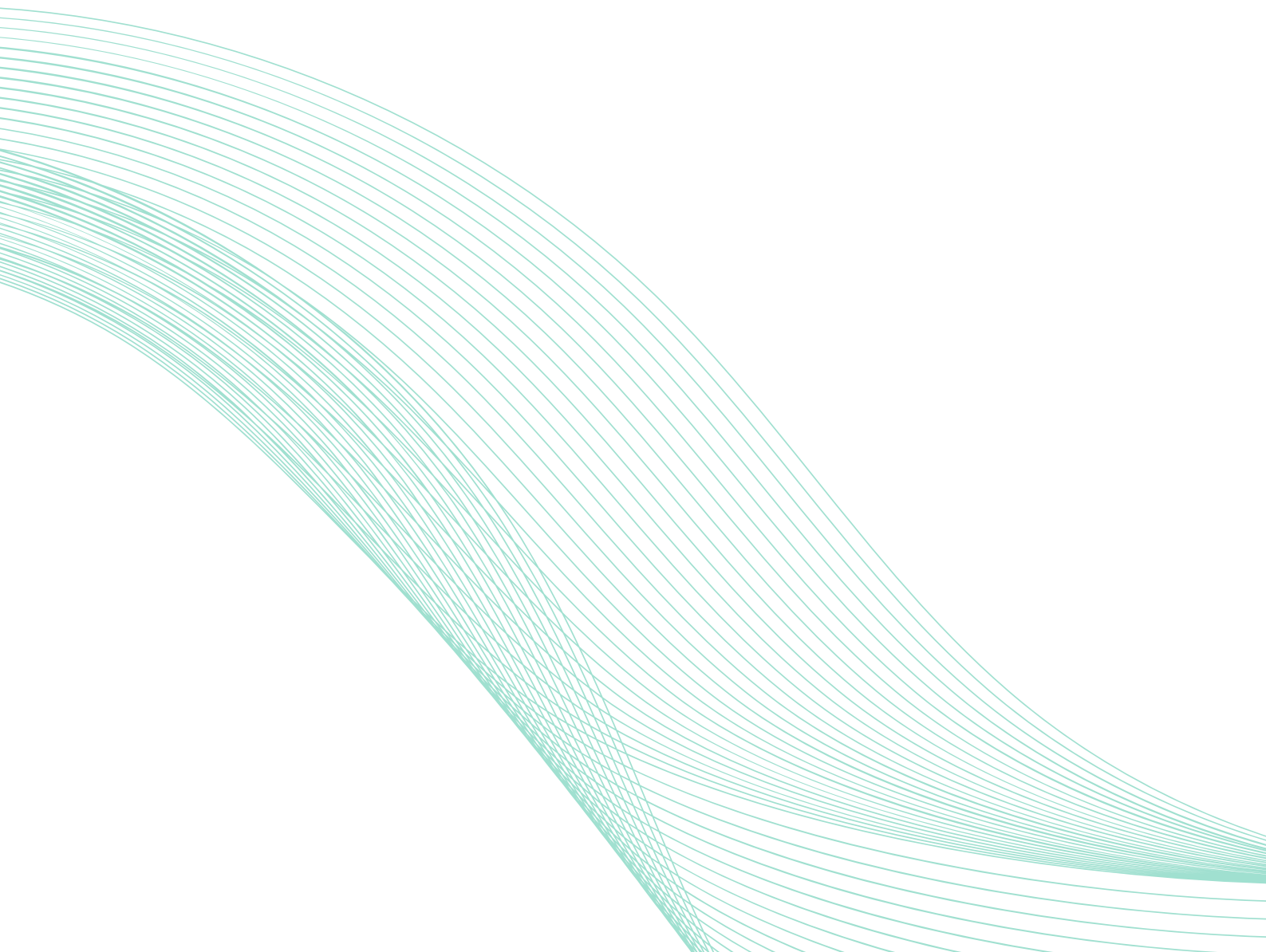


**European Institute of
Exercise and Health**



**Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante**

MÉTODO



Diseño del estudio

Este estudio es un ensayo clínico aleatorio en el que los participantes fueron asignados a uno de los tres grupos (GC= grupo control; RN= grupo REFIX Naranja; RL= grupo REFIX Limón) con el fin de determinar el efecto de REFIX (bebida hipertónica hecha a base de agua de mar) sobre diferentes parámetros de salud.

Participantes

Un total de 155 participantes se reclutaron durante 2023/2024. Todos ellos fueron voluntarios, la muestra estaba formada tanto por hombres como mujeres, todos ellos debían cumplir los siguientes criterios de inclusión:

- (1) hombres y mujeres de edad >18 años;
- (2) índice de masa corporal (IMC) de 18 a 25 kg/m²;

Los criterios de exclusión fueron:

- (1) individuos con antecedentes de hipersensibilidad clínicamente significativa al alcohol;
- (2) individuos que tomen medicación hasta 3 meses antes del inicio o suplementos durante el estudio;
- (3) individuos con antecedentes de patología o trastorno gastrointestinal como úlcera duodenal, colitis crónica o enfermedad/cirugía inflamatoria crónica del tracto gastrointestinal (enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa), enfermedad celíaca o síndrome de intestino irritable;
- (4) individuos con enfermedades agudas o crónicas graves, tratamientos o cirugía reciente;
- (5) individuos con un informe de niveles séricos de aspartato aminotransferasa (AST) y alanina aminotransferasa (ALT) superiores al límite superior del intervalo de referencia.

Variables de estudio

Fundamentales, físicas y psicológicas

Composición corporal

Tensión arterial

Dieta cuantitativa

Actividad física

Calidad del sueño

Escala de Bristol

Estado de ánimo (POMS)

Calidad de vida (WHOQOL)

Escala de estrés percibido (S Cohen, 1994)

Escala del perfil del estado de ánimo (Katja Petrowski, 2021)

Evaluación de los síntomas de estreñimiento por parte de los pacientes (PAC-SYM)

Evaluación de la calidad de vida del paciente con estreñimiento (PAC-QOL)

Biomarcadores sanguíneos elementales

Glucosa

Insulina

Perfil lipídico

Biomarcadores de orina

Peso específico de la orina

Minerales: K⁺, Na⁺, Mg²⁺, Ca²⁺ pH

Biomarcadores antioxidantes

HbA1C

Malondialdehído

Catalasa

Mieloperoxidasa

Biomarcadores hepáticos

AST

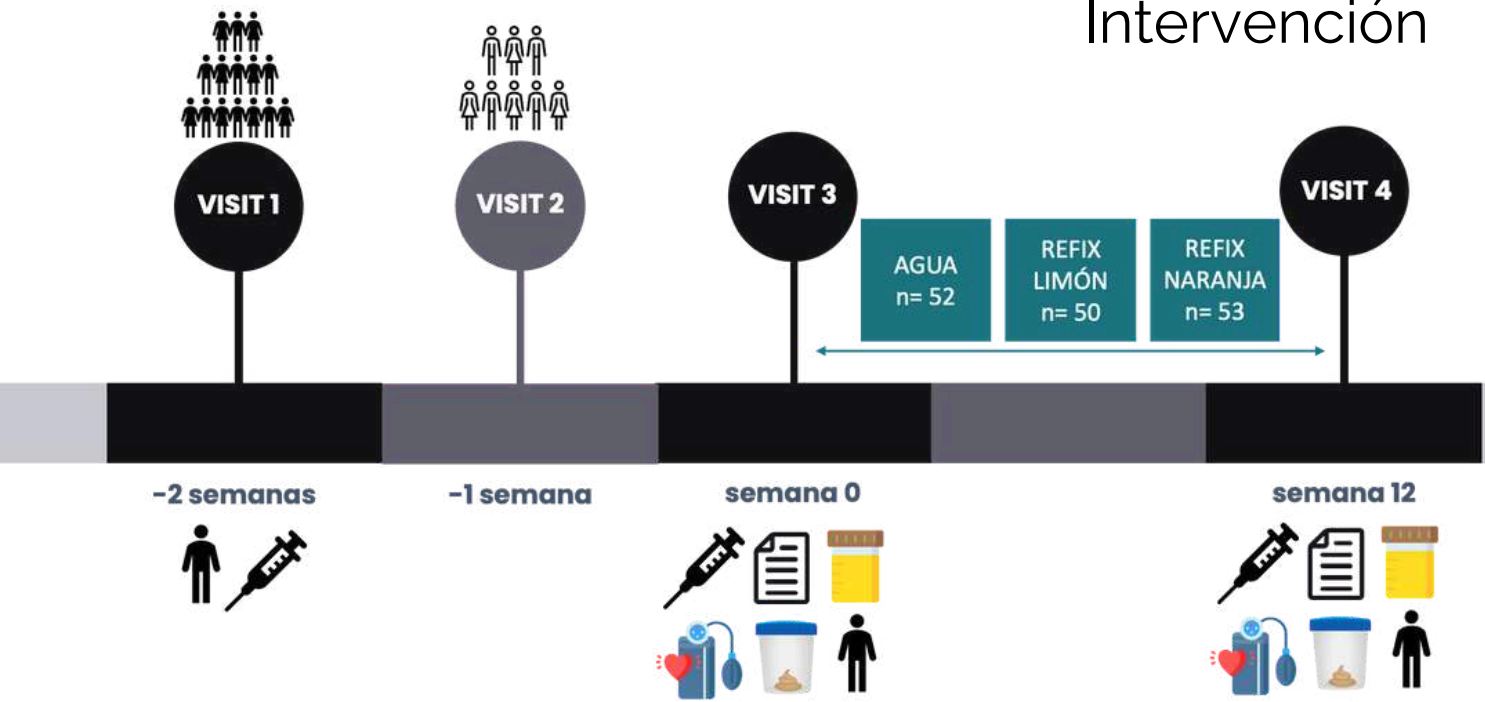
ALT

Bilirubina

Biomarcadores del microbioma

Muconutritivas, reguladoras, proteolíticas y arqueas

Intervención



Declaraciones éticas

El presente estudio se realizó de acuerdo con las normas de la declaración de Helsinki. El Comité Ético de Investigación Humana de la Universidad de Alicante (España) concedió la aprobación para realizar un ensayo aleatorio (UA-2023-10-03) y todos los participantes en el estudio dieron su consentimiento por escrito antes de la participación. Además, los investigadores mantuvieron la confidencialidad de todos los datos personales de los participantes, codificando la información personal para tal fin.

Análisis estadístico

El análisis estadístico de los datos se realizará con el programa estadístico JAMOVI versión 1.6.23.0 (Sydney, Australia). Para los estadísticos descriptivos (media \pm desviación estándar) y el análisis inferencial, se utilizará la prueba de Shapiro-Wilk para establecer la distribución de normalidad. Las diferencias estadísticas entre los distintos tiempos y grupos se probarán mediante análisis de varianza de dos vías - ANCOVA (incluidas las posibles variables de confusión), con comparaciones post hoc de Bonferroni, o la prueba no paramétrica homóloga. El nivel de significación se fijó en $p < 0,05$. Los tamaños del efecto se establecerán como efecto pequeño, mediano o grande basándose en los umbrales publicados (Serdar, 2021).

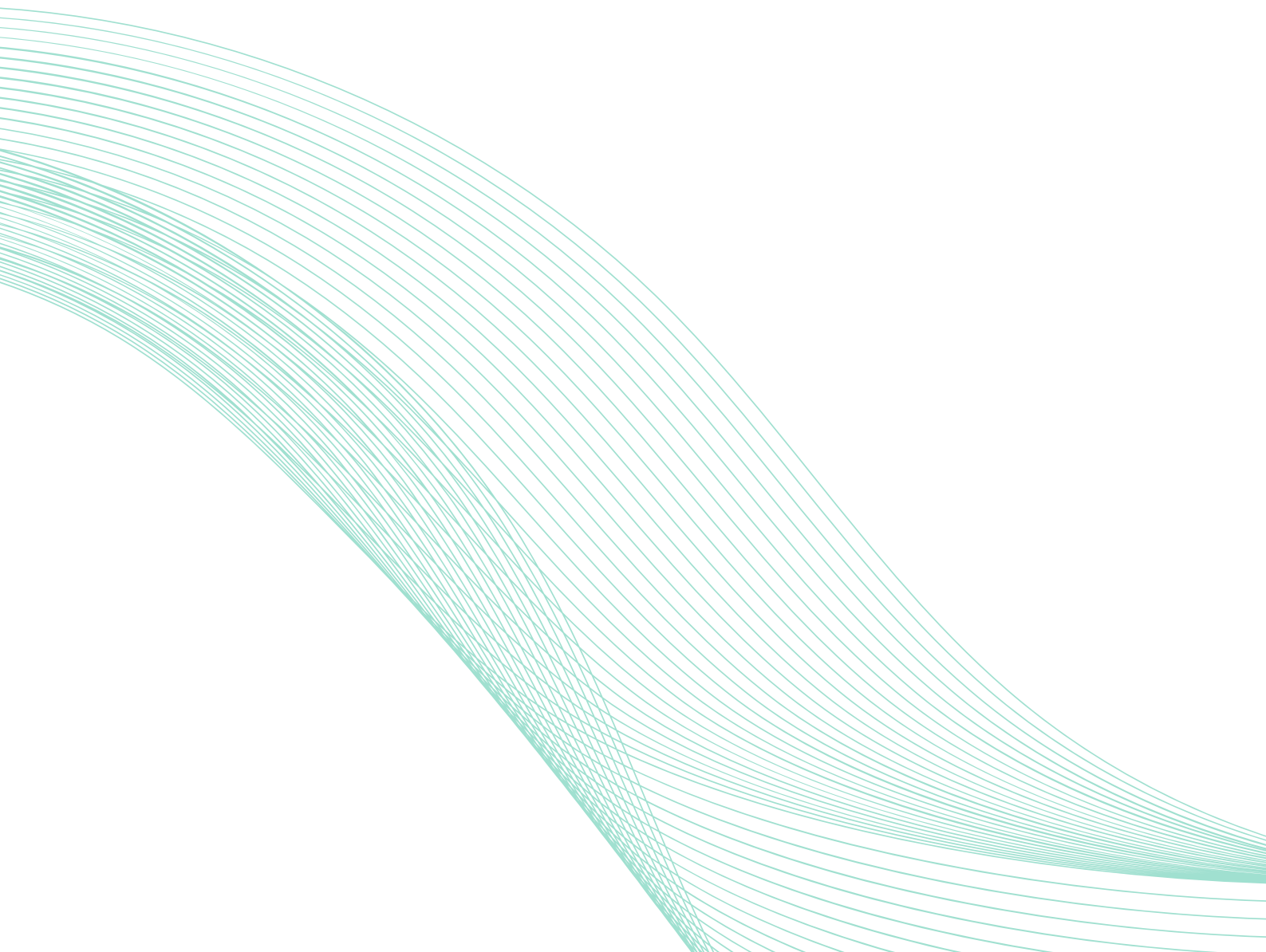


**European Institute of
Exercise and Health**



**Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante**

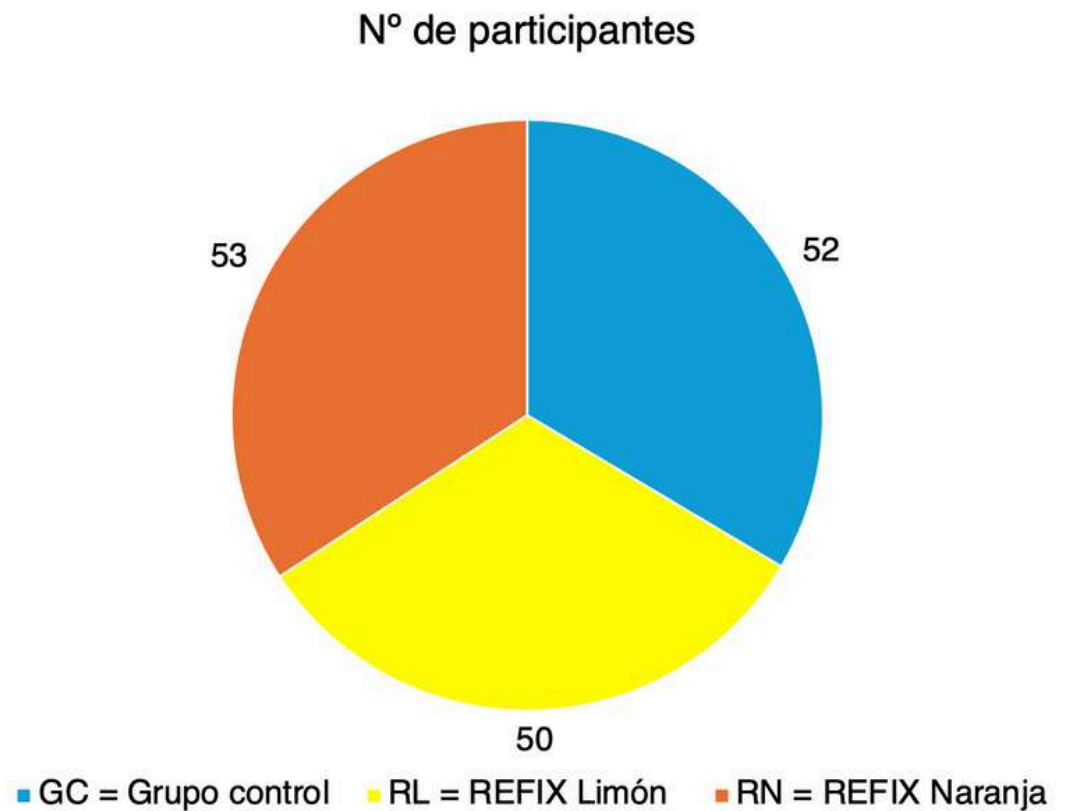
RESULTADOS



DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA

Distribución de la muestra por grupo

La muestra se dividió en 3 grupos en función de la intervención recibida. Este diseño permitió una evaluación sistemática y comparativa de los efectos de REFIX sobre diferentes parámetros de salud.



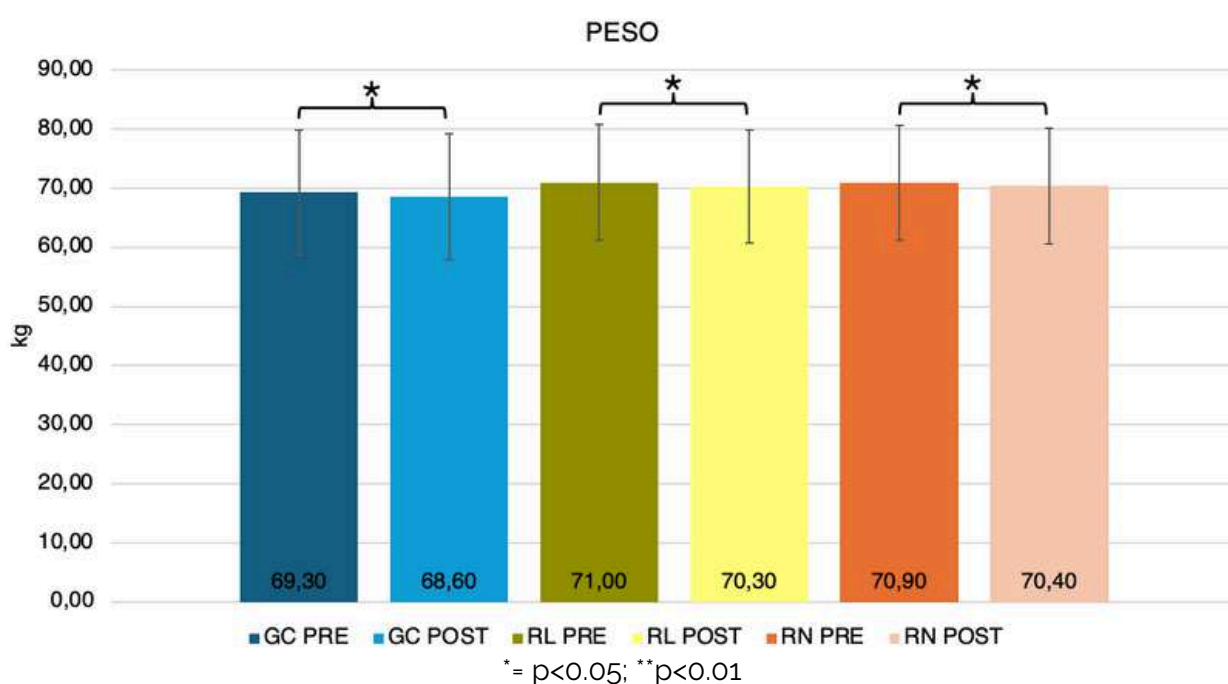
COMPOSICIÓN CORPORAL

La **composición corporal** es un indicador crucial de la salud general y el bienestar físico, que incluye la evaluación de diferentes componentes del cuerpo como la masa grasa, la masa magra y el agua corporal. En este estudio, se utilizó tanto la bioimpedancia como la antropometría para medir estos componentes antes y después de la intervención con REFIX y alcohol.

La **bioimpedancia** es una técnica utilizada para evaluar la composición corporal midiendo la resistencia del cuerpo a una corriente eléctrica. Esta técnica proporciona estimaciones de diferentes componentes corporales, incluyendo:

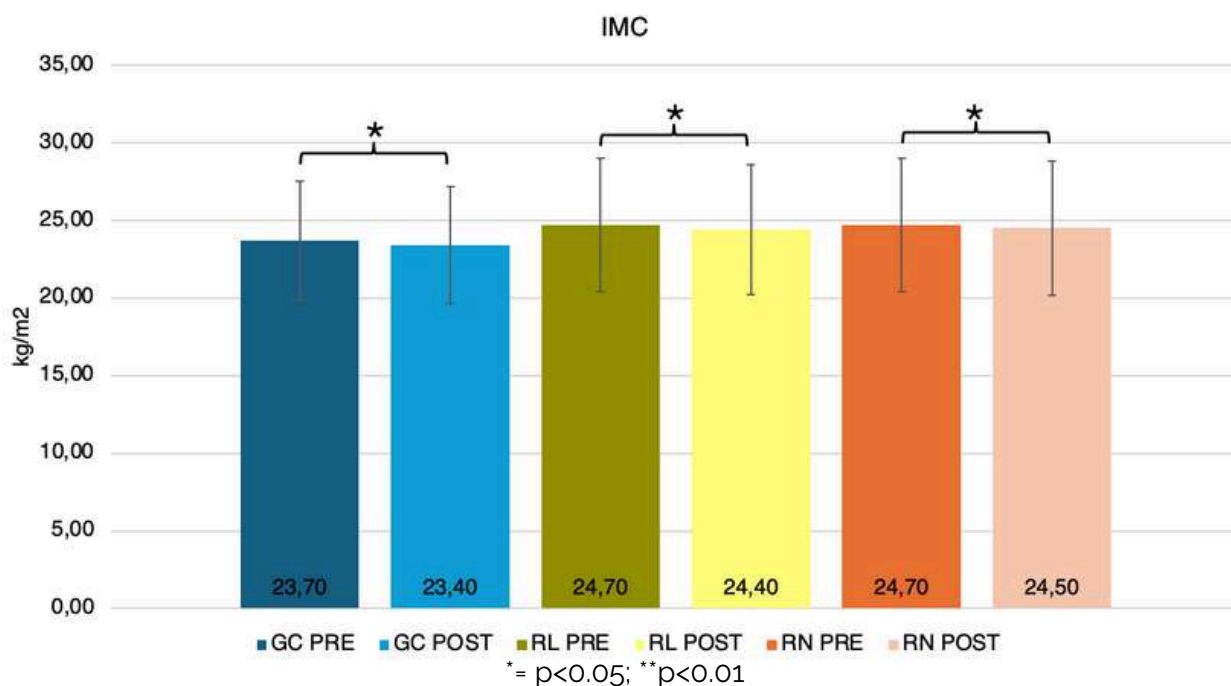
Peso Corporal:

- Efecto Tiempo: Hubo una **disminución significativa** en el peso corporal a lo largo del tiempo ($F = 37.211$, $p < 0.001$, $\eta^2 p = 0.197$) en **todos los grupos**. Los valores de p fueron de 0.003, 0.006 y 0.036 para GC, RL y RN, respectivamente).
- Efecto Tiempo x Grupo: No hubo diferencias significativas entre los grupos a lo largo del tiempo ($F = 0.175$, $p = 0.840$, $\eta^2 p = 0.002$).



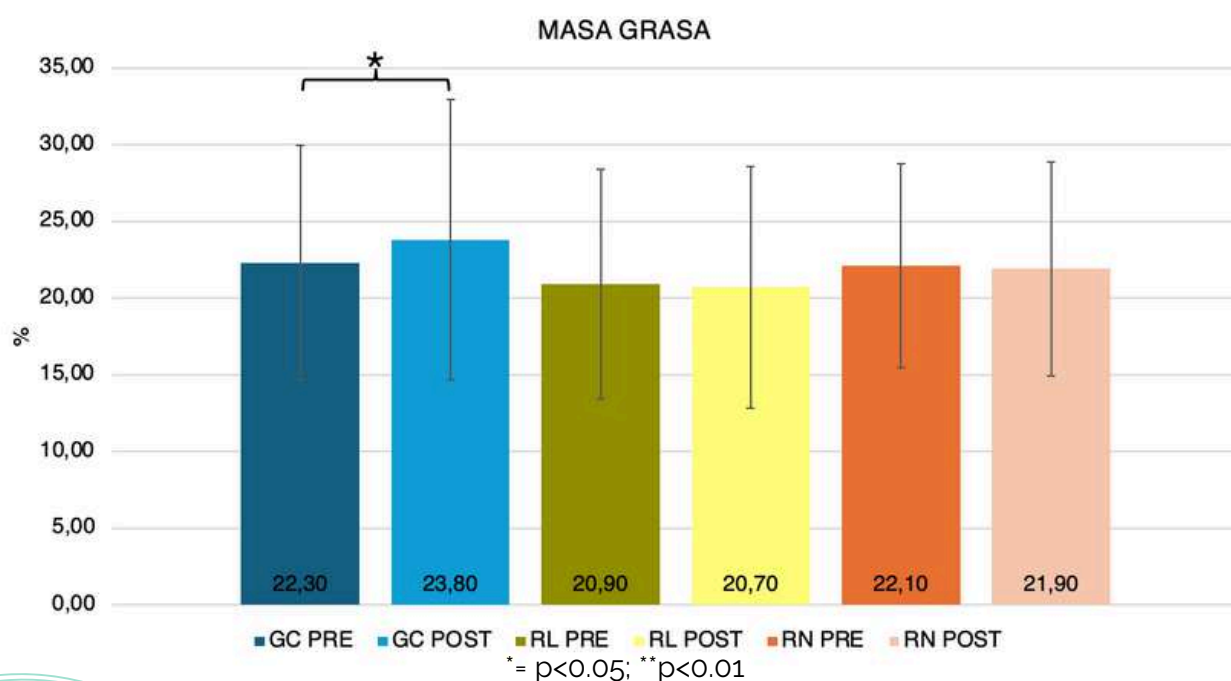
IMC (índice de masa corporal):

- Efecto Tiempo: Hubo una **disminución significativa** en el IMC a lo largo del tiempo ($F = 39.414$, $p < 0.001$, $\eta^2 p = 0.206$). Los valores de p fueron de 0.003, 0.006 y 0.036 para GC, RL y RN, respectivamente).
- Efecto Tiempo x Grupo: No hubo diferencias significativas entre los grupos a lo largo del tiempo ($F = 0.263$, $p = 0.769$, $\eta^2 p = 0.003$).



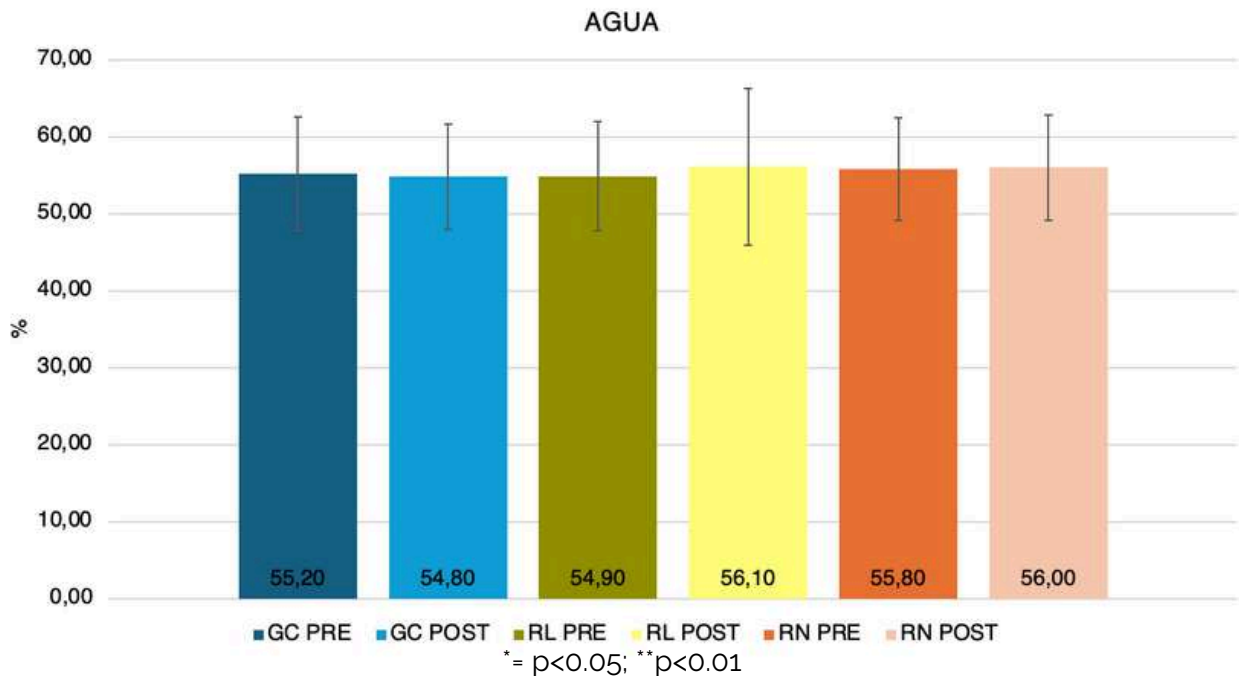
Masa Grasa (MG%):

- Efecto Tiempo: No se observaron diferencias significativas en la masa grasa en porcentaje a lo largo del tiempo ($F = 2.190$, $p = 0.141$, $\eta^2 p = 0.014$).
- Efecto Tiempo x Grupo: Hubo **diferencias significativas** entre los grupos a lo largo del tiempo ($F = 5.160$, $p = 0.007$, $\eta^2 p = 0.064$). En los análisis post hoc se observaron diferencias significativas en el **GC ($p = 0.009$)**.



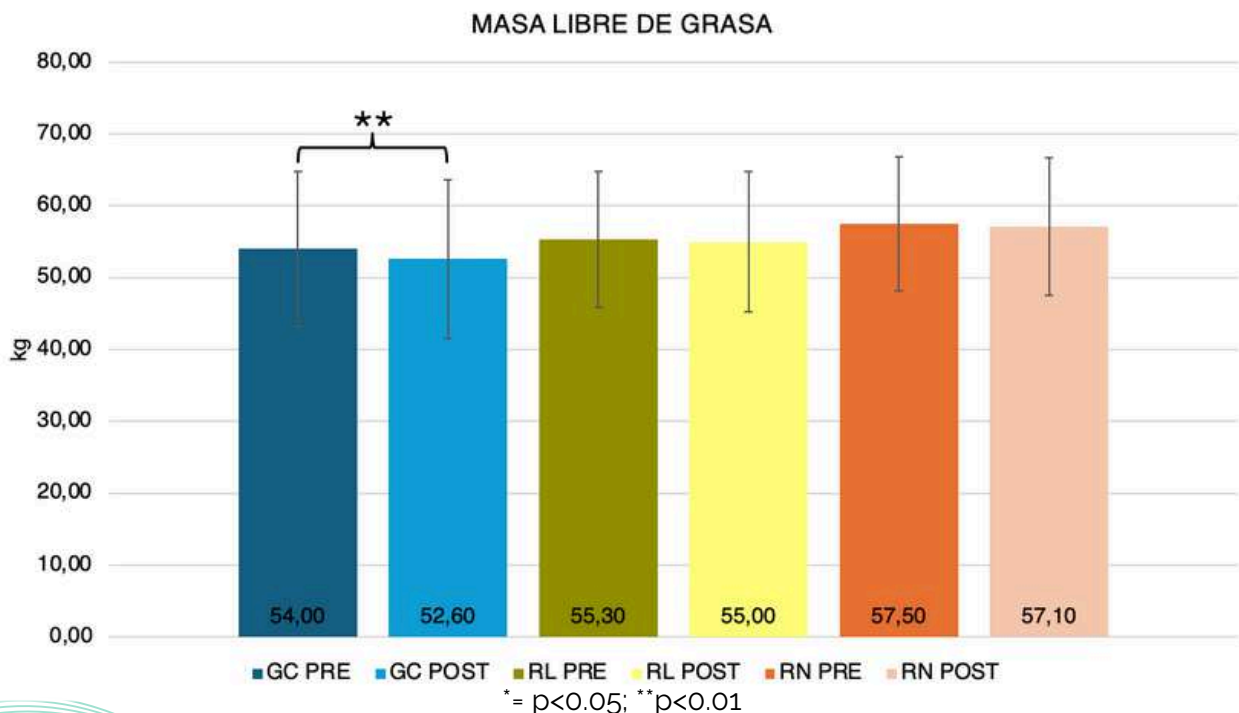
Agua Corporal Total (%):

- Efecto Tiempo: No se observaron diferencias significativas en el porcentaje de agua corporal a lo largo del tiempo ($F = 1.060$, $p = 0.305$, $\eta^2p = 0.007$).
- Efecto Tiempo x Grupo: No hubo diferencias significativas entre los grupos a lo largo del tiempo ($F = 2.060$, $p = 0.131$, $\eta^2p = 0.027$).



Masa Libre de Grasa (MLG kg):

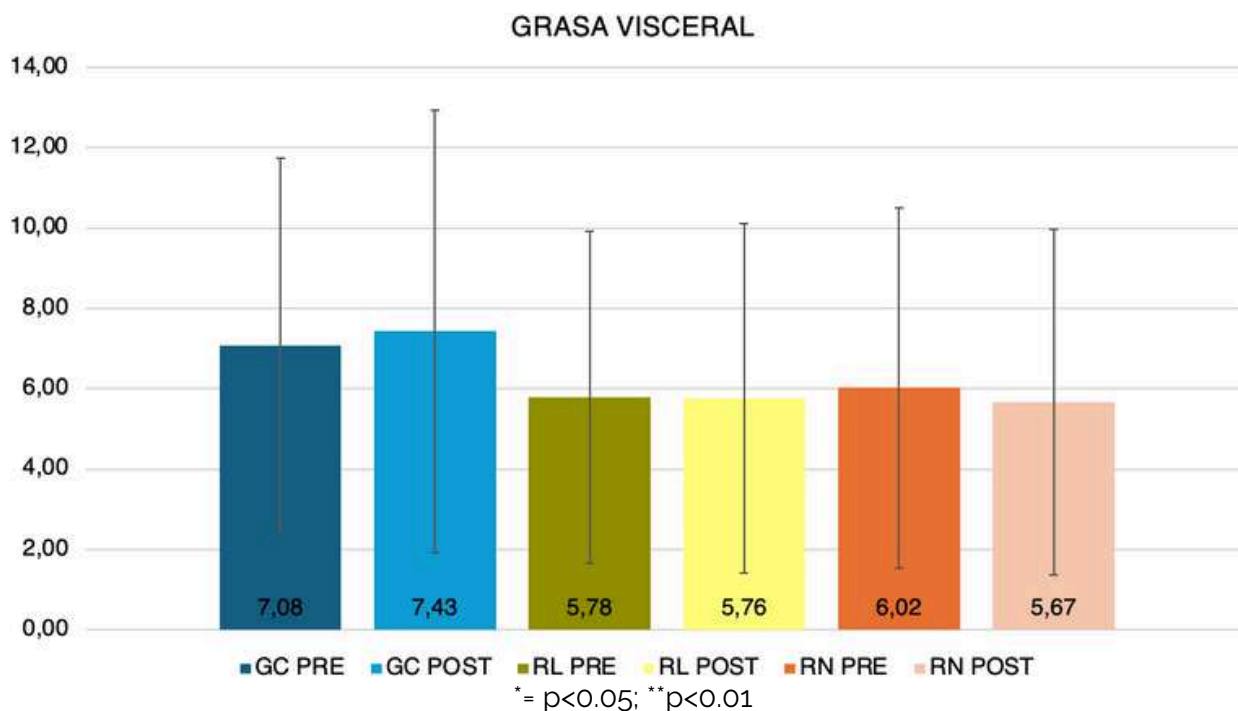
- Efecto Tiempo: Hubo una **disminución significativa** en la masa libre de grasa a lo largo del tiempo ($F = 16.700$, $p < 0.001$, $\eta^2p = 0.100$). Los análisis post hoc confirman esta diferencia en el GC ($p < 0.001$).
- Efecto Tiempo x Grupo: No hubo diferencias significativas entre los grupos a lo largo del tiempo ($F = 4.590$, $p = 0.012$, $\eta^2p = 0.057$).



Grasa Visceral:

Efecto Tiempo: No se observaron diferencias significativas en la grasa visceral a lo largo del tiempo ($F = 0.002$, $p = 0.965$, $\eta^2p = 0.000$).

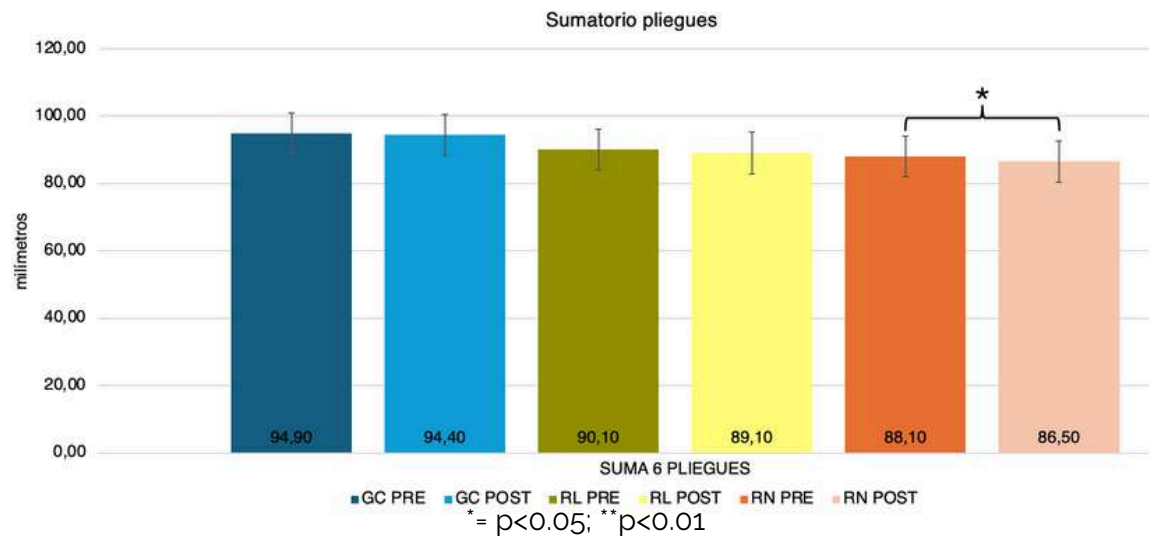
Efecto Tiempo x Grupo: No hubo diferencias significativas entre los grupos a lo largo del tiempo ($F = 122.445$, $p = 0.297$, $\eta^2p = 0.016$).



Los resultados de la **composición corporal** medida por **bioimpedancia** indican que todos los grupos disminuyeron el peso corporal e IMC a lo largo del tiempo. Por tanto, no se puede afirmar que la intervención en los grupos RL y RN ayuda a disminuir el peso corporal e IMC. No hubo diferencias significativas en el porcentaje de masa grasa, agua corporal total y grasa visceral.

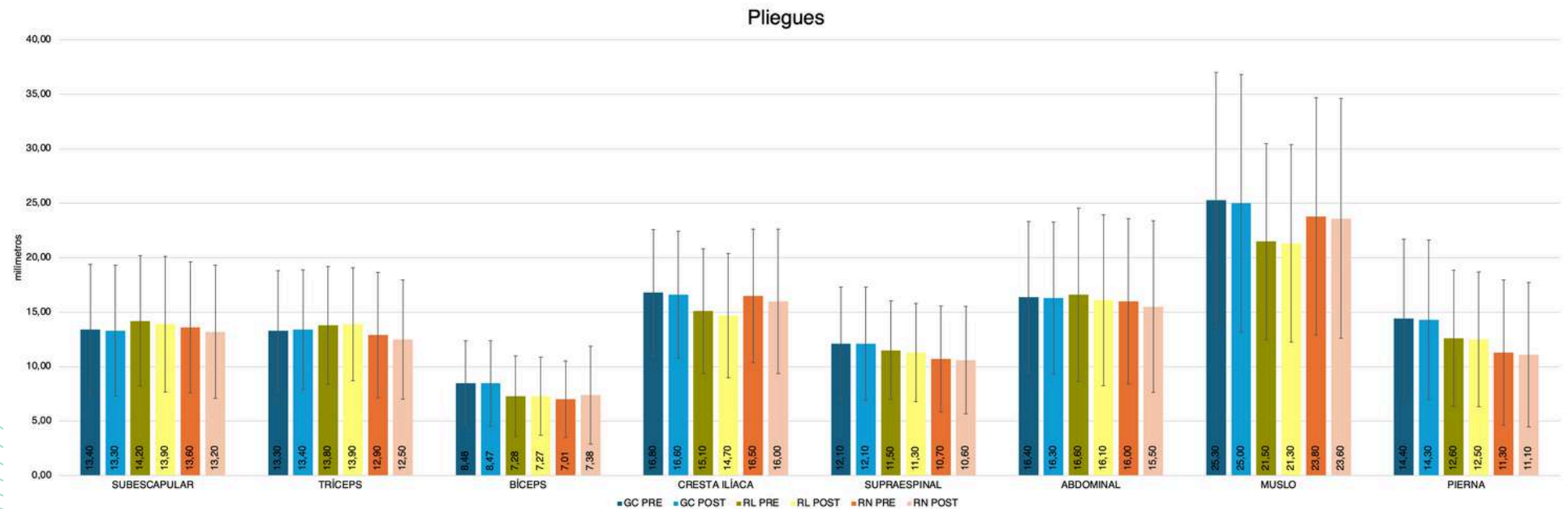
Estudios previos han demostrado que el consumo de bebidas electrolíticas puede ayudar a mantener la hidratación y la masa magra sin afectar negativamente la composición corporal general, por tanto, los resultados son consistentes con la literatura previa.

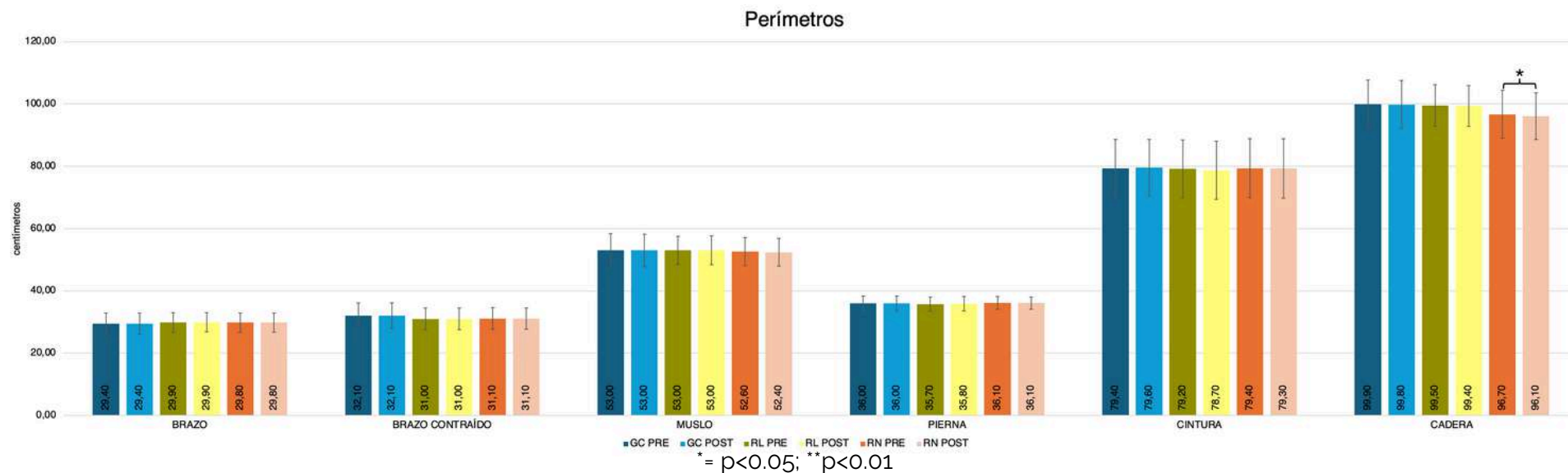
La **antropometría** se refiere a las mediciones del cuerpo humano. En este estudio se midieron varios parámetros antropométricos, incluyendo la suma de pliegues cutáneos, porcentaje de grasa y masa corporales en diferentes componentes. Las principales mediciones fueron:



Suma de 6 Pliegues:

- Efecto Tiempo: Hubo una **disminución significativa** en la suma de 6 pliegues a lo largo del tiempo ($F = 9344.000$, $p = 0.003$, $\eta^2p = 0.058$). Los análisis post hoc muestran una disminución significativa en el **grupo RN ($p = 0.008$)**.
- Efecto Tiempo x Grupo: No hubo diferencias significativas entre los grupos a lo largo del tiempo ($F = 0.729$, $p = 0.484$, $\eta^2p = 0.009$).



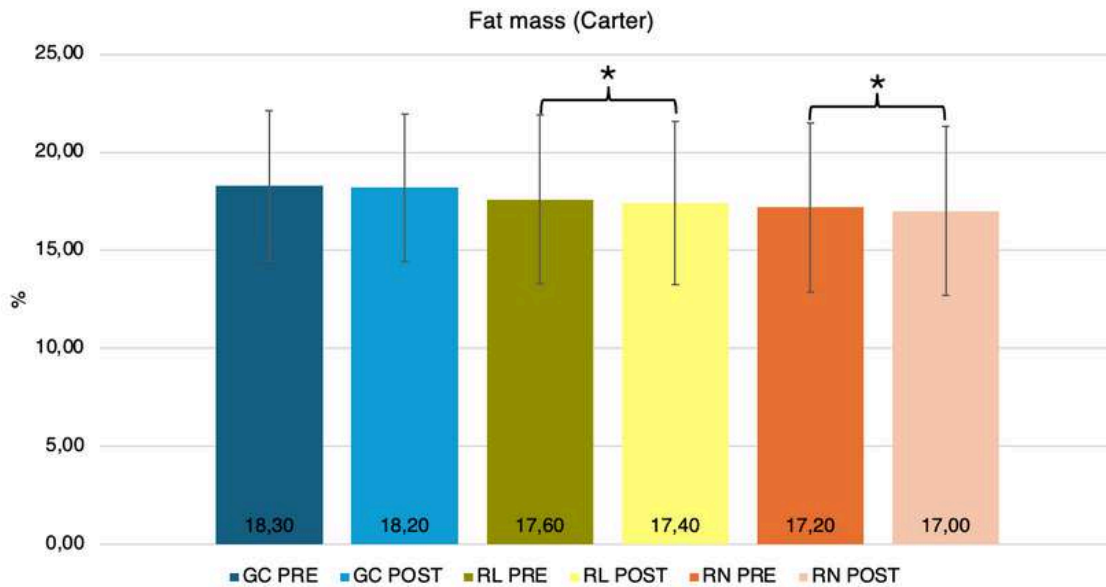


Cintura:

- Efecto Tiempo: No se observaron diferencias significativas en la circunferencia de la cintura a lo largo del tiempo ($F = 0.789$, $p = 0.376$, $\eta^2 p = 0.005$).
- Efecto Tiempo x Grupo: No hubo diferencias significativas entre los grupos a lo largo del tiempo ($F = 1.164$, $p = 0.315$, $\eta^2 p = 0.015$).

Cadera:

- Efecto Tiempo: Hubo una **disminución significativa** en la circunferencia de la cadera a lo largo del tiempo ($F = 4.090$, $p = 0.045$, $\eta^2 p = 0.026$). Esta disminución concretamente se produjo en el **grupo RN, con una disminución de este perímetro respecto al inicio ($p=0.006$)**
- Efecto Tiempo x Grupo: No hubo diferencias significativas entre los grupos a lo largo del tiempo ($F = 1.930$, $p = 0.148$, $\eta^2 p = 0.025$).

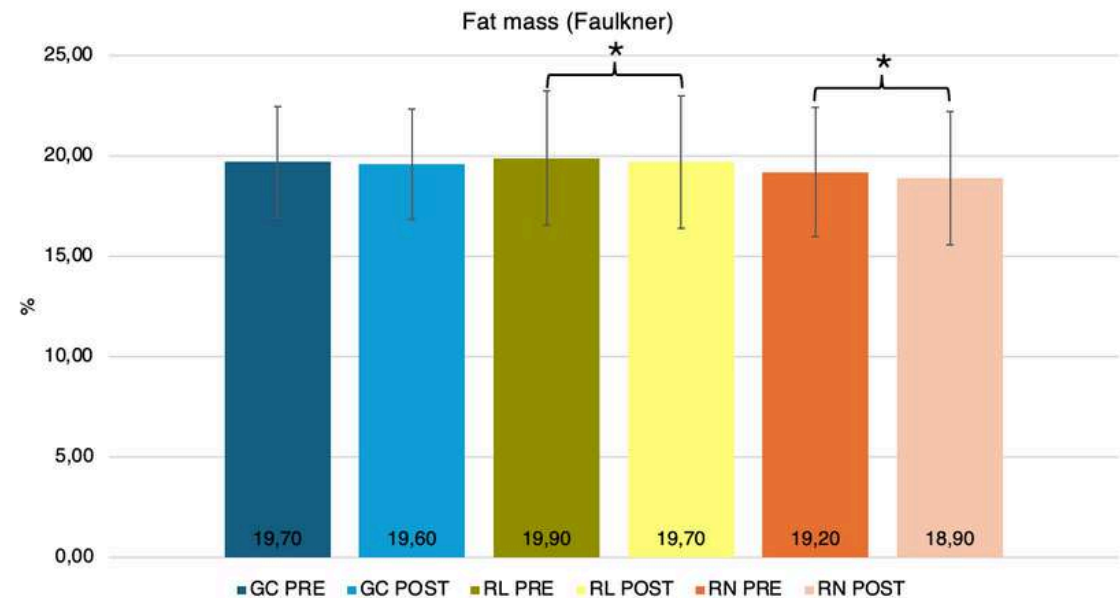


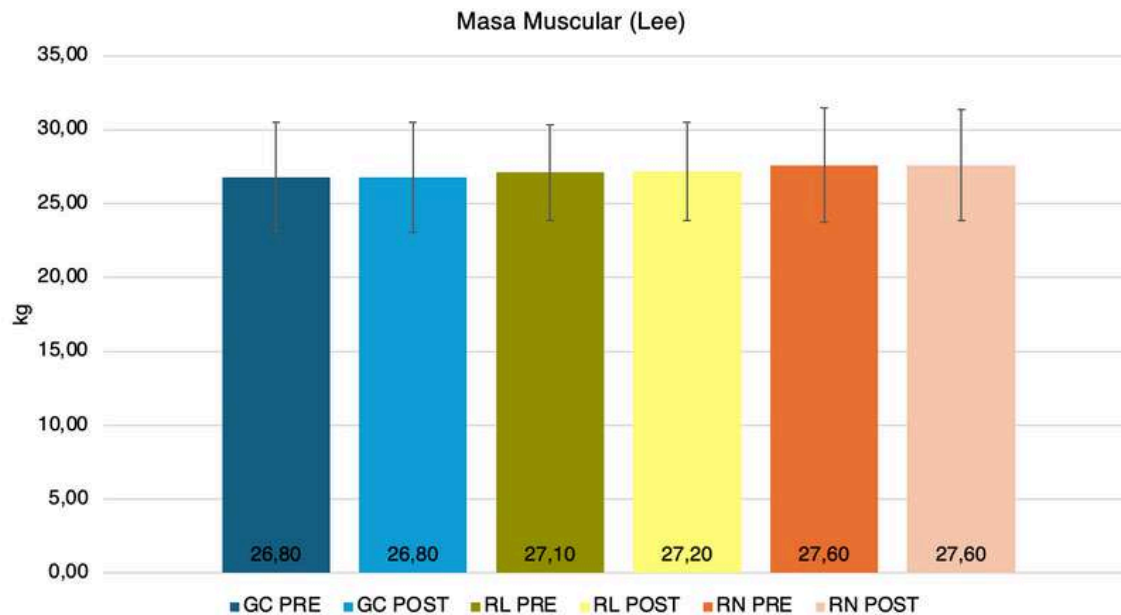
Carter (%):

- Time Effect: There was a **significant decrease** in body fat percentage according to the Carter method over time ($F = 11.533$, $p < 0.001$, $\eta^2p = 0.071$). Post hoc analyses without Bonferroni correction show differences in both the **RN group ($p = 0.004$)** and the **RL group ($p = 0.005$)**.
- Time x Group Effect: There were no significant differences between the groups over time ($F = 0.821$, $p = 0.442$, $\eta^2p = 0.011$).

Faulkner (%):

- Time Effect: There was a **significant decrease** in body fat percentage according to the Faulkner method over time ($F = 10.190$, $p = 0.002$, $\eta^2p = 0.063$). Post hoc analyses without Bonferroni correction show differences in both the **RN group ($p = 0.005$)** and the **RL group ($p = 0.029$)**.
- Time x Group Effect: There were no significant differences between the groups over time ($F = 1.510$, $p = 0.224$, $\eta^2p = 0.019$).



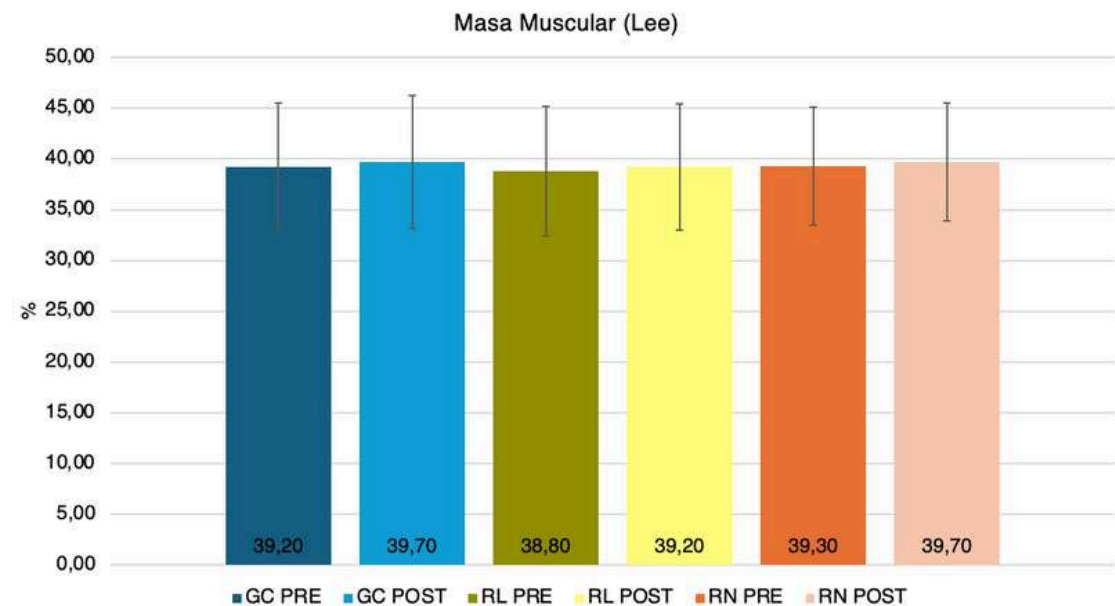


Masa Muscular (kg):

- Efecto Tiempo: No se observaron diferencias significativas en la masa muscular en kilogramos a lo largo del tiempo ($F = 164.533$, $p = 0.202$, $\eta^2p = 0.011$).
- Efecto Tiempo x Grupo: No hubo diferencias significativas entre los grupos a lo largo del tiempo ($F = 0.009$, $p = 0.991$, $\eta^2p = 0.000$).

Masa Muscular (%):

- Efecto Tiempo: Hubo un aumento significativo en el porcentaje de masa muscular a lo largo del tiempo ($F = 35.545$, $p < 0.001$, $\eta^2p = 0.190$) en los 3 grupos ($p < 0.005$).
- Efecto Tiempo x Grupo: No hubo diferencias significativas entre los grupos a lo largo del tiempo ($F = 0.271$, $p = 0.763$, $\eta^2p = 0.004$).



Cintura/Cadera:

- Efecto Tiempo: No se observaron diferencias significativas en la relación cintura/cadera a lo largo del tiempo ($F = 0.050$, $p = 0.823$, $\eta^2p = 0.000$).
- Efecto Tiempo x Grupo: No hubo diferencias significativas entre los grupos a lo largo del tiempo ($F = 21.153$, $p = 0.124$, $\eta^2p = 0.027$).

En resumen...

Hubo una disminución significativa en el peso corporal y el índice de masa corporal (IMC) a lo largo del tiempo, independientemente del grupo. Sin embargo, no se observaron diferencias significativas entre los grupos, lo que sugiere que la intervención en los grupos RN y RL no tuvo un impacto diferencial en estos parámetros comparado con el grupo control.

No se observaron cambios significativos en el porcentaje de agua corporal total a lo largo del tiempo ni entre los grupos. Esto sugiere que en todos los grupos se mantuvieron los niveles estables de hidratación.

La suma de 6 pliegues mostró una disminución significativa a lo largo del tiempo, concretamente en el grupo RN. Las circunferencias de cintura y cadera también mostraron cambios, pero sin diferencias significativas.

Los porcentajes de grasa corporal medidos mediante las fórmulas de Carter (%) y Faulkner (%) disminuyeron ligeramente a lo largo del tiempo. No se observaron diferencias significativas entre los grupos, sugiriendo que todos los participantes experimentaron una reducción en la grasa corporal independientemente del grupo al que pertenecían.



TENSIÓN ARTERIAL

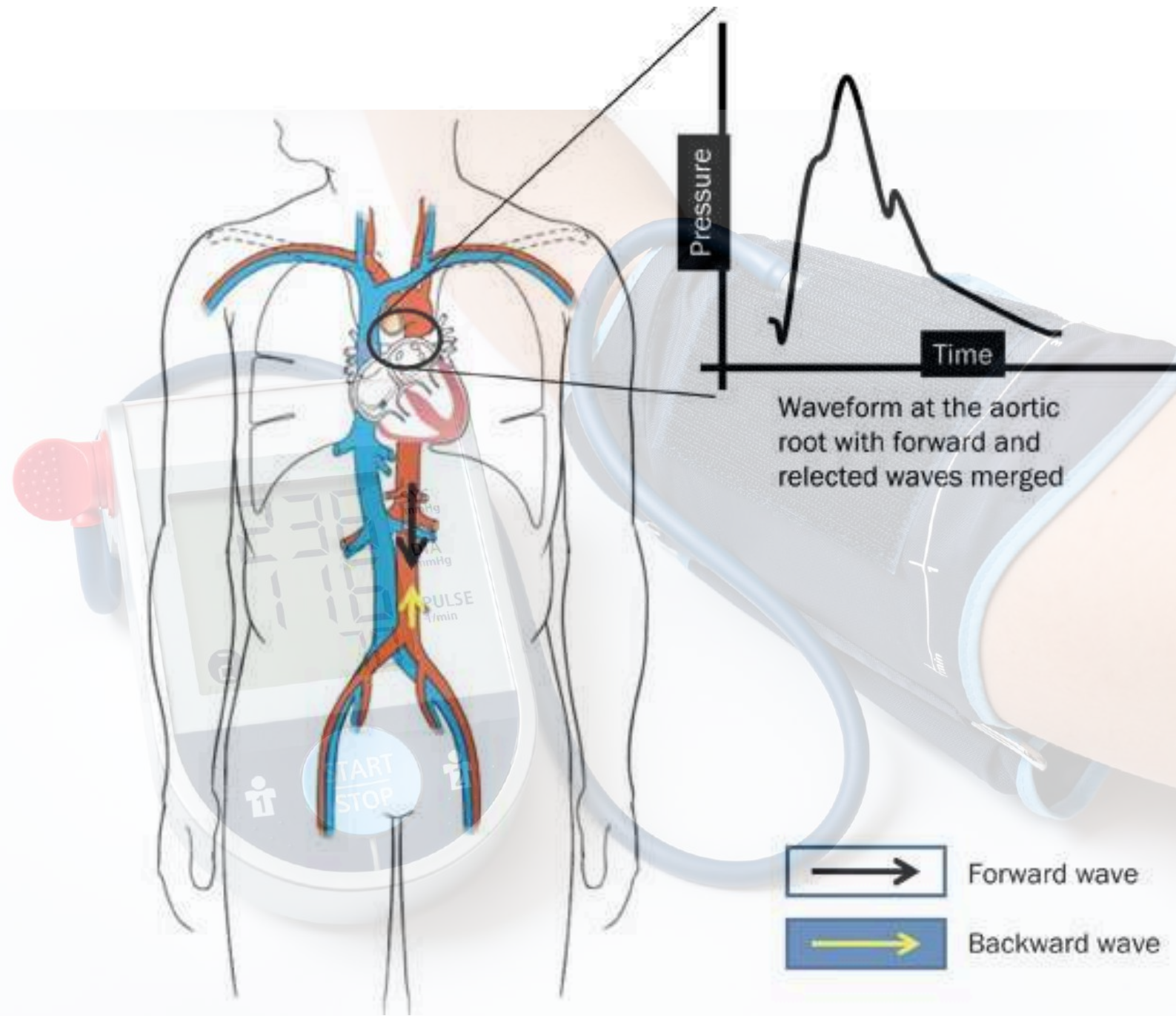
La **tensión arterial** es una medida de la presión que ejerce la sangre contra las paredes de las arterias mientras el corazón bombea sangre. Se compone de dos lecturas:

Presión Arterial Sistólica (PAS)

La presión en las arterias cuando el corazón late y bombea sangre.

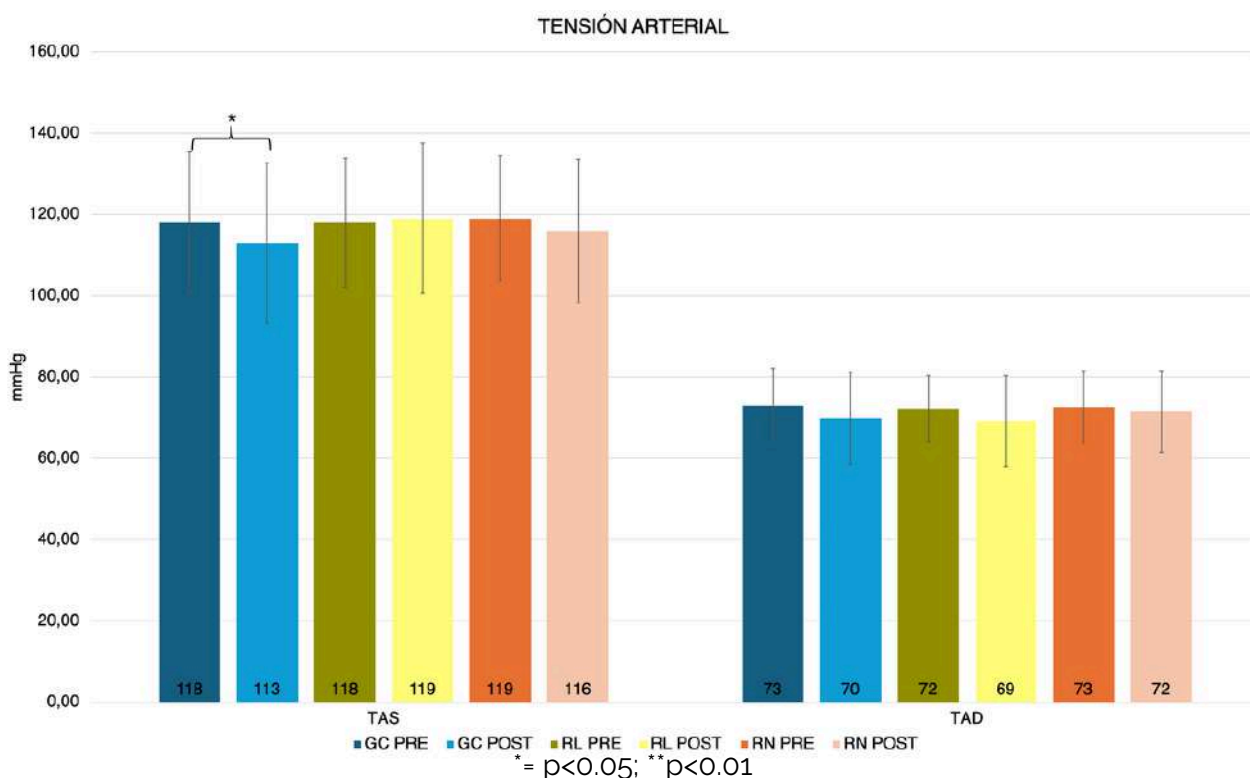
Presión Arterial Diastólica (PAD)

La presión en las arterias cuando el corazón está en reposo entre latidos.



La **tensión arterial** se mide en milímetros de mercurio (mmHg), es un indicador crítico de la salud cardiovascular, y valores elevados pueden ser un signo de hipertensión, que es un factor de riesgo importante para enfermedades cardiovasculares.

Los análisis post hoc indicaron una disminución significativa en el grupo de control (GC) entre las mediciones PRE y POST para la presión arterial sistólica (TAS), con un valor $p = 0.009$.



Los resultados indican que la **intervención** en los grupos **REFIX (Limón y Naranja)** no tuvo un impacto significativo sobre la presión arterial sistólica y diastólica a lo largo del tiempo, sólo se observan ligeras disminuciones. Es importante destacar que el grupo de control (GC) mostró una disminución significativa en la presión arterial sistólica entre las mediciones PRE y POST. Este grupo, al no consumir REFIX, tuvo una ingesta de sodio menor, lo cual podría haber influido en la reducción de la presión arterial sistólica.

No obstante, destacar que **todos los participantes en el estudio mantuvieron niveles adecuados de tensión arterial tanto antes como después de la intervención**. Los resultados indican que, aunque hubo una disminución significativa en la presión arterial sistólica en el grupo de control, esta reducción no fue clínicamente relevante ya que los valores se mantuvieron dentro de los rangos normales.

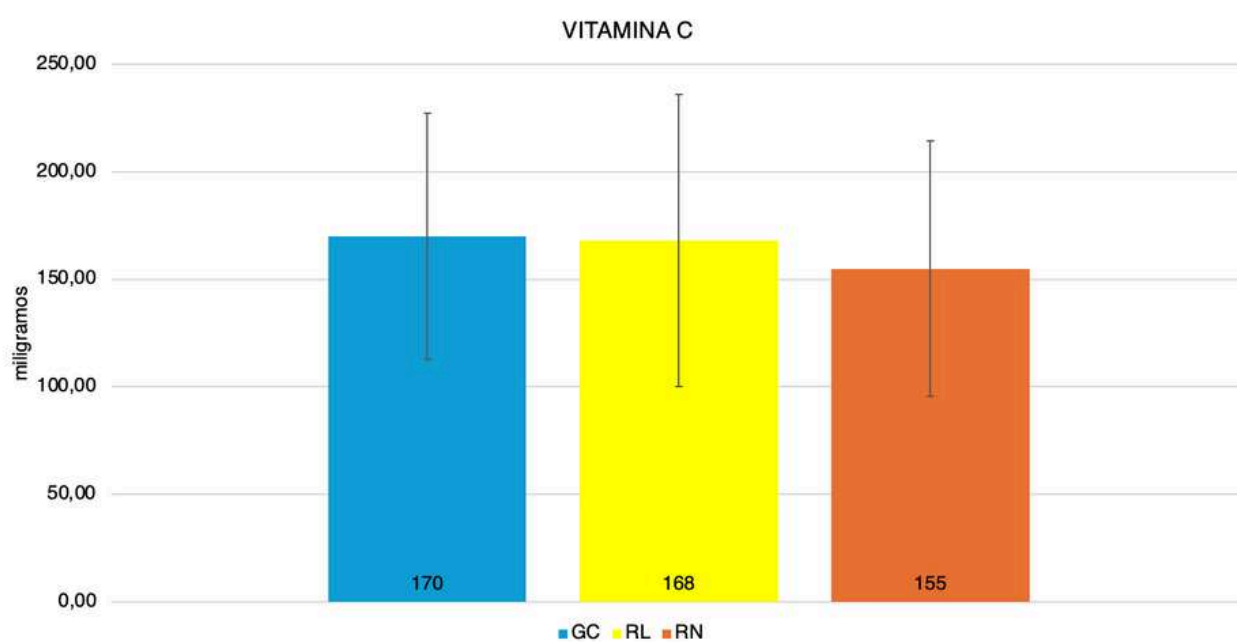
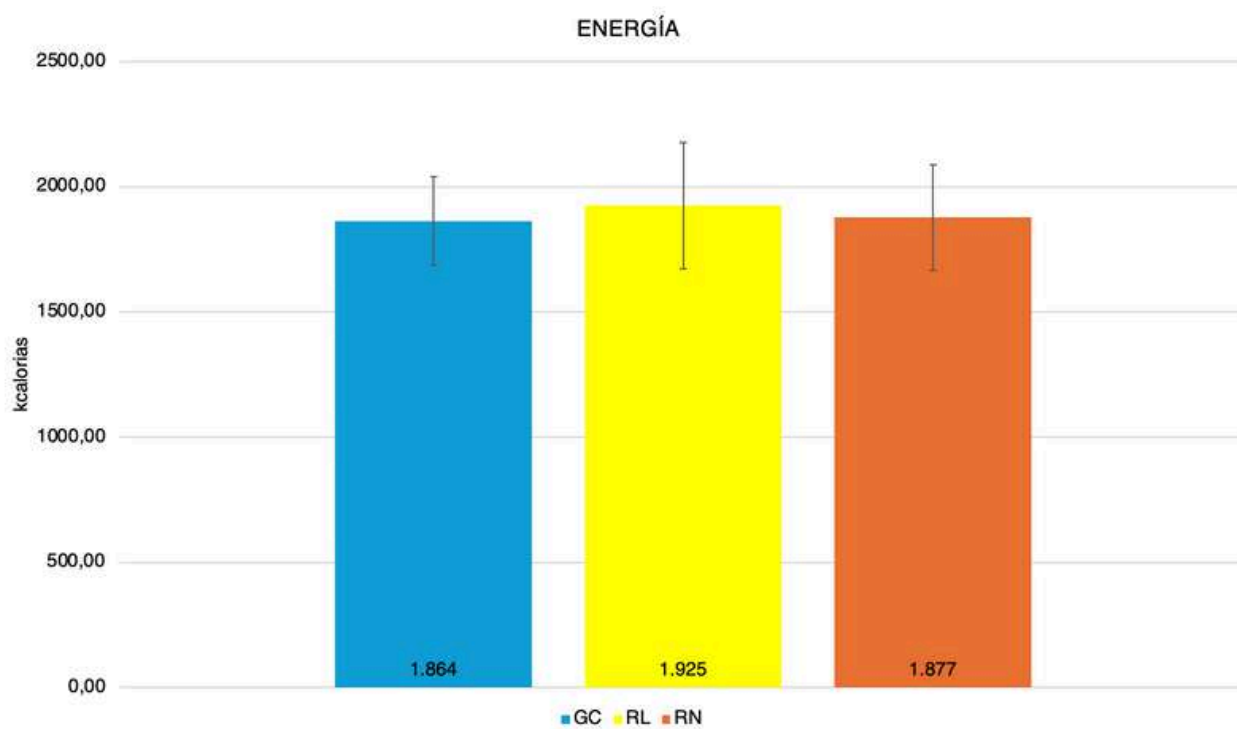
Estos resultados son consistentes con la literatura previa, que sugiere que las **bebidas electrolíticas pueden tener efectos beneficiosos en la reducción de la presión arterial sistólica y diastólica**. Estos efectos positivos sobre la presión arterial pueden contribuir a mejorar la salud cardiovascular y el bienestar general de los individuos que consumen bebidas electrolíticas como REFIX. Sin embargo, la disminución significativa observada en el grupo de control destaca la necesidad de considerar otros factores potenciales que podrían influir en la presión arterial.



DIETA

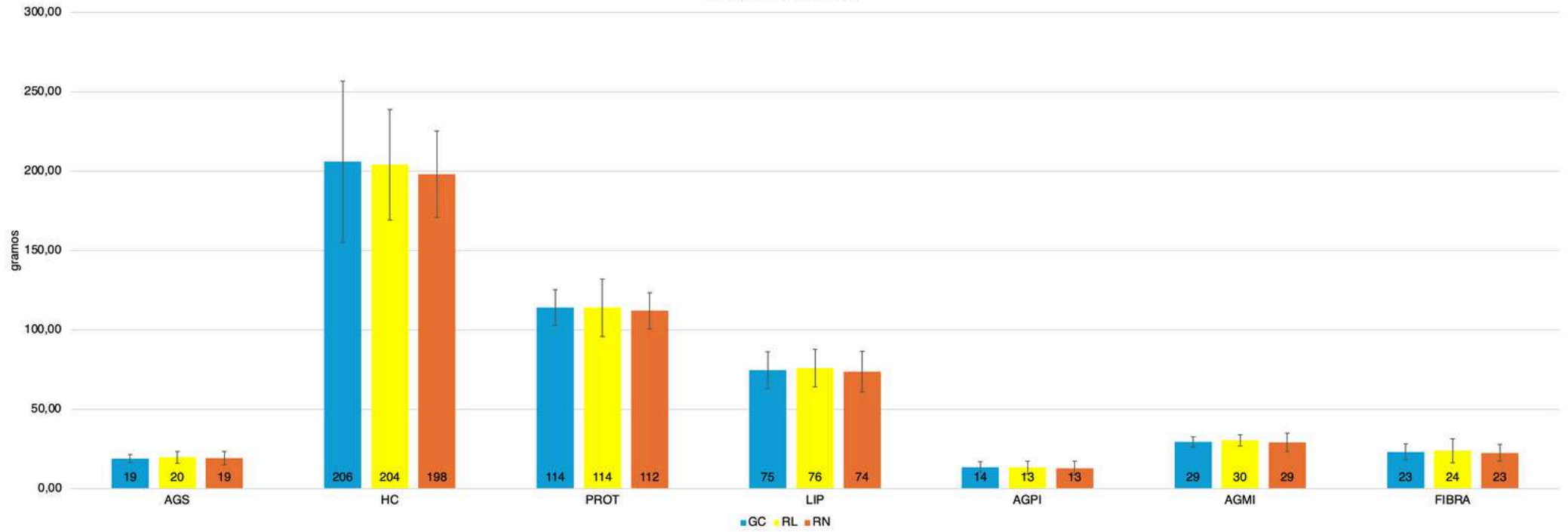
Para evaluar si hubo diferencias significativas en los **hábitos alimentarios** de los participantes a lo largo del estudio, se realizó un análisis de varianza (ANOVA). Se compararon las medias de la ingesta alimentaria de una semana al inicio del estudio y una semana al final del estudio, promediadas para cada participante. Este análisis permite determinar si la intervención en los grupos REXIX (Limón y Naranja) tuvo algún efecto en la alimentación comparado con el grupo control.



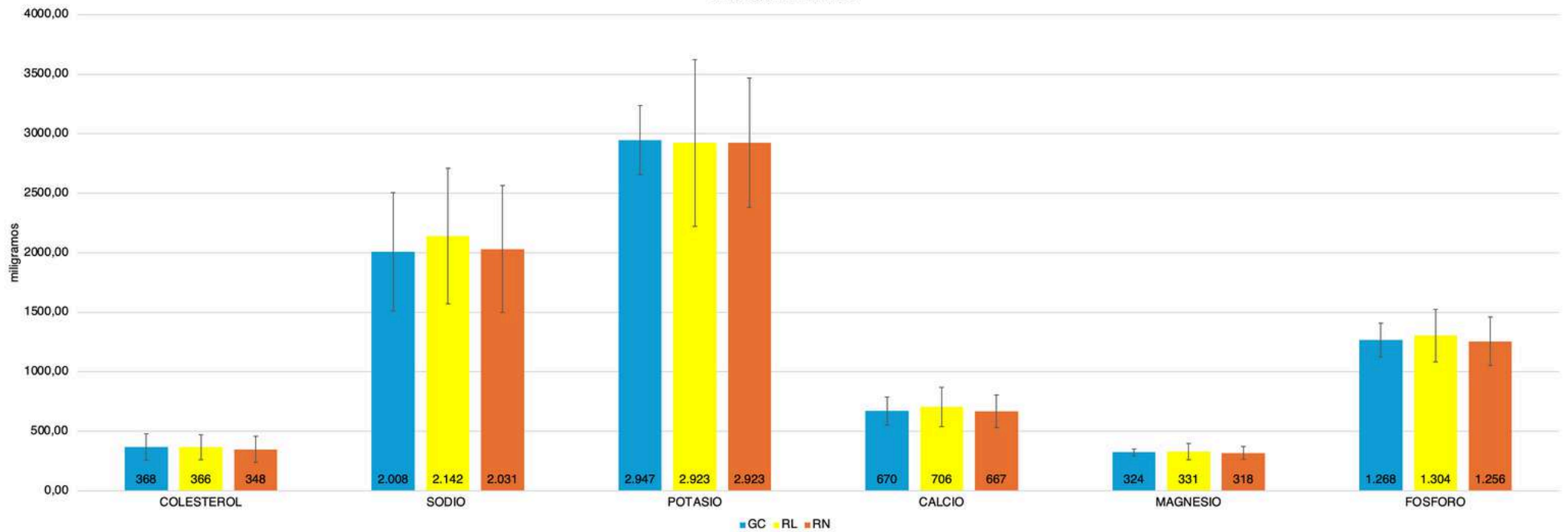


El análisis de varianza no mostró diferencias significativas en los hábitos alimentarios entre los grupos en ninguna de las dos semanas analizadas (inicio y final del estudio). La consistencia en los hábitos alimentarios a lo largo del tiempo refuerza la validez de los resultados observados en otras variables del estudio.

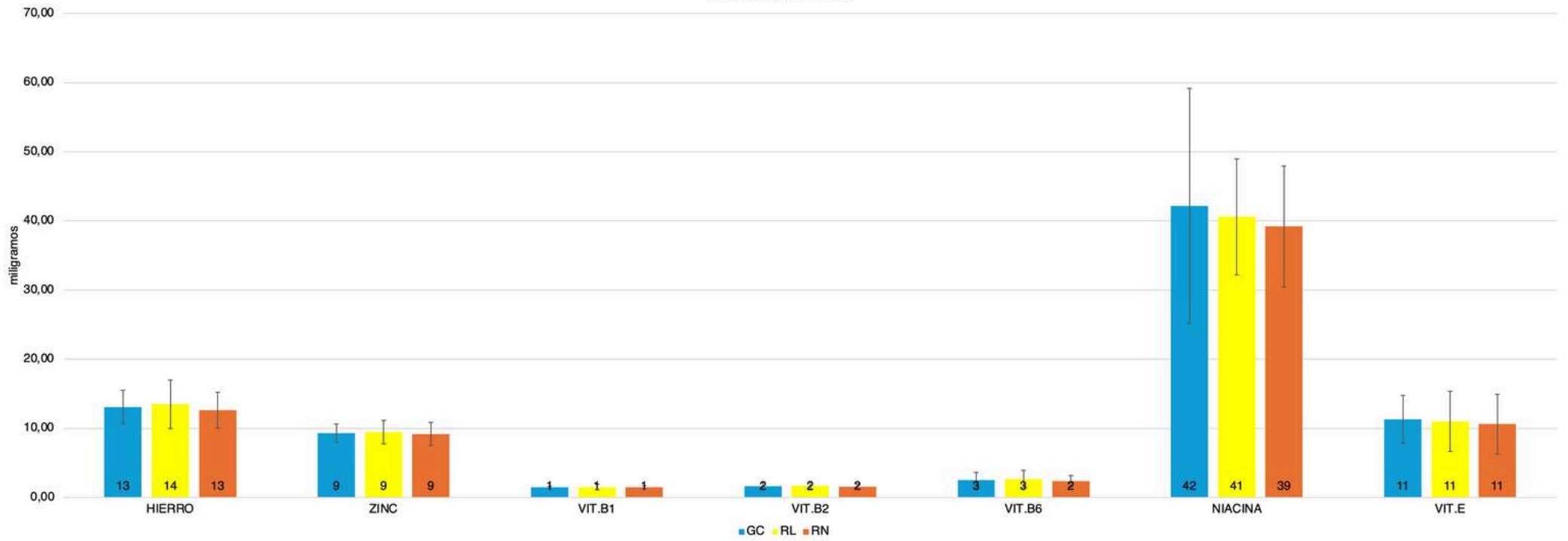
MACRONUTRIENTES



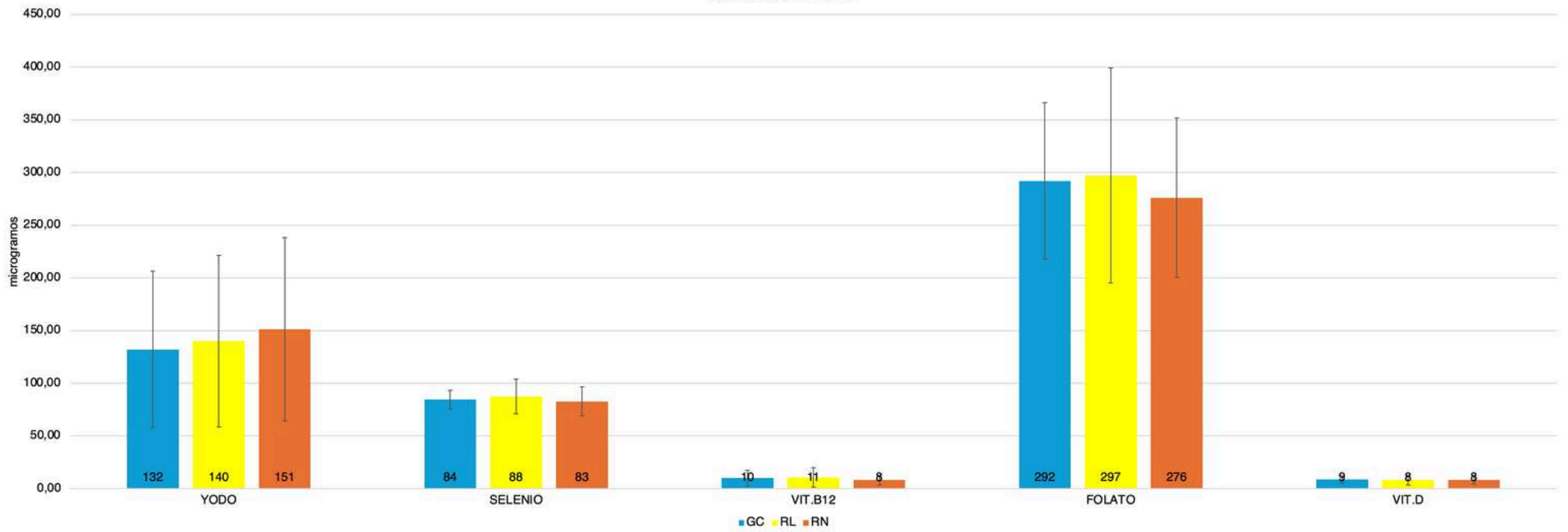
MICRONUTRIENTES



MICRONUTRIENTES



MICRONUTRIENTES



ACTIVIDAD FÍSICA (IPAQ)

El **Cuestionario Internacional de Actividad Física (IPAQ)** es una herramienta ampliamente utilizada para medir los niveles de actividad física en poblaciones adultas. El cuestionario existe en dos versiones: una larga y otra corta. La versión corta, que es la más comúnmente utilizada, se compone de 7 ítems que recogen información sobre la **frecuencia, duración e intensidad** de diferentes tipos de actividad física durante los últimos 7 días. Estas actividades se categorizan en:

1.Actividad Física Vigorosa: Actividades que requieren un gran esfuerzo físico y aumentan considerablemente el ritmo cardíaco (por ejemplo, correr, deportes competitivos).

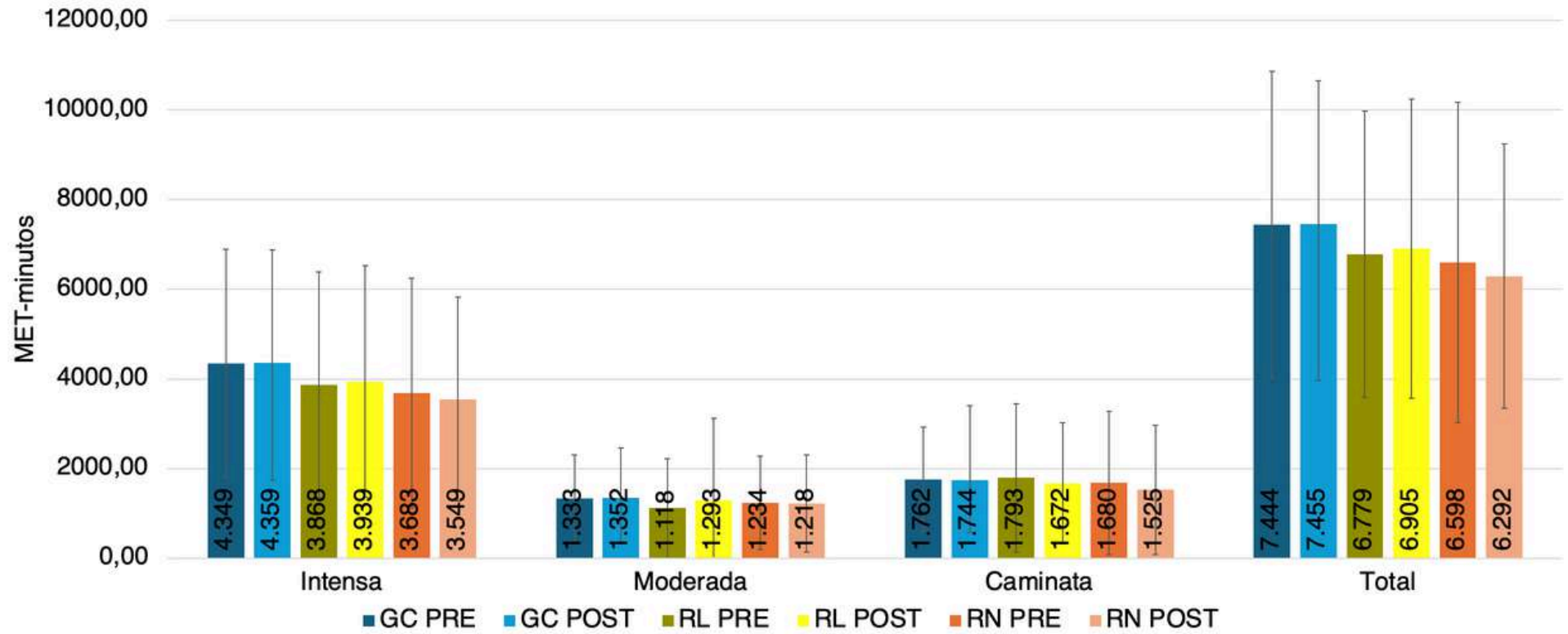
2.Actividad Física Moderada: Actividades que requieren un esfuerzo físico moderado y aumentan el ritmo cardíaco (por ejemplo, caminar a paso ligero, trabajos domésticos).

3.Caminar: Cualquier tipo de caminata a lo largo del día.

La puntuación del IPAQ se expresa en MET-minutos por semana (Metabolic Equivalent of Task), donde 1 MET es el gasto energético de una persona en reposo.



IPAQ



ACTIVIDAD FÍSICA INTENSA	<ul style="list-style-type: none"> • GC: Incremento leve en la puntuación de actividad intensa de 4349 a 4359 MET-minutos por semana. • RL: Aumento en la puntuación de actividad intensa de 3868 a 3939 MET-minutos por semana. • RN: Reducción en la puntuación de actividad intensa de 3683 a 3549 MET-minutos por semana.
ACTIVIDAD FÍSICA MODERADA	<ul style="list-style-type: none"> • GC: Aumento leve en la puntuación de actividad moderada de 1333 a 1352 MET-minutos por semana. • RL: Incremento en la puntuación de actividad moderada de 1118 a 1834 MET-minutos por semana. • RN: Reducción en la puntuación de actividad moderada de 1234 a 1218 MET-minutos por semana.
CAMINATA	<ul style="list-style-type: none"> • GC: Reducción leve en la puntuación de caminata de 1762 a 1744 MET-minutos por semana. • RL: Disminución en la puntuación de caminata de 1793 a 1672 MET-minutos por semana. • RN: Reducción en la puntuación de caminata de 1680 a 1525 MET-minutos por semana.
PUNTUACIÓN TOTAL	<ul style="list-style-type: none"> • GC: Incremento leve en la puntuación total de 7444 a 7455 MET-minutos por semana. • RL: Aumento en la puntuación total de 6779 a 6905 MET-minutos por semana. • RN: Disminución en la puntuación total de 6598 a 6292 MET-minutos por semana.

Los datos sugieren que la intervención no tuvo un impacto significativo en los niveles de actividad física de los participantes. **Tanto antes como después de la intervención, los participantes mantuvieron niveles similares de actividad física.** Los resultados indican que factores externos o características personales de los participantes pudieron haber sido más determinantes en la estabilidad de sus niveles de actividad física, más que la intervención en sí.

CALIDAD DEL SUEÑO

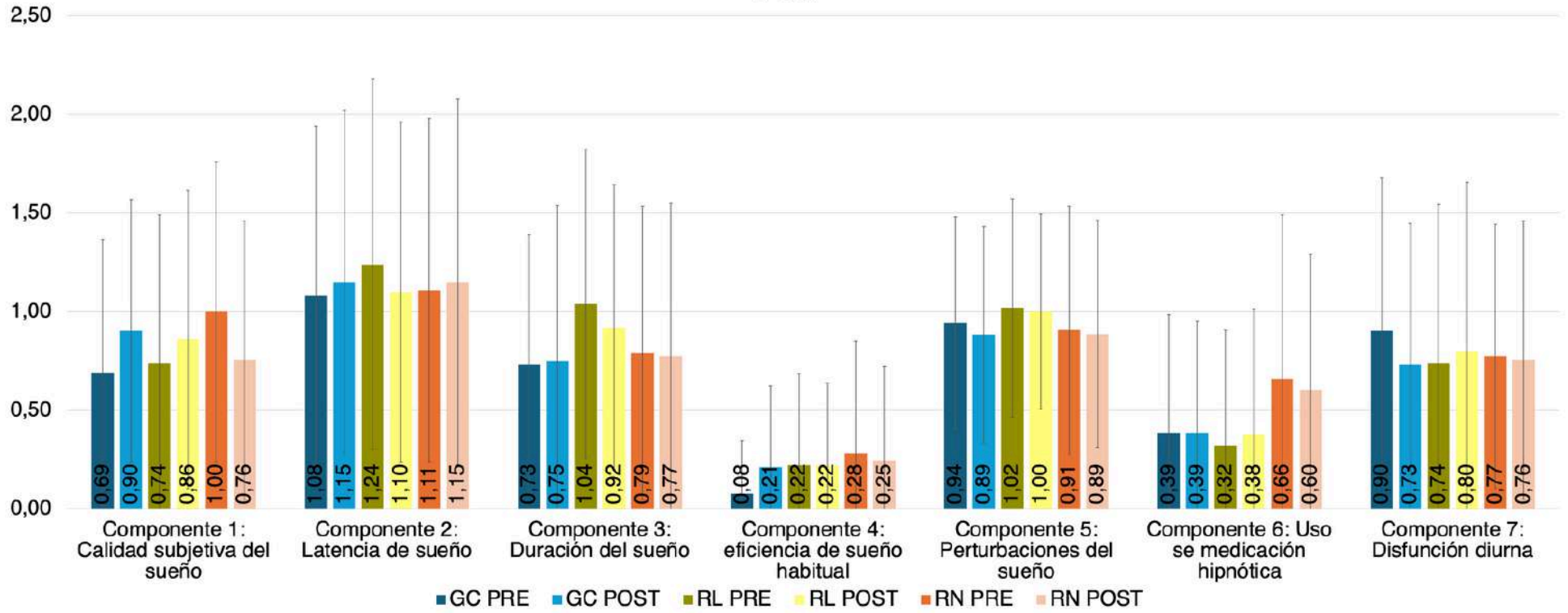
El **Índice de Calidad del Sueño de Pittsburgh (PSQI)** es un cuestionario autoadministrado que evalúa la **calidad del sueño y los patrones de sueño durante el último mes**. El PSQI se compone de 19 ítems que generan siete componentes, cada uno de los cuales evalúa un aspecto diferente del sueño:

- 1. Calidad subjetiva del sueño**
- 2. Latencia del sueño** (tiempo que tarda en quedarse dormido)
- 3. Duración del sueño**
- 4. Eficiencia habitual del sueño** (proporción de tiempo en la cama dormido)
- 5. Trastornos del sueño**
- 6. Uso de medicación para dormir**
- 7. Disfunción diurna** (dificultades para mantenerse despierto y con energía durante el día)

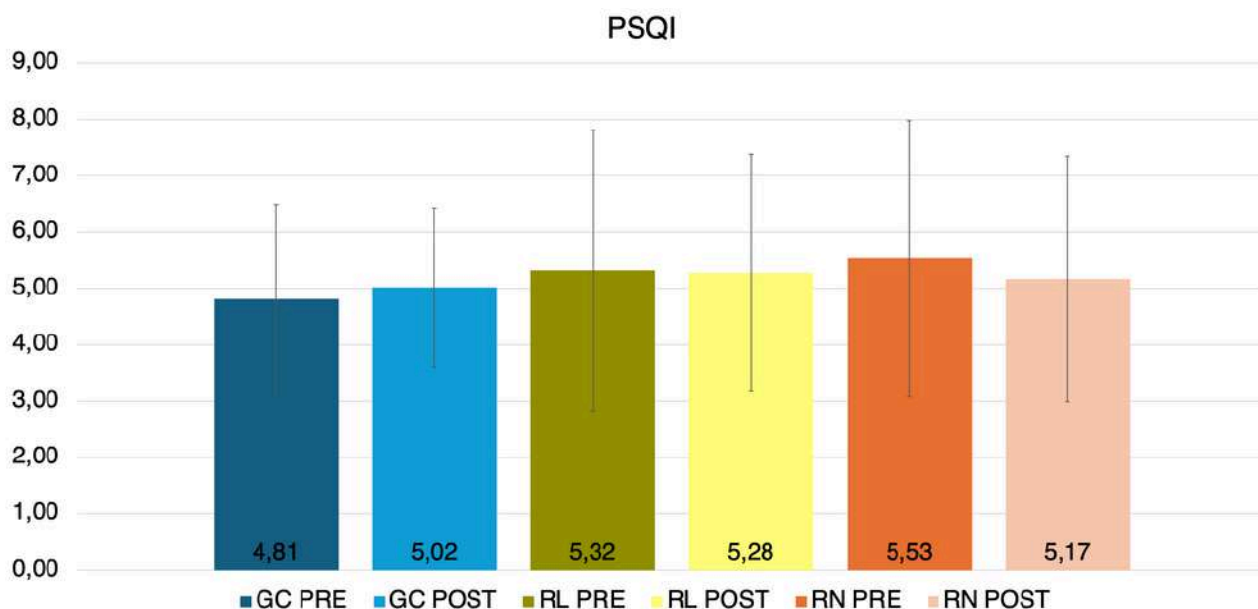
Cada componente se califica en una escala de 0 a 3, donde una puntuación más alta indica una peor calidad del sueño. La suma de los siete componentes proporciona una puntuación global que puede oscilar entre 0 y 21, con puntuaciones más altas que indican una peor calidad del sueño.



PSQI



Los análisis ANOVA y post hoc **no encontraron diferencias significativas para ninguna de las escalas individuales ni para la puntuación global del PSQI**. Esto indica que, aunque **hubo variaciones en las puntuaciones** entre los grupos y en los diferentes momentos (PRE y POST), estas diferencias no fueron estadísticamente significativas.



Los resultados sugieren que el consumo de REFIX (Limón y Naranja) no tuvo un impacto significativo en la calidad del sueño de los participantes comparado con el grupo de control (Agua). Esto se refleja en las puntuaciones de los diferentes componentes del PSQI y en la puntuación global, donde **no se observaron diferencias significativas entre los grupos**.

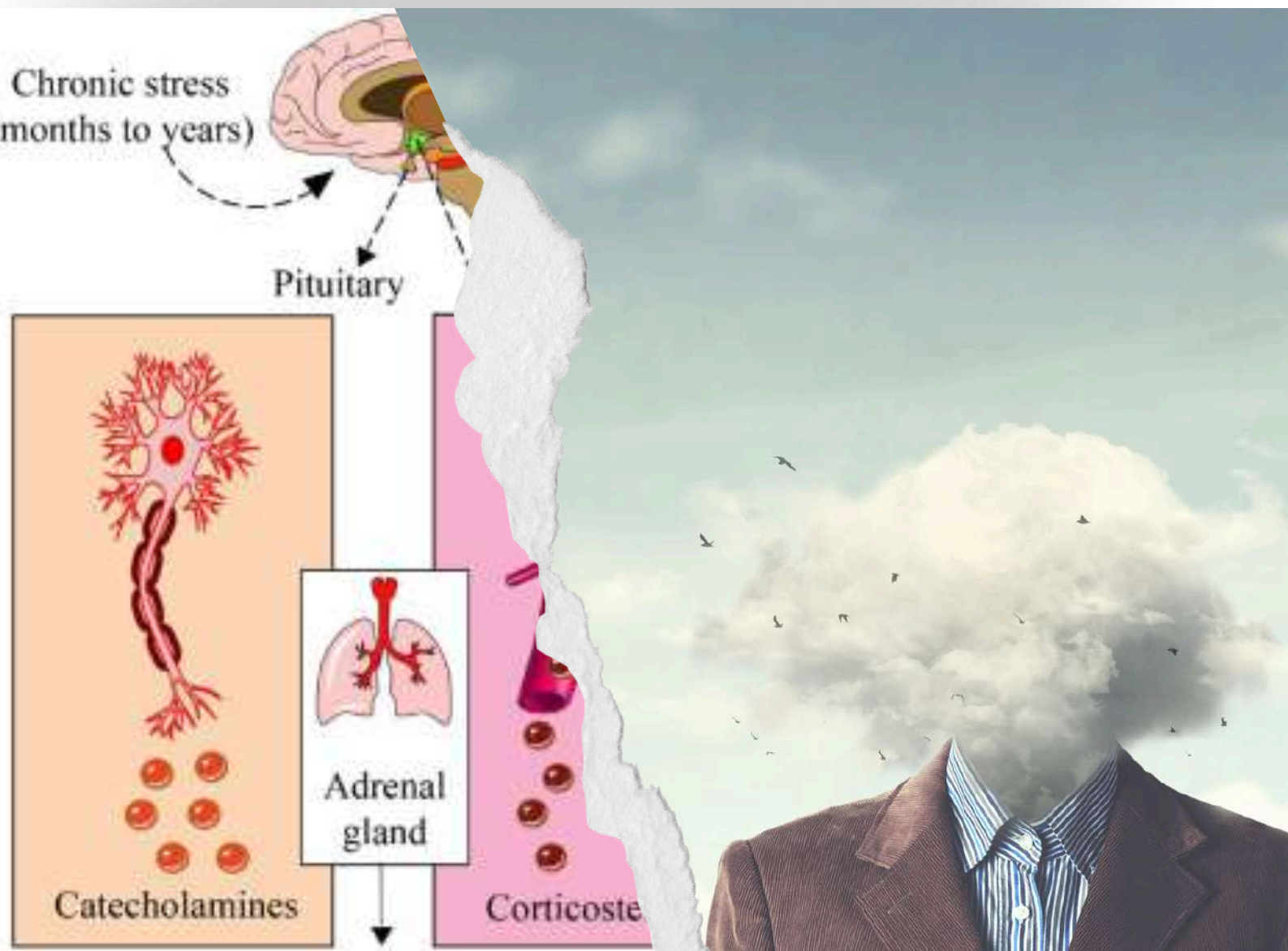
La literatura previa sugiere que las bebidas con electrolitos pueden tener un impacto positivo limitado en ciertos aspectos de la calidad del sueño, como la latencia y la eficiencia del sueño. Sin embargo, estos efectos no siempre son significativos y pueden no afectar todas las dimensiones del sueño evaluadas por el PSQI.

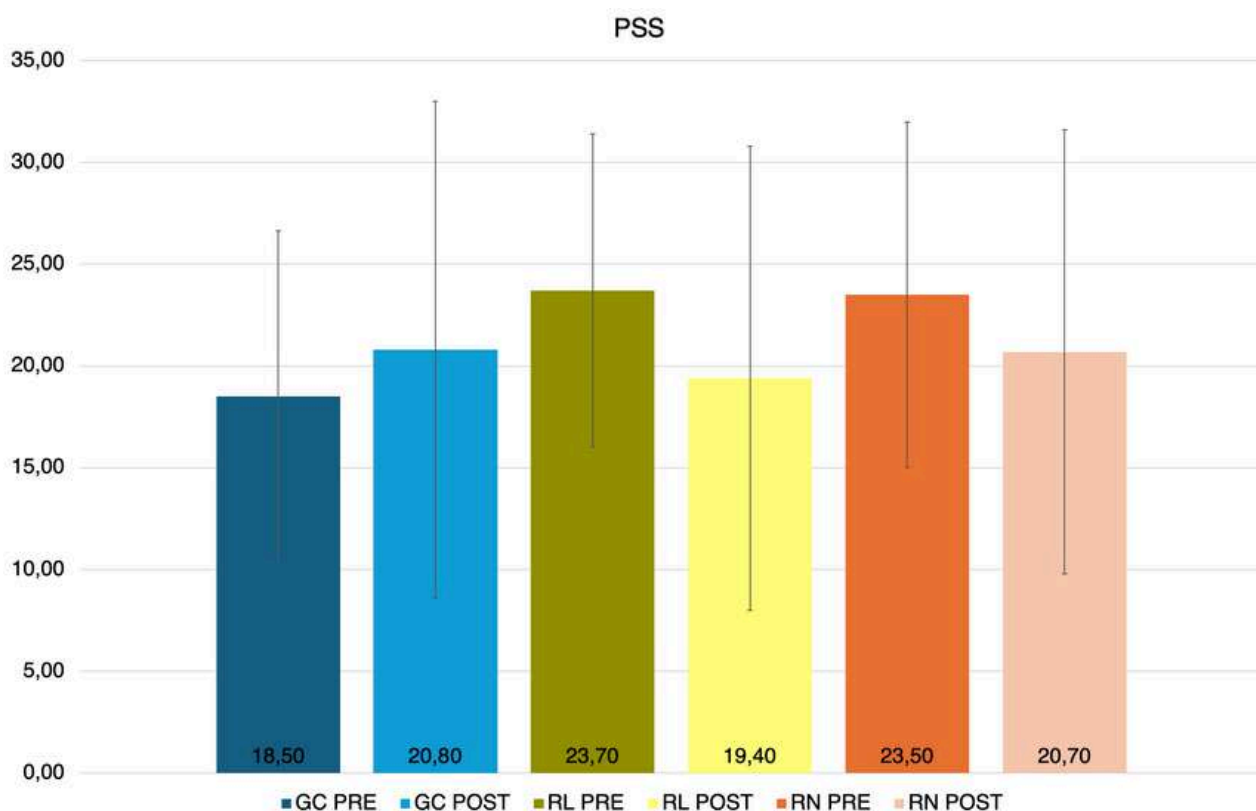


ESTRÉS PERCIBIDO

La **Escala de Estrés Percibido (PSS-14)** es una herramienta psicológica utilizada para medir el grado en que las situaciones de la vida se perciben como estresantes. La PSS-14 consta de 14 ítems que preguntan sobre los pensamientos y sentimientos de los individuos durante el último mes. Cada ítem se califica en una escala Likert de 0 (nunca) a 4 (muy a menudo), y las puntuaciones más altas indican mayores niveles de estrés percibido.

- GC: No se observaron diferencias significativas entre las mediciones PRE y POST en el grupo de control (Agua). No obstante, hay un **ligero aumento.**
- RL: Hubo una **reducción** en los niveles de estrés percibido, pero esta reducción no fue estadísticamente significativa.
- RN: Similar a RL, hubo una **reducción** en los niveles de estrés percibido, pero no fue estadísticamente significativa.





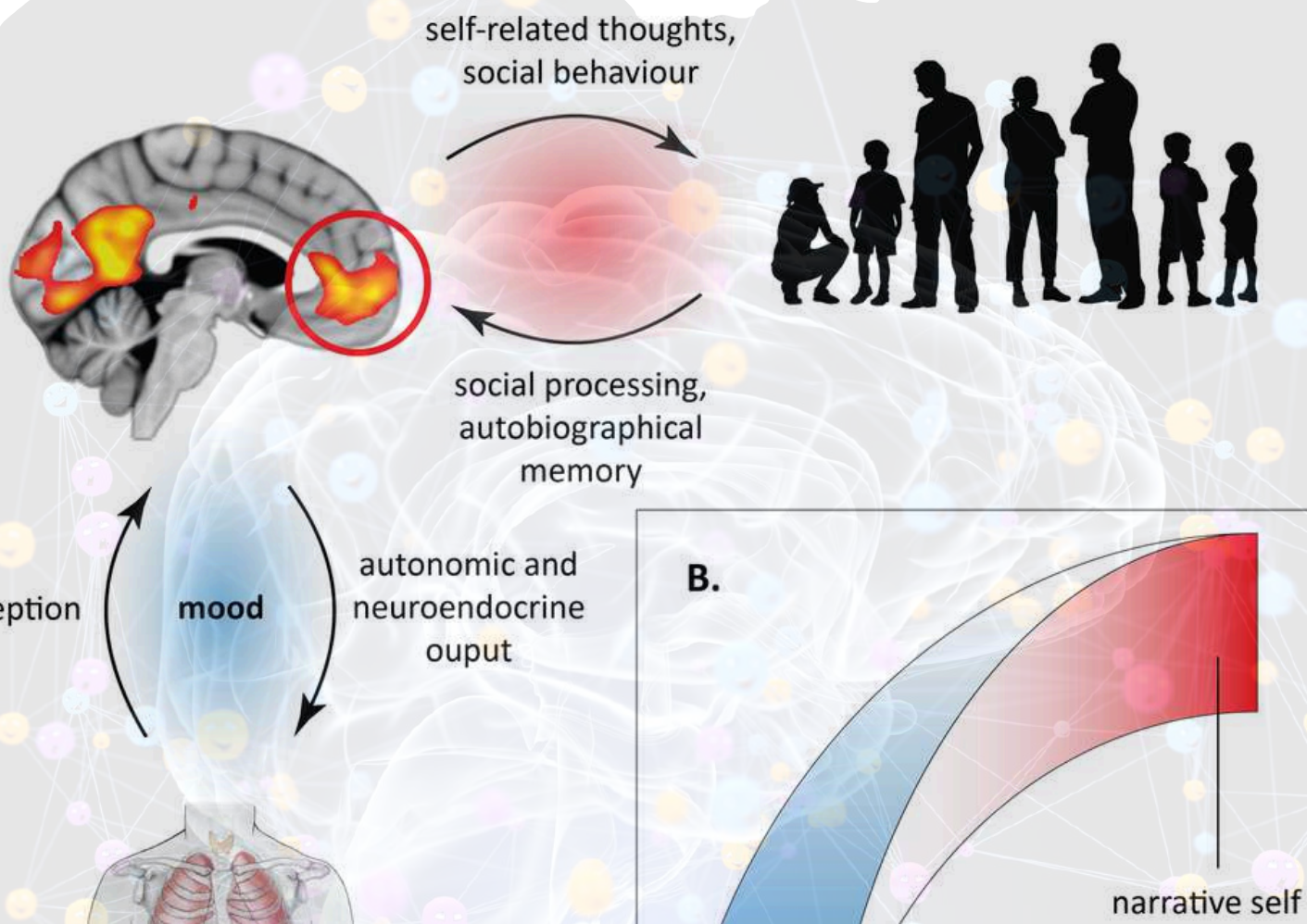
Los análisis post hoc indican que, aunque **hubo reducciones en los niveles de estrés percibido en los grupos REFIX (Limón y Naranja)**, estas reducciones **no fueron estadísticamente significativas en comparación con el grupo de control (Agua)**. Las diferencias significativas observadas en las comparaciones iniciales no se mantuvieron en los análisis post hoc, lo que sugiere que la intervención en los grupos REFIX no tuvo un impacto significativo en los niveles de estrés percibido.

ESTADO DE ÁNIMO

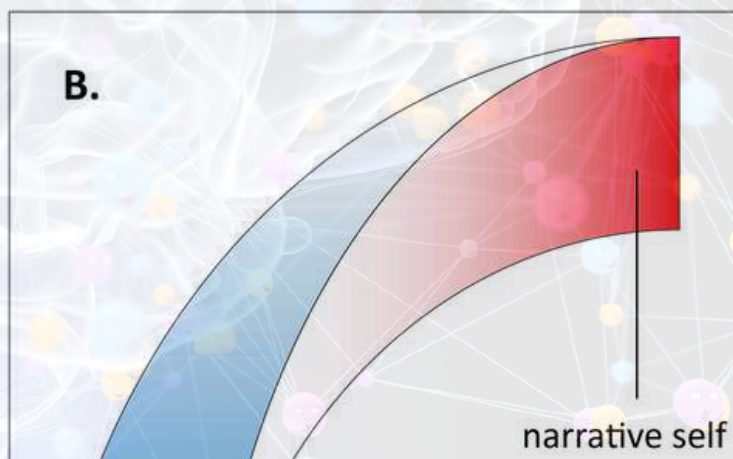
La **Escala del Perfil del Estado de Ánimo (POMS)** es un cuestionario psicológico utilizado para evaluar los estados de ánimo transitorios en una persona. Desarrollada originalmente por McNair, Lorr y Droppleman en 1971, la versión revisada por Katja Petrowski en 2021, sigue siendo ampliamente utilizada en investigación y en entornos clínicos. La POMS consta de 65 ítems que evalúan seis dimensiones principales del estado de ánimo:

- 1.Tensión-Ansiedad:** Evaluación de sentimientos de tensión, nerviosismo y ansiedad.
- 2.Depresión-Desánimo:** Evaluación de sentimientos de tristeza, depresión y desánimo.
- 3.Ira-Hostilidad:** Evaluación de sentimientos de enojo y hostilidad.
- 4.Vigor-Actividad:** Evaluación de sentimientos de energía y actividad.
- 5.Fatiga-Inercia:** Evaluación de sentimientos de fatiga y falta de energía.
- 6.Confusión-Desorientación:** Evaluación de sentimientos de confusión y aturdimiento.

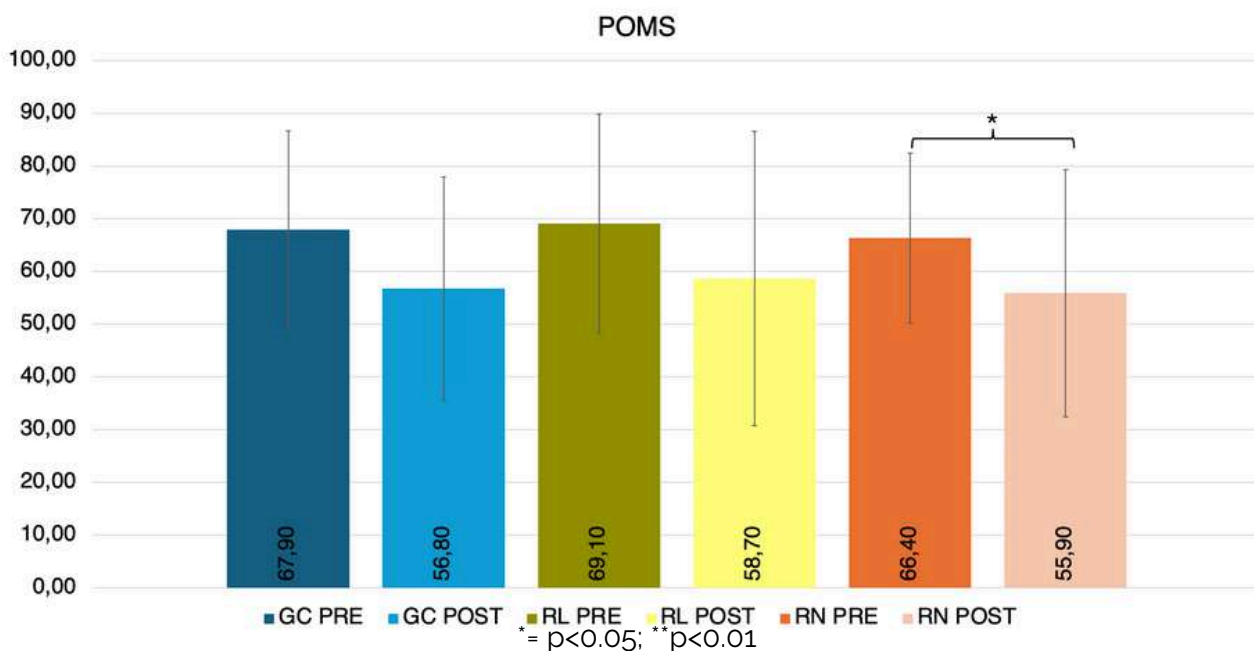
A.



B.

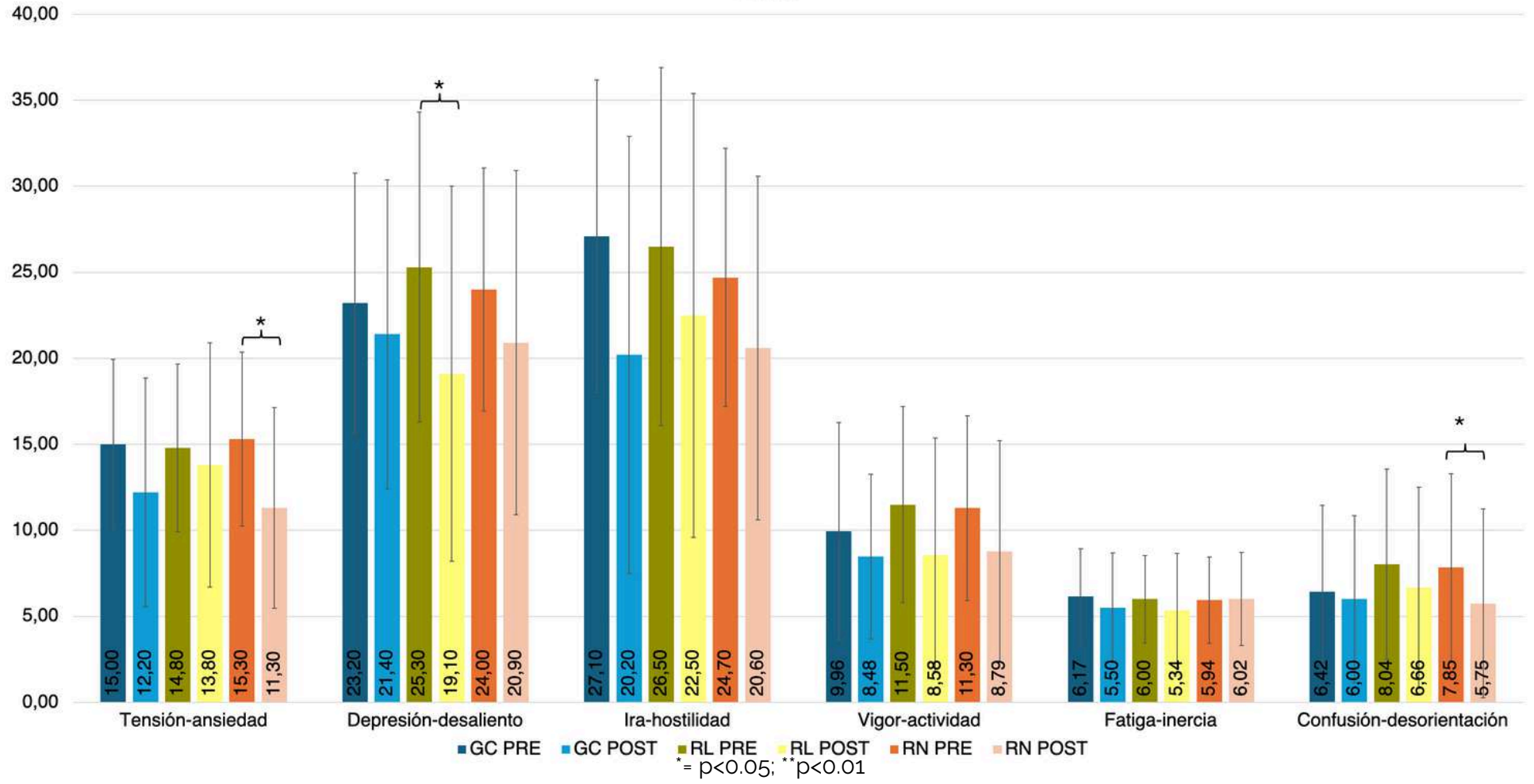


Cada ítem se califica en una escala Likert de 5 puntos, donde una puntuación más alta indica una mayor presencia de ese estado de ánimo específico. La puntuación total de POMS se utiliza para obtener un perfil general del estado de ánimo de una persona.



TENSIÓN-ANSIEDAD	<ul style="list-style-type: none"> GC: Reducción de la puntuación de 15.00 a 12.20 RL: Leve aumento de la puntuación de 14.80 a 13.80 RN: Reducción de la puntuación de 15.30 a 11.30 (p=0.007)
DEPRESIÓN-DESALIENTO	<ul style="list-style-type: none"> GC: Reducción de la puntuación de 23.20 a 21.40 RL: Reducción de la puntuación de 25.30 a 19.10 (p=0.003) RN: Reducción de la puntuación de 24.00 a 20.90
IRA-HOSTILIDAD	<ul style="list-style-type: none"> GC: Reducción de la puntuación de 27.10 a 20.20 RL: Reducción de la puntuación de 26.50 a 22.50 RN: Reducción de la puntuación de 24.70 a 20.60
FATIGA-INERCIA	<ul style="list-style-type: none"> GC: Reducción de la puntuación de 6.17 a 5.50 RL: Leve aumento de la puntuación de 6.00 a 5.34 RN: Reducción de la puntuación de 5.94 a 6.02

POMS



VIGOR-ACTIVIDAD	<ul style="list-style-type: none"> • GC: Reducción de la puntuación de 9.96 a 8.48 • RL: Reducción de la puntuación de 11.50 a 8.58 • RN: Reducción de la puntuación de 11.30 a 8.79
CONFUSIÓN-DESORIENTACIÓN	<ul style="list-style-type: none"> • GC: Reducción de la puntuación de 6.42 a 6.00 • RL: Leve aumento de la puntuación de 8.04 a 6.66 • RN: Reducción de la puntuación de 7.85 a 5.75
PUNTUACIÓN TOTAL	<ul style="list-style-type: none"> • GC: Reducción de la puntuación de 67.90 a 56.80 • RL: Reducción de la puntuación de 69.10 a 58.70 • RN: Reducción de la puntuación de 66.40 a 55.90 (p=0.048)

Los resultados del POMS indican que hubo una **reducción significativa en varias dimensiones** del estado de ánimo (tensión-ansiedad, depresión-desaliento, ira-hostilidad, vigor-actividad, confusión-desorientación y la puntuación total) **a lo largo del tiempo**, pero **no hubo diferencias significativas entre los grupos** (REFIX Limón, REFIX Naranja y Agua). Esto sugiere que, aunque **los estados de ánimo mejoraron con el tiempo en los grupos REXIF**, la intervención no tuvo un impacto diferencial en comparación con el grupo de control.

Estos resultados son coherentes con la literatura previa, que sugiere que las bebidas con electrolitos pueden tener efectos beneficiosos en algunos aspectos del estado de ánimo, como la **reducción de la depresión y la tensión**, y el aumento del vigor. Los estudios previos indican que los electrolitos en la dieta pueden mejorar significativamente el estado de ánimo, y la adición de sodio a las bebidas de rehidratación puede resultar en un balance de sodio más positivo y una mejor retención de líquidos. Sin embargo, estos efectos pueden no ser siempre significativos. En general, la hidratación adecuada y la composición de los electrolitos juegan un papel importante en la mejora del bienestar general.



CALIDAD DE VIDA

El **WHOQOL-BREF** es una versión abreviada del WHOQOL-100, desarrollado por la Organización Mundial de la Salud para evaluar la calidad de vida. Este cuestionario consta de 26 ítems que cubren cuatro dominios principales:

1.Salud Física: Evalúa aspectos como la energía y fatiga, el dolor y malestar, el sueño y descanso, la movilidad, las actividades de la vida diaria, la dependencia de medicamentos o tratamientos, y la capacidad para trabajar.

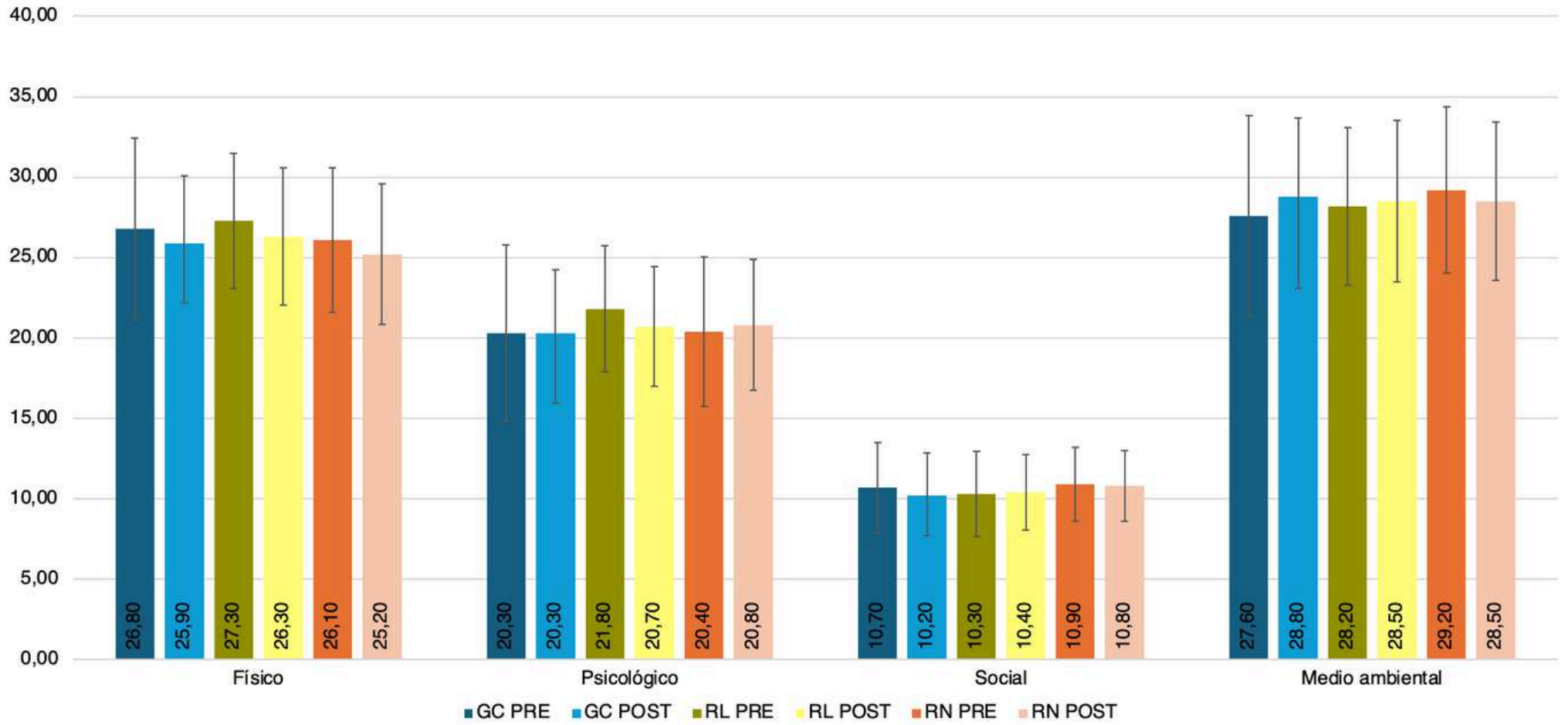
2.Salud Psicológica: Incluye ítems sobre el afecto positivo, el pensamiento, el aprendizaje, la memoria y la concentración, la autoestima, la imagen corporal y apariencia, los sentimientos negativos, y la espiritualidad.

3.Relaciones Sociales: Evalúa las relaciones personales, el apoyo social, y la actividad sexual.

4.Entorno: Analiza aspectos como la seguridad física y protección, el entorno del hogar, los recursos financieros, la disponibilidad y calidad de los servicios de salud y sociales, las oportunidades para adquirir nuevas habilidades e información, la participación en actividades recreativas y de ocio, y el entorno físico (contaminación, ruido, tráfico, clima).



WHOQOL-BREF



Cada ítem se califica en una escala Likert de 5 puntos, donde una puntuación más alta indica una mejor calidad de vida en ese dominio. Las puntuaciones se calculan para cada dominio y una puntuación global, proporcionando una visión integral de la calidad de vida del individuo.

DOMINIO FÍSICO	<ul style="list-style-type: none"> • GC: Reducción de la puntuación de 26.80 a 25.90 • RL: Leve aumento de la puntuación de 27.30 a 26.30 • RN: Reducción de la puntuación de 26.10 a 25.20
DOMINIO PSICOLÓGICO	<ul style="list-style-type: none"> • GC: Sin cambios significativos, puntuación estable en 20.30 • RL: Leve aumento de la puntuación de 21.80 a 20.70 • RN: Leve aumento de la puntuación de 20.40 a 20.80
DOMINIO SOCIAL	<ul style="list-style-type: none"> • GC: Reducción de la puntuación de 10.70 a 10.20 • RL: Leve aumento de la puntuación de 10.30 a 10.40 • RN: Leve aumento de la puntuación de 10.90 a 10.80
DOMINIO ENTORNO	<ul style="list-style-type: none"> • GC: Aumento de la puntuación de 27.60 a 28.80 • RL: Leve reducción de la puntuación de 28.20 a 28.50 • RN: Leve reducción de la puntuación de 29.20 a 28.50

Los resultados del WHOQOL-BREF indican que **no hubo cambios significativos en la calidad de vida de los participantes en ninguno de los dominios evaluados** (físico, psicológico, social y medio ambiental) tras la intervención en los grupos REFIX (Limón y Naranja) y en el grupo control (Agua). Las diferencias observadas en las puntuaciones no fueron estadísticamente significativas.

Los resultados son consistentes con la literatura previa en que las intervenciones simples como el consumo de bebidas electrolíticas pueden no tener un impacto significativo en la calidad de vida medido por el WHOQOL-BREF en ausencia de otros factores modificadores. La literatura sugiere que las intervenciones combinadas, como el ejercicio físico y la mejora de otros aspectos del estilo de vida, son más efectivas para aumentar la calidad de vida en diferentes poblaciones. Por lo tanto, los resultados están alineados con la evidencia existente de que las bebidas electrolíticas por sí solas pueden no ser suficientes para producir cambios significativos en la calidad de vida medidos por el WHOQOL-BREF.

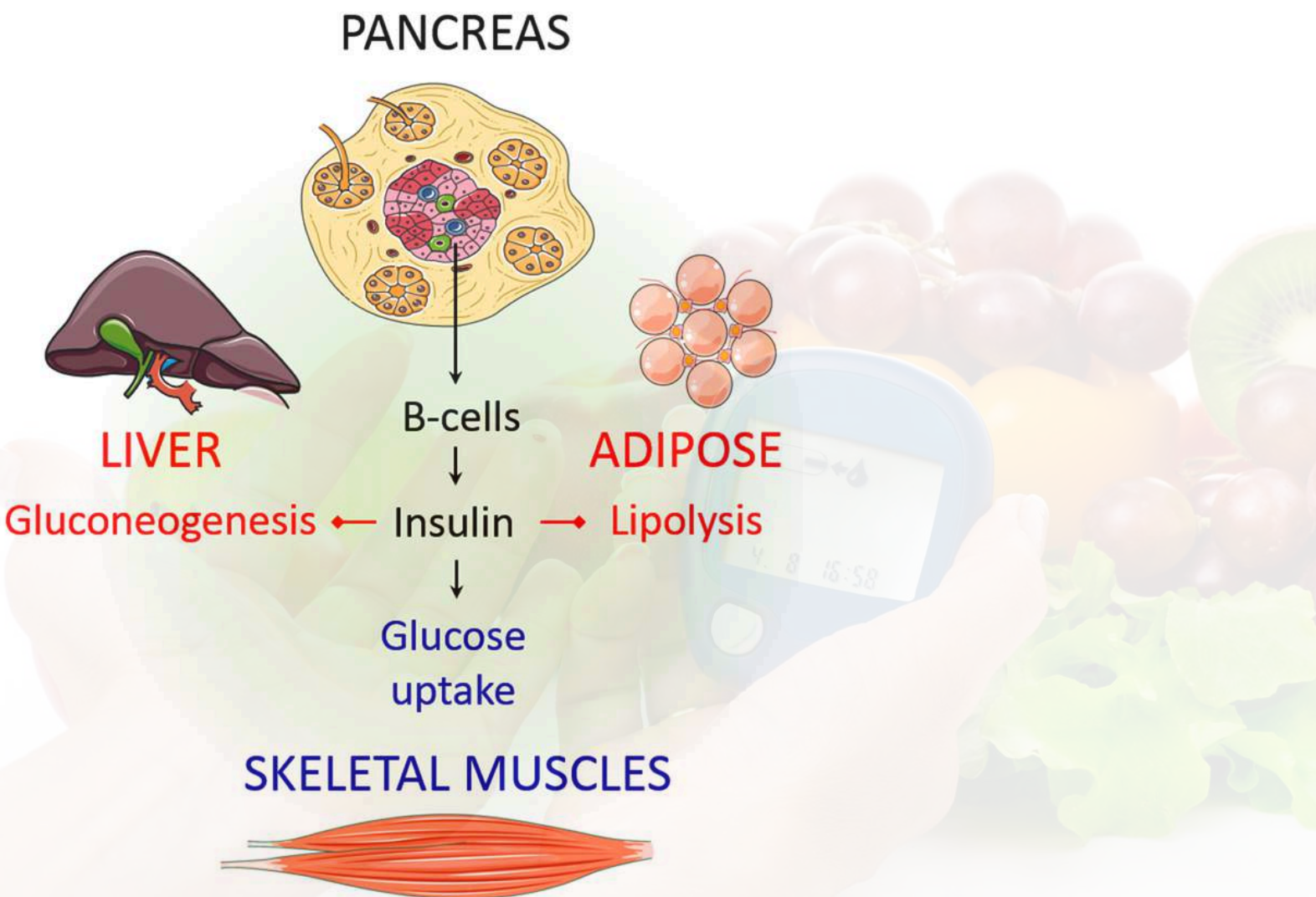


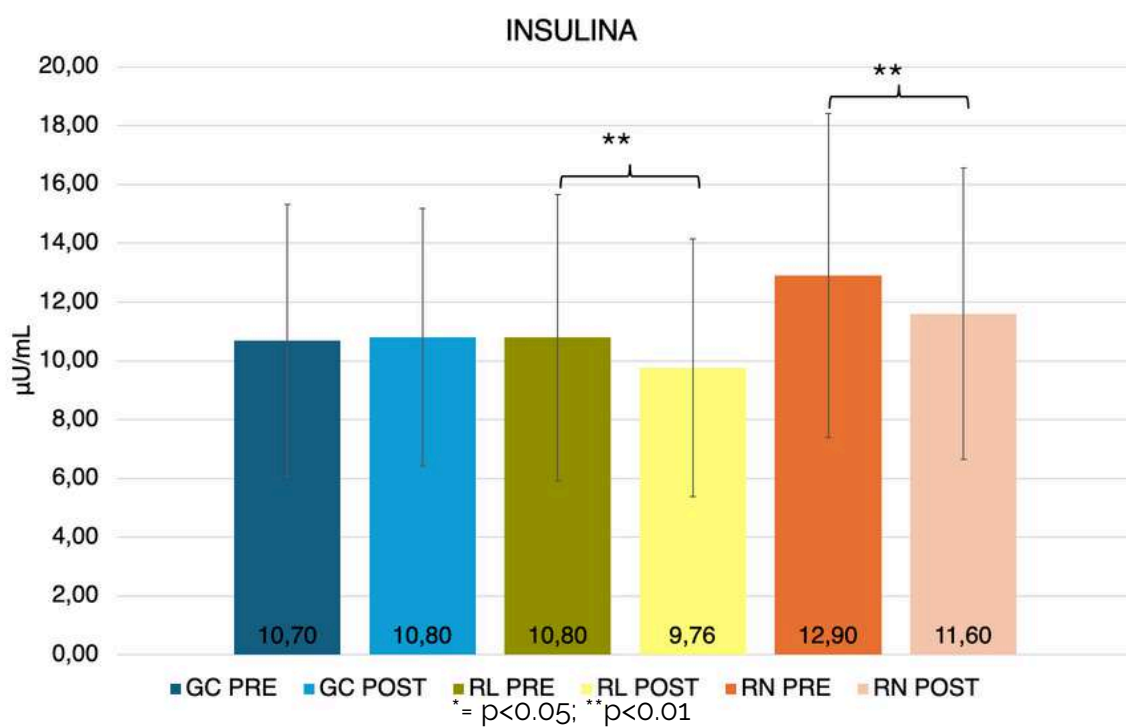
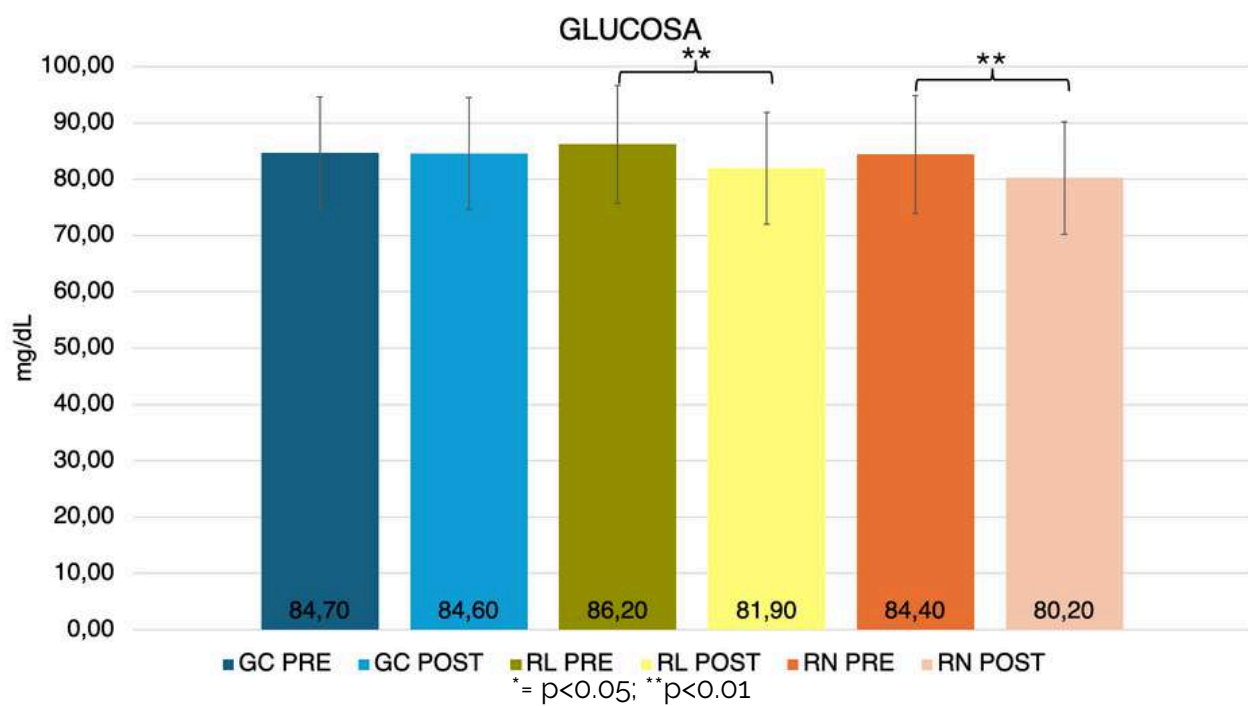
GLUCOSA E INSULINA

La **glucosa** es un azúcar simple que circula en la sangre y es la principal fuente de energía para las células del cuerpo. Los niveles normales de glucosa en ayunas están entre 70 y 99 mg/dL. Niveles elevados pueden indicar diabetes o prediabetes.

La **insulina** es una hormona producida por el páncreas que permite a las células del cuerpo utilizar la glucosa como energía. Los niveles normales de insulina en ayunas suelen estar entre 2 y 25 $\mu\text{U}/\text{mL}$. Niveles elevados pueden ser un indicio de resistencia a la insulina.

Los resultados indican que la intervención en los grupos REFIX (Limón y Naranja) tuvo un **efecto significativo en la reducción de los niveles de glucosa e insulina a lo largo del tiempo**. Estos cambios fueron estadísticamente significativos y variaron entre los diferentes grupos.



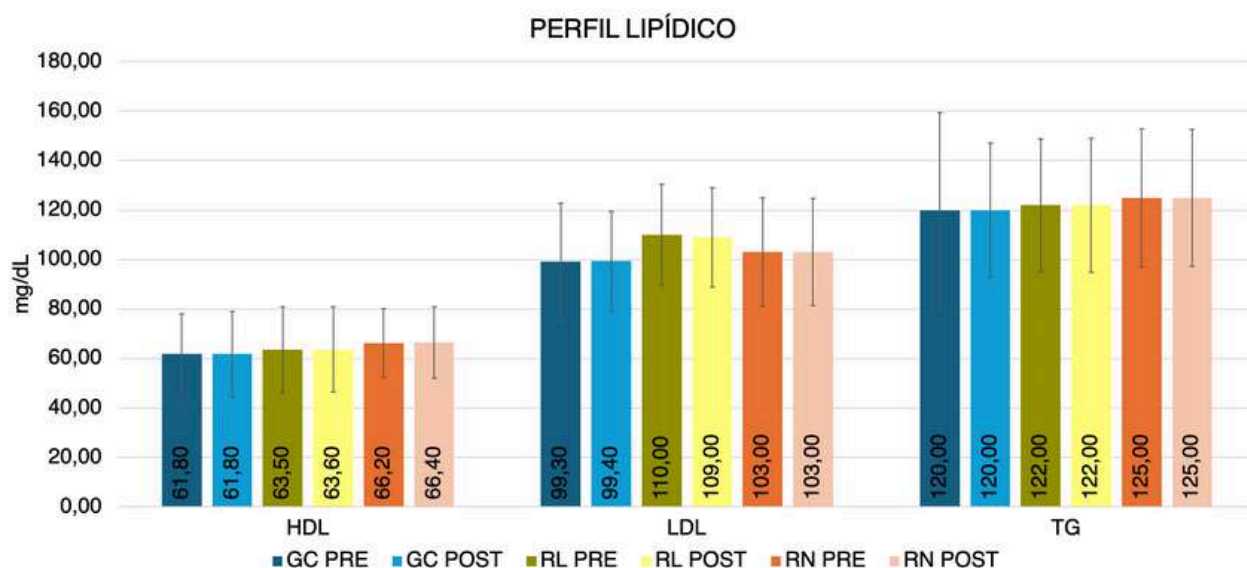


PERFIL LIPÍDICO

Incluye varios parámetros que ayudan a evaluar el riesgo de enfermedades cardiovasculares. Los componentes principales son:

- **HDL (High-Density Lipoprotein):** Conocido como "colesterol bueno", ayuda a remover el colesterol de las arterias. Niveles más altos de HDL se asocian con un menor riesgo de enfermedad cardiovascular.
- **LDL (Low-Density Lipoprotein):** Conocido como "colesterol malo", puede acumularse en las paredes de las arterias y formar placas, aumentando el riesgo de enfermedad cardiovascular.
- **Triglicéridos:** Son un tipo de grasa (lípido) que se encuentra en la sangre. Niveles elevados pueden aumentar el riesgo de enfermedades cardíacas.





HDL:

- Efecto Tiempo: Hubo una **tendencia a un aumento** en los niveles de HDL a lo largo del tiempo, aunque no fue estadísticamente significativo ($F = 3.819$, $p = 0.052$, $\eta^2 p = 0.025$).
- Efecto Tiempo x Grupo: **No** hubo **diferencias** significativas **entre los grupos** a lo largo del tiempo ($F = 0.843$, $p = 0.432$, $\eta^2 p = 0.011$).

LDL:

- Efecto Tiempo: No hubo diferencias significativas en los niveles de LDL a lo largo del tiempo ($F = 1.780$, $p = 0.185$, $\eta^2 p = 0.012$).
- Efecto Tiempo x Grupo: No hubo diferencias significativas entre los grupos a lo largo del tiempo ($F = 3.150$, $p = 0.056$, $\eta^2 p = 0.040$).

Triglicéridos (TG):

- Efecto Tiempo: No hubo diferencias significativas en los niveles de triglicéridos a lo largo del tiempo ($F = 0.060$, $p = 0.807$, $\eta^2 p = 0.000$).
- Efecto Tiempo x Grupo: No hubo diferencias significativas entre los grupos a lo largo del tiempo ($F = 0.289$, $p = 0.750$, $\eta^2 p = 0.004$).

Los resultados indican que la intervención en los grupos REFIX (Limón y Naranja) no tuvo un impacto significativo en los niveles de LDL y triglicéridos a lo largo del tiempo, aunque hubo una tendencia no significativa hacia un aumento en los niveles de HDL.



MARCADORES HEPÁTICOS

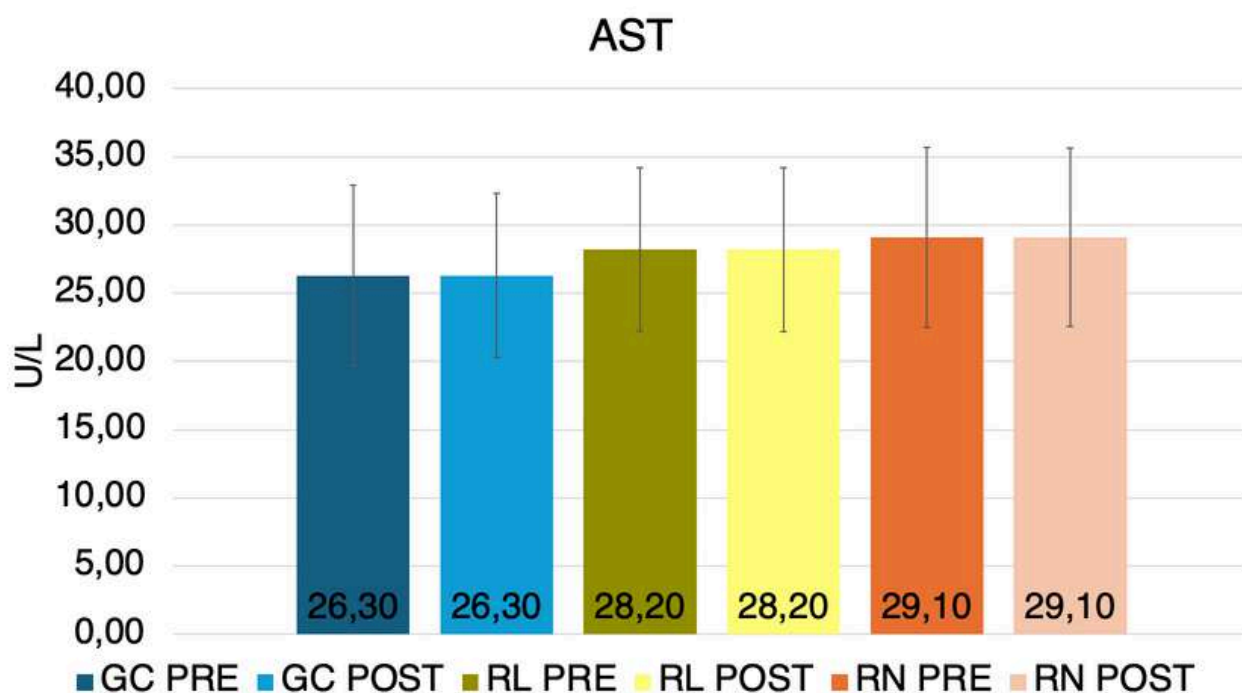
La evaluación de las **enzimas hepáticas** es fundamental para determinar la salud y el funcionamiento del hígado. Las enzimas hepáticas y otros indicadores medidos fueron:

1.AST (Aspartato Aminotransferasa): Enzima que se encuentra en el hígado y otros tejidos. Niveles elevados pueden indicar daño hepático o muscular.

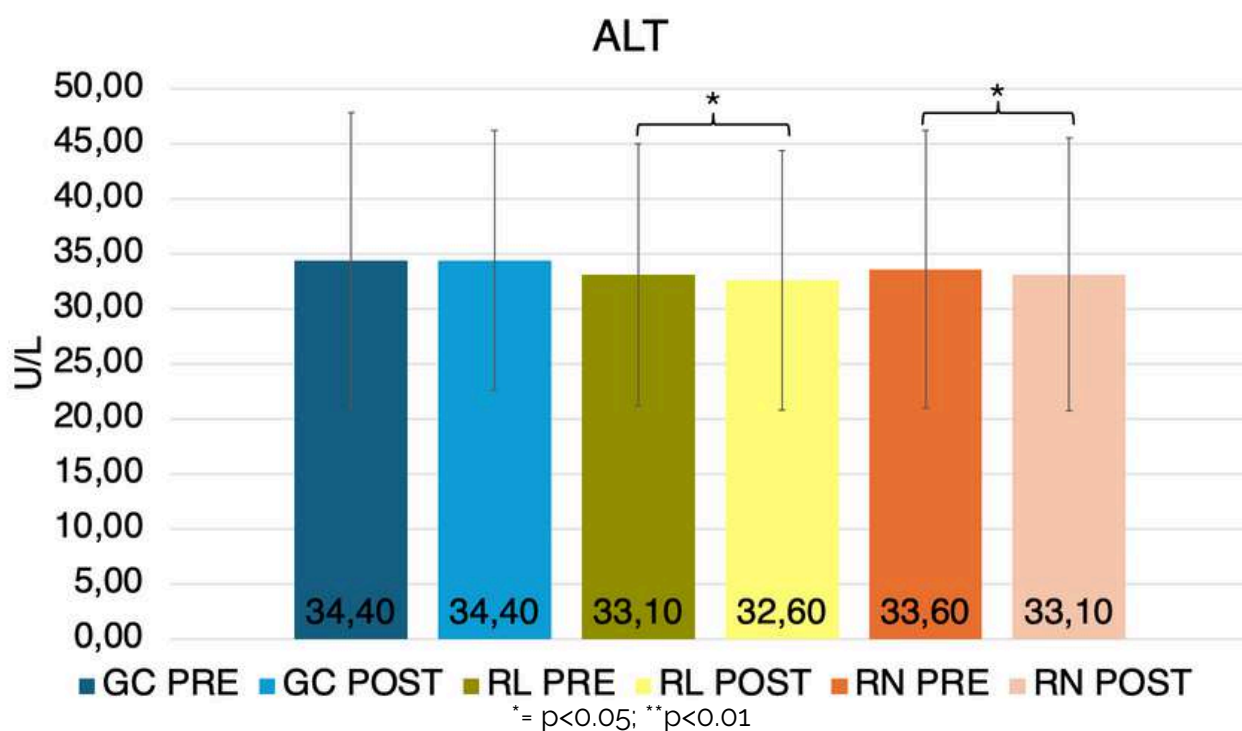
2.ALT (Alanina Aminotransferasa): Enzima principalmente presente en el hígado. Niveles elevados suelen indicar daño hepático.

3.Bilirrubina: Sustancia producida por la descomposición de los glóbulos rojos. Niveles elevados pueden indicar problemas hepáticos o biliares.

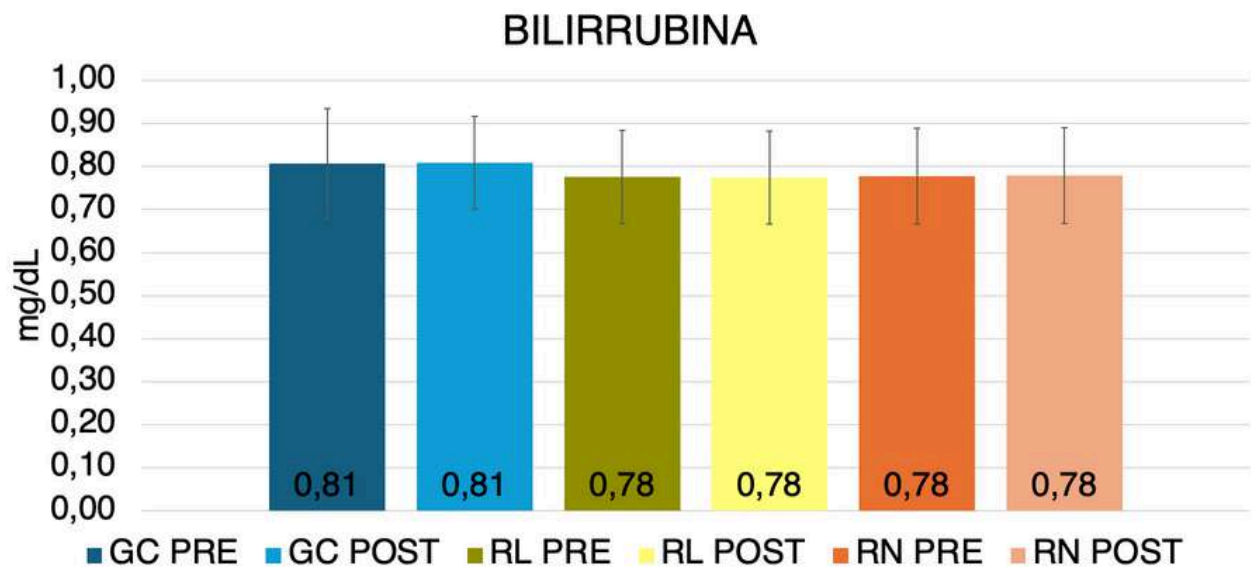




AST	Sin diferencias significativas para ninguno de los grupos, los valores individuales sufren muy pocas variaciones, por lo que la media y desviación varían muy poco.
-----	---



ALT	Existe una disminución ligera pero significativa ($p < 0.005$) en los valores de POST comparado con los valores PRE tanto en el grupo RL como RN.
-----	---



BILIRRUBINA	Sin diferencias significativas para ninguno de los grupos, los valores individuales sufren muy pocas variaciones, por lo que la media y desviación varían muy poco.
-------------	---

Interpretación

- Las enzimas hepáticas ALT muestran una ligera disminución en los valores POST para el grupo RL y RN, lo cual es significativo.
- Para AST y bilirrubina, no se observan diferencias significativas entre los valores PRE y POST en ninguno de los grupos, indicando que la intervención no tuvo un impacto notable en estas enzimas.



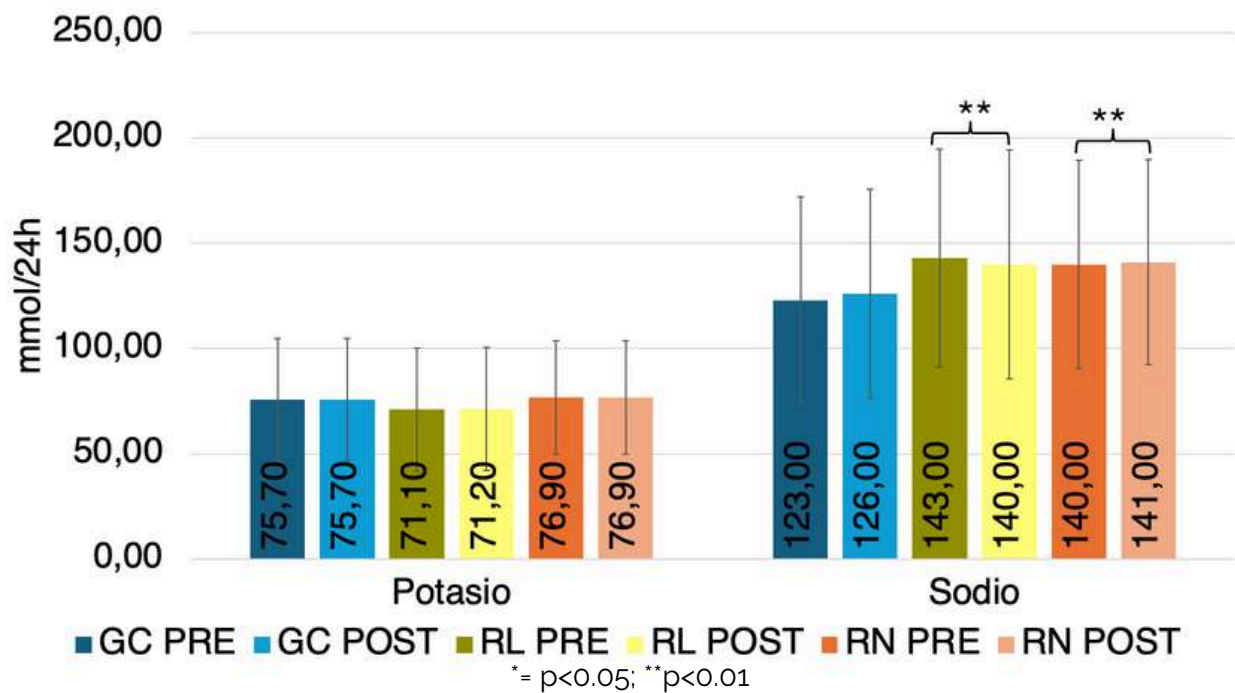
MARCADORES ORINA

Los minerales, como el **sodio, el potasio, el calcio y el magnesio**, juegan roles vitales en numerosas funciones fisiológicas, incluyendo la regulación de la presión arterial, la transmisión nerviosa y la contracción muscular. Por otro lado, el pH de la orina, que refleja la acidez o alcalinidad, puede indicar trastornos metabólicos y estados patológicos como la acidosis o alcalosis. Los datos obtenidos se muestran a continuación:

Potasio (K⁺):

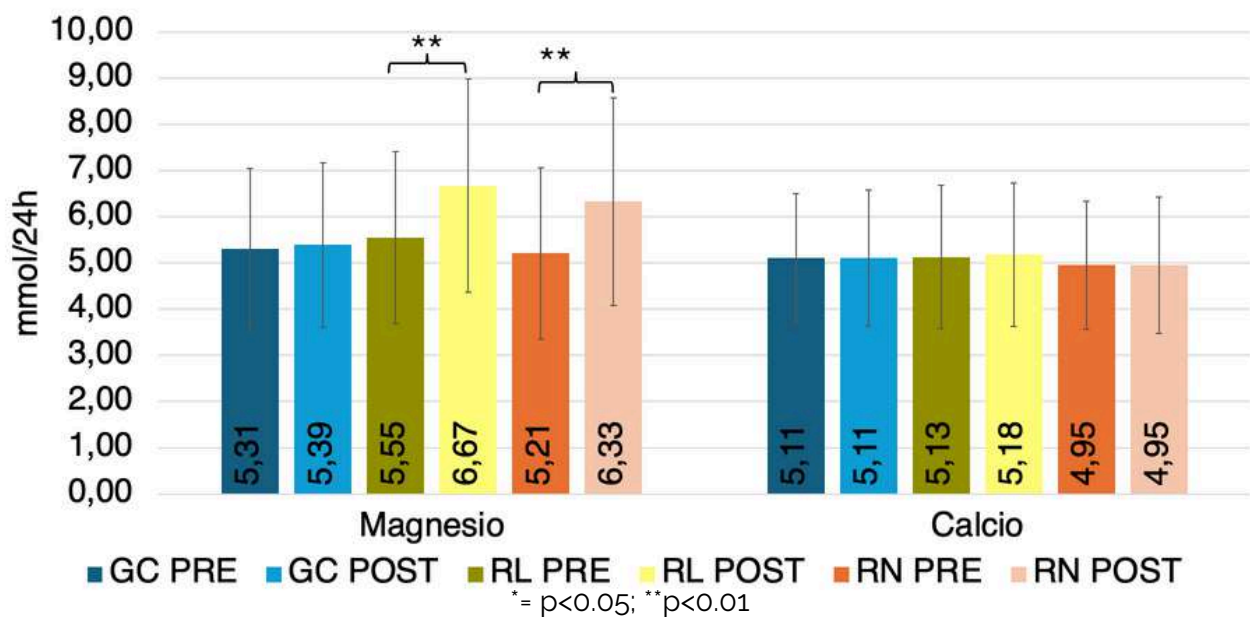
- Efecto Tiempo: No hubo diferencias significativas en los niveles de potasio a lo largo del tiempo ($F = 0.379$, $p = 0.539$, $\eta^2p = 0.002$).
- Efecto Tiempo x Grupo: No hubo diferencias significativas entre los grupos a lo largo del tiempo ($F = 0.279$, $p = 0.757$, $\eta^2p = 0.004$).





Sodio (Na⁺):

- Efecto Tiempo: Hubo un **aumento significativo en los niveles de sodio** a lo largo del tiempo ($F = 502.000$, $p < 0.001$, $\eta^2p = 0.768$).
- Efecto Tiempo x Grupo: Hubo una **diferencia significativa** entre los grupos a lo largo del tiempo ($F = 86.000$, $p < 0.001$, $\eta^2p = 0.531$). Los análisis post hoc indican que estas diferencias se encuentran en el grupo RL ($p < 0.001$) y RN ($p > 0.001$)

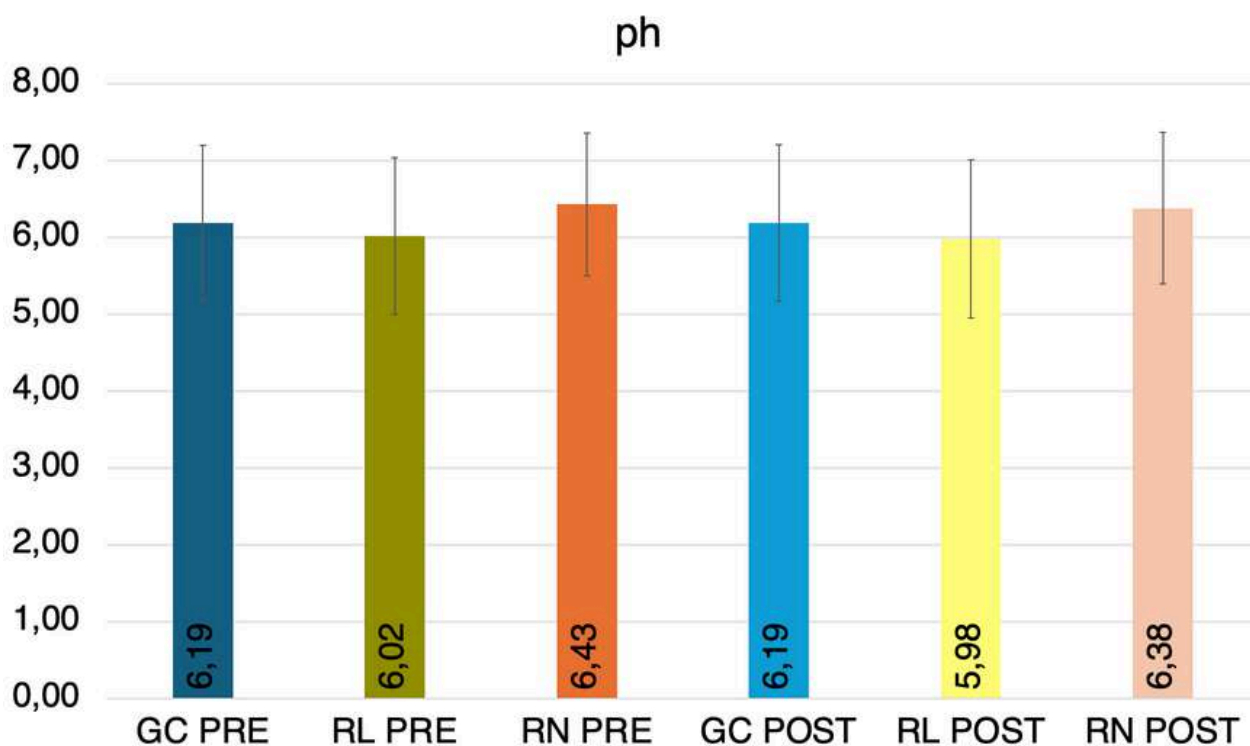


Magnesio (Mg²⁺):

- Efecto Tiempo: Hubo un **aumento significativo** en los niveles de magnesio a lo largo del tiempo (F = 472.600, p < 0.001, $\eta^2p = 0.757$).
- Efecto Tiempo x Grupo: Hubo una diferencia significativa entre los grupos a lo largo del tiempo (F = 93.800, p < 0.001, $\eta^2p = 0.553$).

Calcio (Ca²⁺):

- Efecto Tiempo: No hubo diferencias significativas en los niveles de calcio a lo largo del tiempo (F = 0.143, p = 0.706, $\eta^2p = 0.001$).
- Efecto Tiempo x Grupo: No hubo diferencias significativas entre los grupos a lo largo del tiempo (F = 0.147, p = 0.864, $\eta^2p = 0.002$).

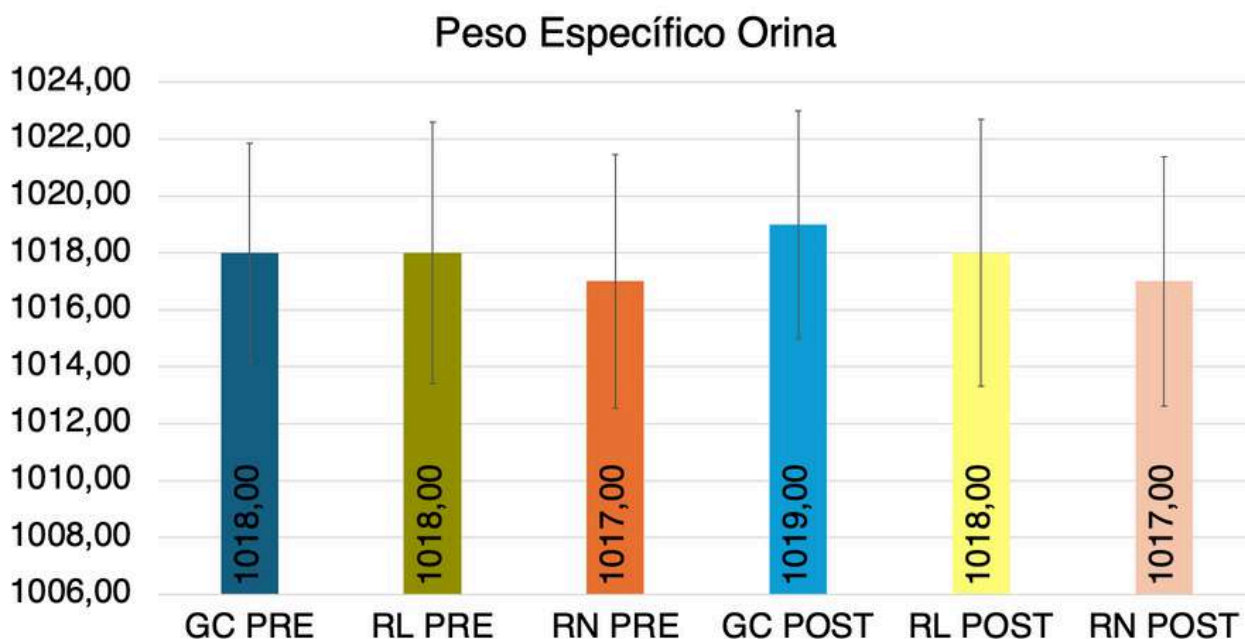


pH de la Orina:

- Efecto Tiempo: No hubo diferencias significativas en el pH de la orina a lo largo del tiempo (F = 1.488, p = 0.224, $\eta^2p = 0.010$).
- Efecto Tiempo x Grupo: No hubo diferencias significativas entre los grupos a lo largo del tiempo (F = 0.249, p = 0.780, $\eta^2p = 0.003$).

Peso Específico de la Orina:

- Efecto Tiempo: No hubo diferencias significativas en el peso específico de la orina a lo largo del tiempo ($F = 0.479$, $p = 0.490$, $\eta^2p = 0.003$).
- Efecto Tiempo x Grupo: No hubo diferencias significativas entre los grupos a lo largo del tiempo ($F = 2239.000$, $p = 0.110$, $\eta^2p = 0.029$).



Los resultados indican que la intervención en los grupos REFIX (Limón y Naranja) no tuvo un impacto significativo en la mayoría de los parámetros urinarios (potasio, calcio, pH, peso de la orina y peso específico de la orina) a lo largo del tiempo. Sin embargo, se observaron **aumentos significativos en los niveles de sodio y magnesio** a lo largo del tiempo, y hubo diferencias significativas entre los grupos en estos parámetros.

Estos resultados sugieren que sugiere que las bebidas electrolíticas como REFIX **pueden aumentar los niveles de sodio y magnesio en la orina, reflejando una mejora en el equilibrio electrolítico.** Estos efectos positivos en los niveles de sodio y magnesio indican que el consumo de este tipo de bebidas es beneficioso para mantener un buen estado de hidratación y equilibrio de electrolitos. Los demás parámetros urinarios no mostraron cambios significativos, lo que sugiere que la intervención no afecta negativamente otros aspectos de la función renal.



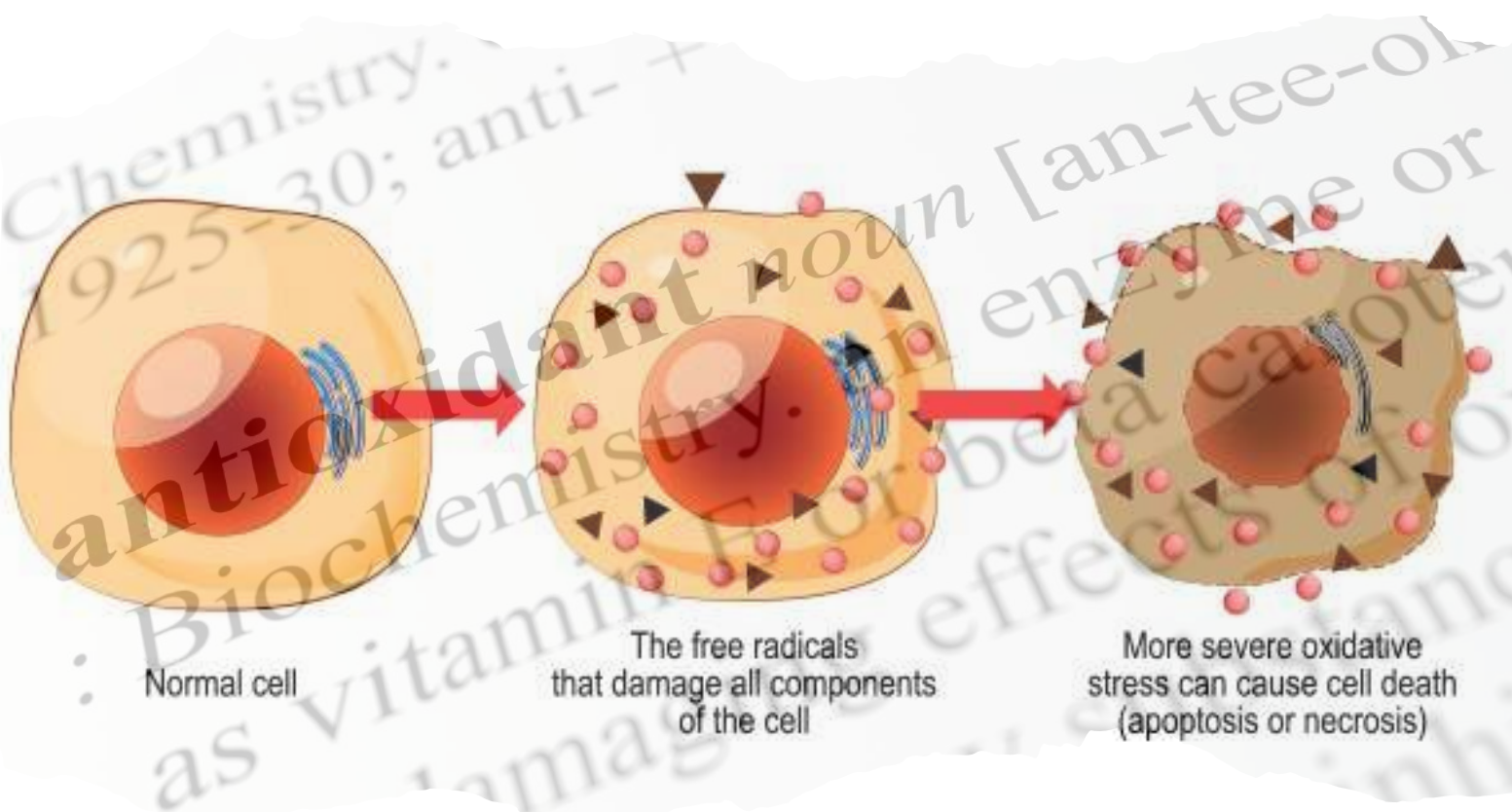
MARCADORES ANTIOXIDANTES

HbA1C (Hemoglobina Glicosilada): Este biomarcador refleja el promedio de los niveles de glucosa en la sangre durante los últimos 2-3 meses y es una medida crucial para el control de la diabetes.

Malondialdehído (MDA): Producto final de la peroxidación lipídica, el MDA es un indicador del estrés oxidativo y del daño a las membranas celulares.

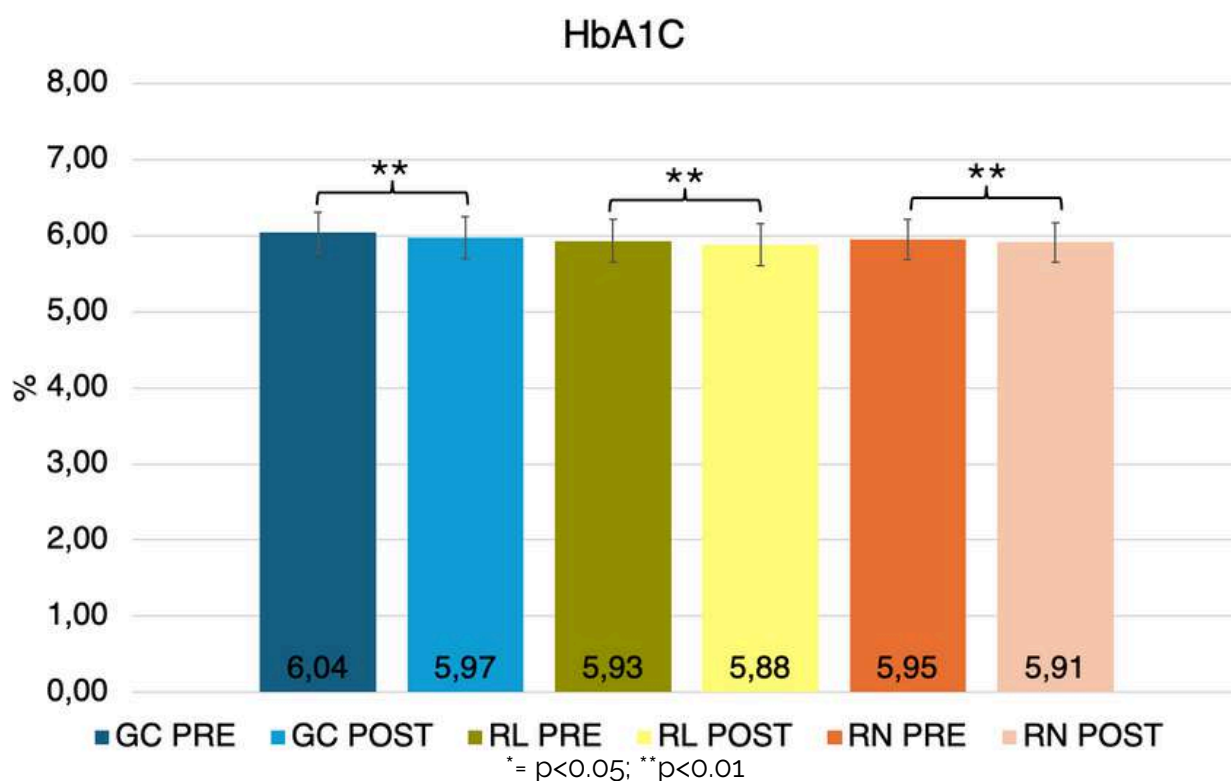
Catalasa: Enzima antioxidante que cataliza la descomposición del peróxido de hidrógeno en agua y oxígeno, protegiendo a las células del daño oxidativo.

Mieloperoxidasa: Enzima producida por neutrófilos y monocitos que participa en la respuesta inmune y puede contribuir al estrés oxidativo.



HbA1C:

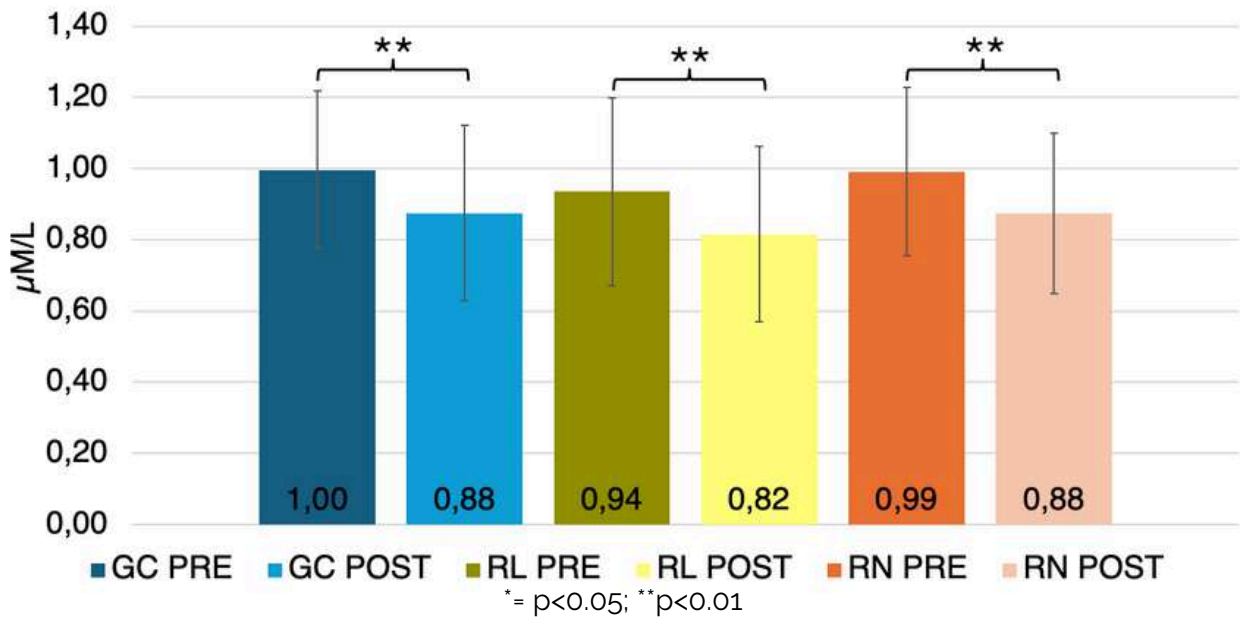
- Efecto Tiempo: Hubo una disminución significativa en los niveles de HbA1C a lo largo del tiempo ($F = 119.99$, $p < 0.001$, $\eta^2p = 0.441$).
- Efecto Tiempo x Grupo: Hubo una diferencia significativa entre los grupos a lo largo del tiempo ($F = 3.25$, $p = 0.041$, $\eta^2p = 0.041$).



Malondialdehído (MDA):

- Efecto Tiempo: Hubo una disminución significativa en los niveles de MDA a lo largo del tiempo ($F = 233.747$, $p < 0.001$, $\eta^2p = 0.606$) en los grupos RL y RN.
- Efecto Tiempo x Grupo: No hubo diferencias significativas entre los grupos a lo largo del tiempo ($F = 0.254$, $p = 0.776$, $\eta^2p = 0.003$).

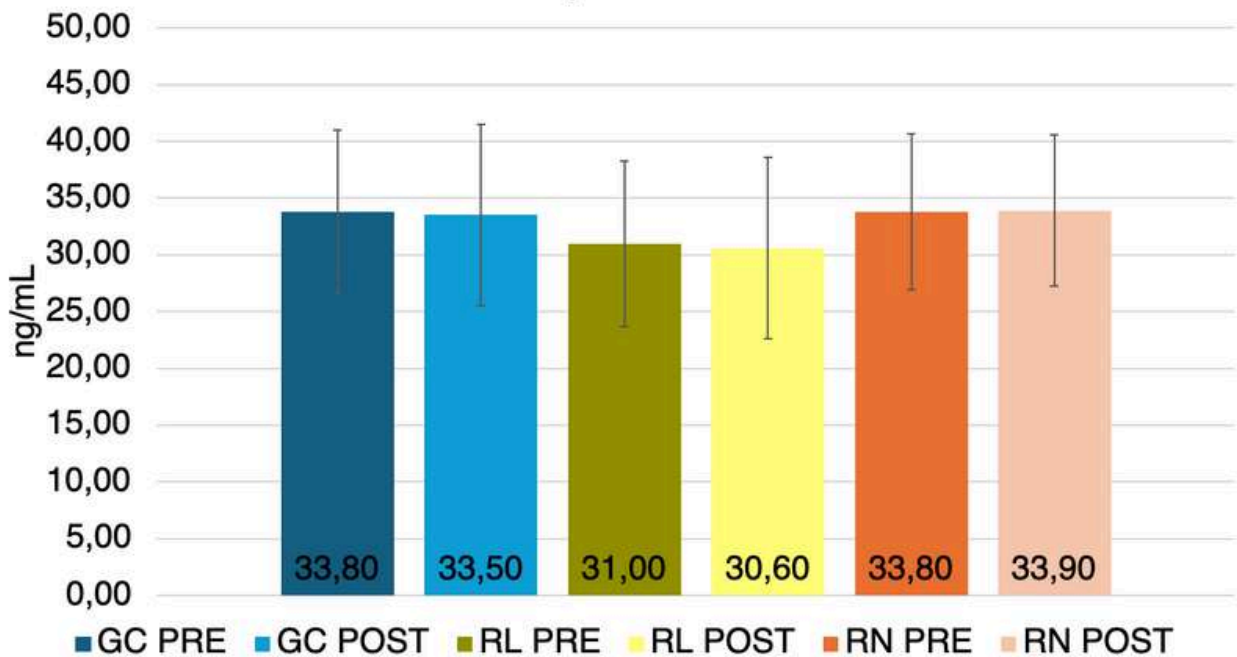
Malondialdehído



Mieloperoxidasa:

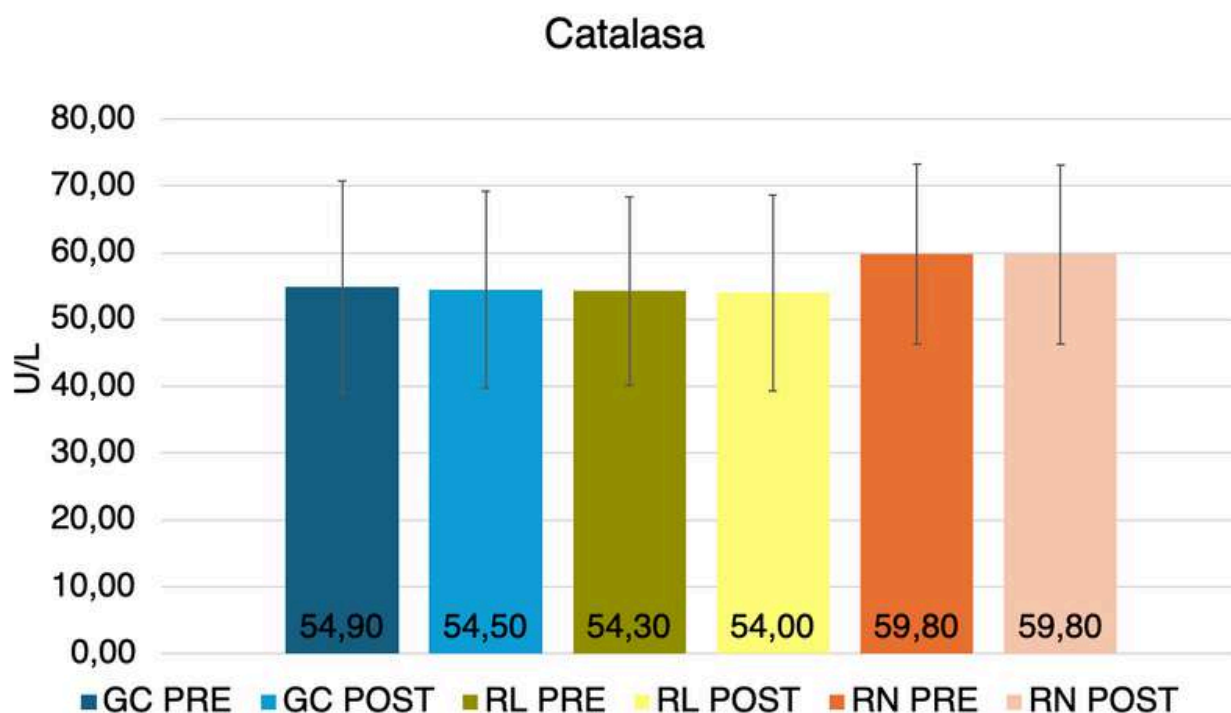
- Efecto Tiempo: No se observaron diferencias significativas en los niveles de mieloperoxidasa a lo largo del tiempo ($F = 1.789$, $p = 0.183$, $\eta^2 p = 0.012$).
- Efecto Tiempo x Grupo: No hubo diferencias significativas entre los grupos a lo largo del tiempo ($F = 0.730$, $p = 0.484$, $\eta^2 p = 0.010$).

Mieloperoxidasa



Catalasa:

- Efecto Tiempo: No se observaron diferencias significativas en la actividad de la catalasa a lo largo del tiempo ($F = 2.821$, $p = 0.095$, $\eta^2p = 0.018$).
- Efecto Tiempo x Grupo: No hubo diferencias significativas entre los grupos a lo largo del tiempo ($F = 0.602$, $p = 0.549$, $\eta^2p = 0.008$).



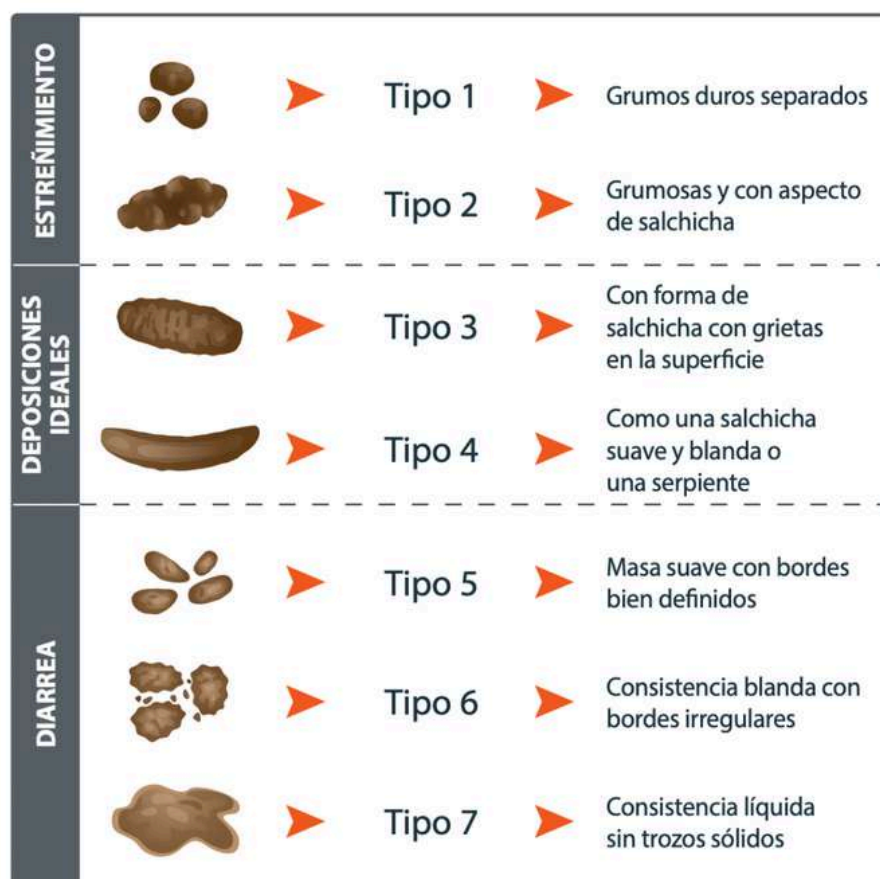
Los resultados indican que la intervención en los grupos REFIX (Limón y Naranja) tuvo un impacto significativo en la **disminución de los niveles de HbA1C y malondialdehído** a lo largo del tiempo, **sugiriendo una mejora en el control glucémico y una reducción del estrés oxidativo** en los participantes. No se observaron cambios significativos en los niveles de catalasa y mieloperoxidasa, lo que sugiere que estos parámetros antioxidantes no se vieron afectados por la intervención.

Estos resultados con estudios previos ya que el malondialdehído (MDA) parece ser uno de los biomarcadores más sensibles al estrés oxidativo en el contexto de intervenciones nutricionales o cambios en el estilo de vida que incluyen antioxidantes. El MDA, un producto final de la peroxidación lipídica, es frecuentemente medido para evaluar el daño oxidativo en células y tejidos. Estudios han mostrado que **intervenciones que incluyen antioxidantes pueden afectar significativamente los niveles de MDA**, mientras que otros biomarcadores como catalasa y mieloperoxidasa podrían no ser tan sensibles a corto plazo o en todos los contextos.



ESCALA DE BRISTOL

La **Escala de Bristol** es una herramienta que clasifica la forma y consistencia de las heces en siete tipos (véase en la imagen), lo cual es un indicador clave de la salud gastrointestinal. Los resultados observados en la variable Escala de Bristol tras 12 semanas de intervención con RL, RN y el GC se presentan a continuación.



	PRE			POST		
	GC	RL	RN	GC	RL	RN
Tipo heces	nº	nº	nº	nº	nº	nº
Tipo 2	3	7	2	4	0	0
Tipo 3	22	23	27	16	21	20
Tipo 4	17	15	19	28	29	32
Tipo 5	9	4	4	3	0	0
Tipo 6	1	1	1	1	0	1

nº=número de sujetos que indicaron este tipo de heces

- Grupo control: Aumentó el número de heces tipo 4 (normales) de 17 a 28, y el número de heces tipo 3 (estreñimiento leve) disminuyó de 22 a 16.
- Grupo REFIX limón: Aumentó significativamente el número de heces tipo 4 de 15 a 29, y desaparecieron las heces tipo 2 y 5.
- Grupo REFIX naranja: También aumentó el número de heces tipo 4 de 19 a 32, y las heces tipo 2 y 5 desaparecieron.

Los resultados indican que la intervención en los grupos REFIX limón y REFIX naranja tuvieron mejor consistencia de las heces, aumentando la prevalencia de heces de Tipo 4 (normales) y reduciendo la incidencia de estreñimiento y diarrea. En el **grupo REFIX limón** se observó una **mejora significativa (p=0.031)** en la **consistencia de las heces y una mayor homogeneidad en los resultados post-intervención** en comparación con el grupo de control y REFIX naranja.

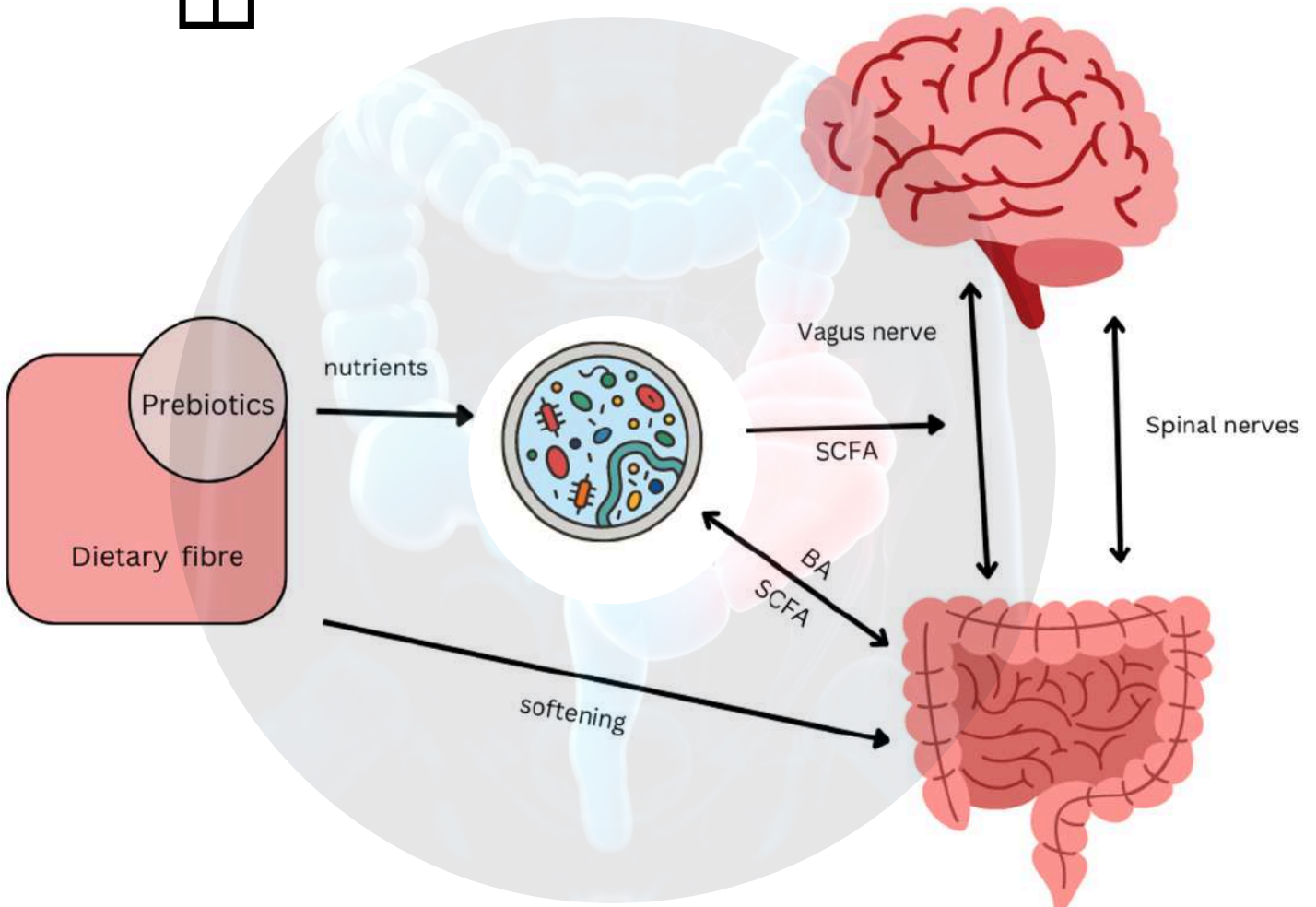


SÍNTOMAS ESTREÑIMIENTO

El **PAC-SYM (Patient Assessment of Constipation Symptoms)** es un cuestionario validado utilizado para evaluar los síntomas de estreñimiento en pacientes. Este instrumento consta de 12 ítems que se agrupan en tres dominios principales:

1. **Síntomas Abdominales:** Evalúa los síntomas relacionados con el malestar abdominal, como dolor, hinchazón y molestias.
2. **Síntomas Rectales:** Mide los síntomas relacionados con la defecación, incluyendo dificultad para evacuar, esfuerzo y la sensación de evacuación incompleta.
3. **Síntomas de Heces:** Analiza aspectos relacionados con las características de las heces, como su consistencia y frecuencia.

Cada ítem se califica en una escala Likert de 5 puntos, donde una puntuación más alta indica una mayor severidad de los síntomas de estreñimiento. Las puntuaciones totales y de cada dominio pueden utilizarse para evaluar la gravedad del estreñimiento y para medir los cambios en respuesta a intervenciones terapéuticas.



CATEGORIAS SEVERIDAD

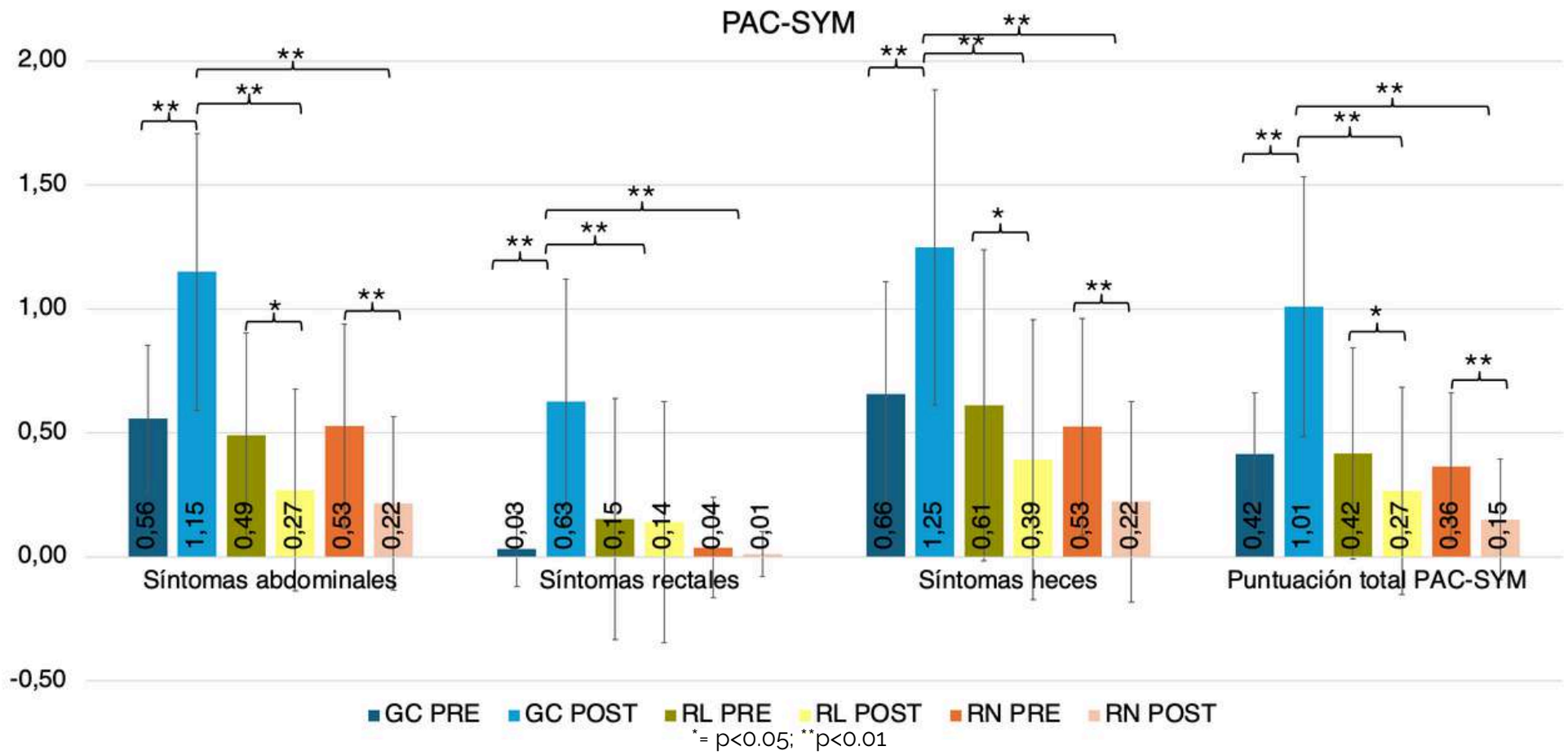
0-1 = NO SINTOMAS

1-2 = SINTOMAS LEVES

2-3 = SINTOMAS MODERADO

3-4= SINTOMAS SEVEROS

SÍNTOMAS ABDOMINALES	<ul style="list-style-type: none">• GC: Aumento significativo de los síntomas abdominales de 0.56 a 1.15 ($p < 0.001$)• RL: Reducción significativa de los síntomas abdominales de 0.49 a 0.27 ($p = 0.001$)• RN: Reducción significativa de los síntomas abdominales de 0.53 a 0.22 ($p < 0.001$)
SÍNTOMAS RECTALES	<ul style="list-style-type: none">• GC: Aumento significativo de los síntomas rectales de 0.03 a 0.63 ($p < 0.001$)• RL: Reducción de los síntomas rectales de 0.15 a 0.14• RN: Reducción de los síntomas rectales de 0.04 a 0.01
SINTOMAS DE HECES	<ul style="list-style-type: none">• GC: Aumento significativo de los síntomas de heces de 0.66 a 1.25 ($p < 0.001$)• RL: Reducción significativa de los síntomas de heces de 0.61 a 0.39 ($p = 0.005$)• RN: Reducción significativa de los síntomas de heces de 0.53 a 0.22 ($p < 0.001$)
PUNTUACIÓN TOTAL	<ul style="list-style-type: none">• GC: Aumento significativo de la puntuación total de 0.42 a 1.01 ($p < 0.001$)• RL: Reducción significativa de la puntuación total de 0.42 a 0.27 ($p = 0.036$)• RN: Reducción significativa de la puntuación total de 0.36 a 0.15 ($p < 0.001$)



Los resultados del PAC-SYM indican que la **intervención en los grupos REFIX**, tanto Limón ($p < 0.001$) como Naranja ($p < 0.001$) **han disminuido significativamente los síntomas de estreñimiento en comparación con el grupo de control (AGUA)**. Se observaron reducciones significativas en los síntomas abdominales, rectales y de heces, así como una disminución global en la puntuación total del PAC-SYM.

Estas diferencias observadas son consistentes con la literatura existente. La **disminución significativa en los síntomas de estreñimiento** en los grupos REFIX puede deberse a los **ingredientes activos** de estas bebidas que mejoran la hidratación y la función gastrointestinal, similar a lo observado con soluciones de electrolitos y bebidas fermentadas con probióticos. Además, el enfoque multimodal de tratar el estreñimiento con ajustes en la dieta y el consumo de líquidos también se alinea con los resultados observados.

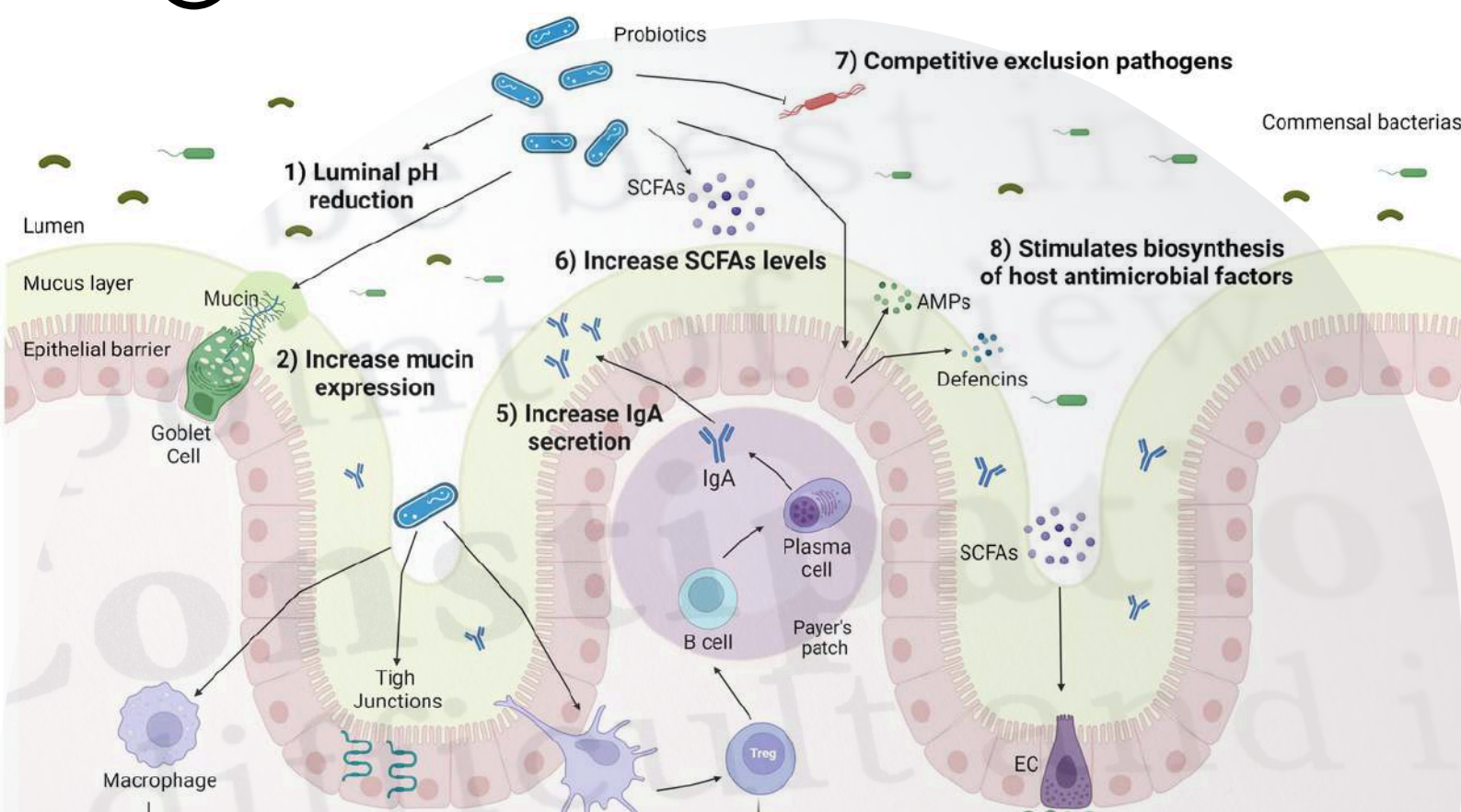


CALIDAD DE VIDA ESTREÑIMIENTO

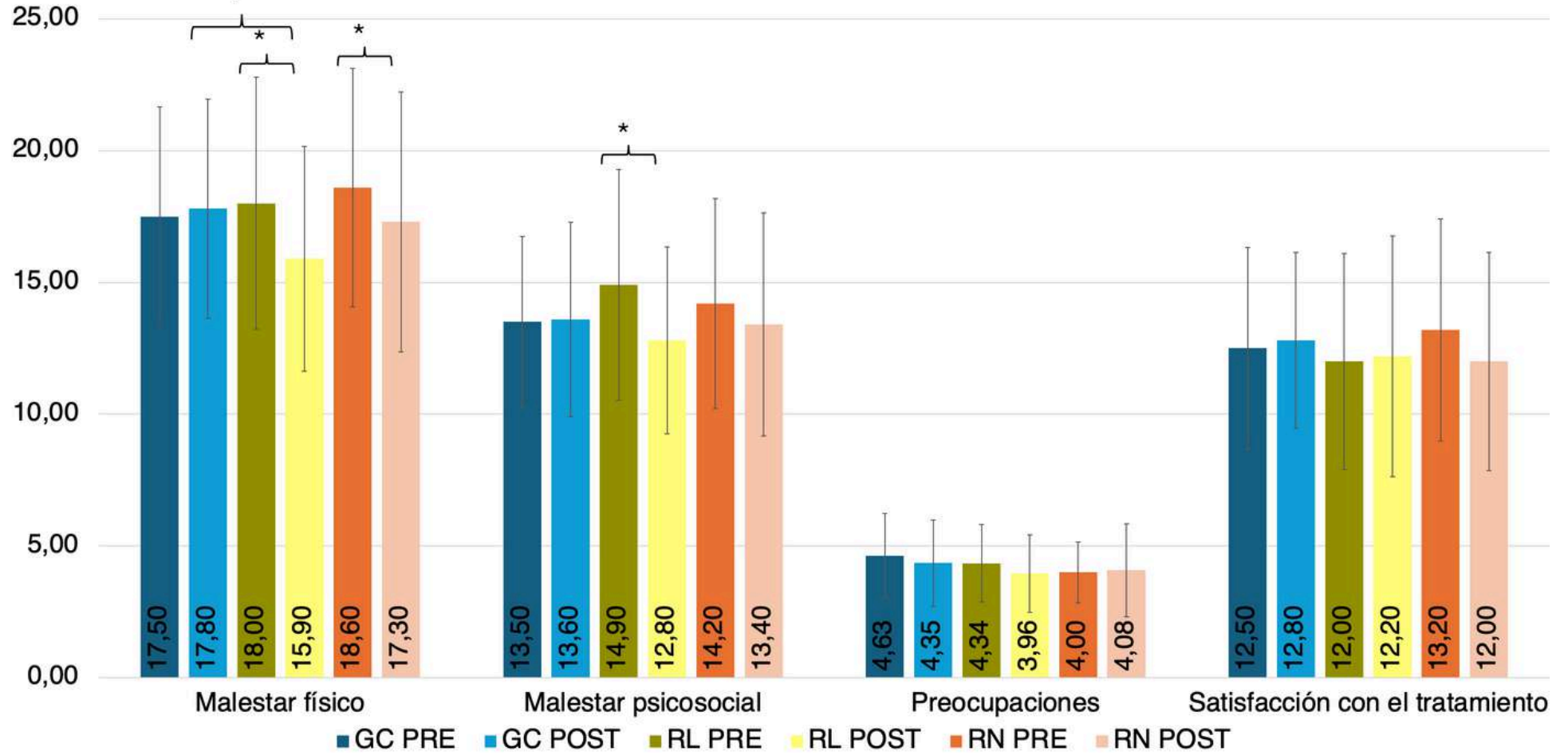
El **PAC-QOL (Patient Assessment of Constipation Quality of Life)** es un cuestionario validado utilizado para evaluar la calidad de vida de los pacientes con estreñimiento. Este instrumento consta de 28 ítems distribuidos en cuatro dominios:

- 1.Preocupaciones Físicas:** Evalúa los síntomas físicos y el malestar asociado con el estreñimiento.
- 2.Psicosocial:** Mide el impacto del estreñimiento en las emociones y las relaciones sociales del paciente.
- 3.Preocupaciones de Preocupación de Tratamiento:** Analiza las preocupaciones y la carga relacionada con el tratamiento del estreñimiento.
- 4.Satisfacción:** Mide la satisfacción general del paciente con su condición y tratamiento.

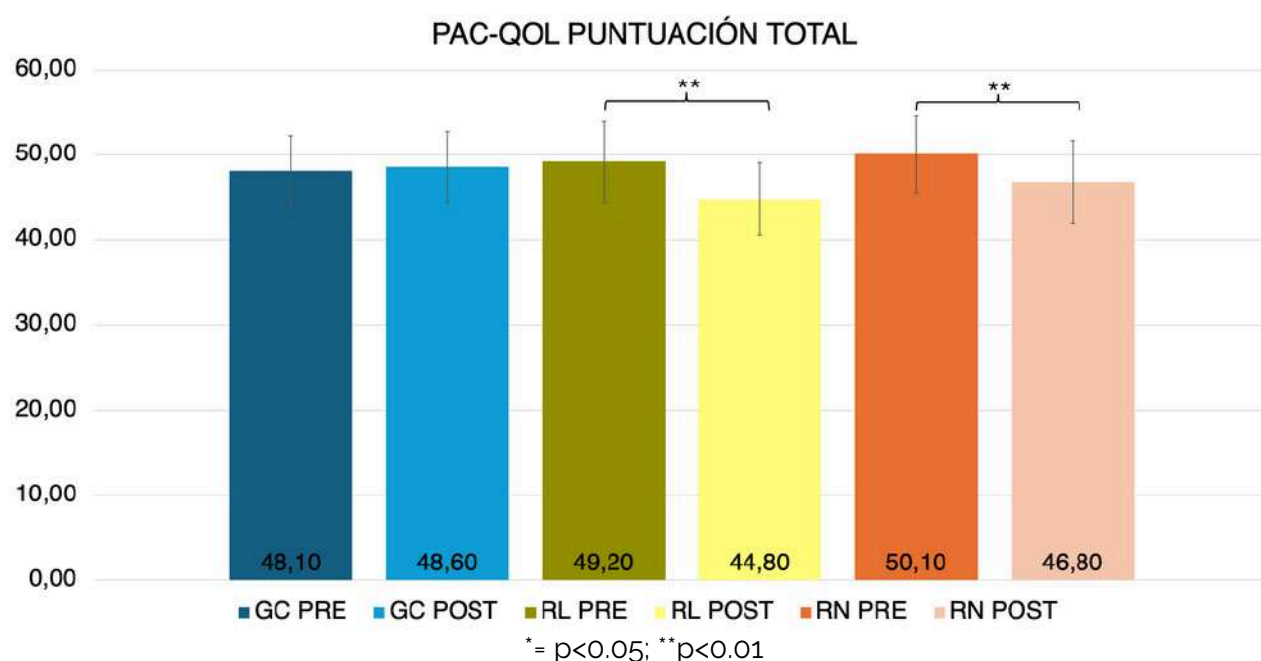
Cada ítem se califica en una escala Likert de 5 puntos, donde una puntuación más alta indica una peor calidad de vida relacionada con el estreñimiento. Las puntuaciones totales y de cada dominio pueden utilizarse para evaluar el impacto del estreñimiento en la calidad de vida y para medir los cambios en respuesta a intervenciones terapéuticas.



DOMINIOS PAC-QOL



MALESTAR FÍSICO	<ul style="list-style-type: none"> GC: Leve aumento del malestar físico de 17.50 a 17.80 RL: Reducción significativa del malestar físico de 18.00 a 15.90 (p=0.013) RN: Reducción leve del malestar físico de 18.60 a 17.30
MALESTAR PSICOSOCIAL	<ul style="list-style-type: none"> GC: Aumento leve del malestar psicosocial de 13.50 a 13.60 RL: Reducción significativa del malestar psicosocial de 14.90 a 12.80 (p=0.008) RN: Reducción leve del malestar psicosocial de 14.20 a 13.40
PROCUPACIONES	<ul style="list-style-type: none"> GC: Leve disminución de preocupaciones de 4.63 a 4.35 RL: Reducción de preocupaciones de 4.34 a 3.96 RN: Aumento leve de preocupaciones de 4.00 a 4.08
SATISFACCIÓN CON EL TRATAMIENTO	<ul style="list-style-type: none"> GC: Aumento leve en la satisfacción de 12.50 a 12.80 RL: Disminución leve en la satisfacción de 12.00 a 12.20 RN: Disminución leve en la satisfacción de 13.20 a 12.00
PUNTUACIÓN TOTAL	<ul style="list-style-type: none"> GC: Aumento leve en la puntuación total de 48.10 a 48.60 RL: Reducción significativa en la puntuación total de 49.20 a 44.80 (p<0.001) RN: Reducción significativa en la puntuación total de 50.10 a 46.80 (p<0.001)



Los resultados del PAC-QOL indican que la intervención en el **grupo REFIX ha mejorado significativamente varios aspectos de la calidad de vida relacionada con el estreñimiento**. Se observaron reducciones significativas en el malestar físico y psicosocial, así como una mejora global en la puntuación total del PAC-QOL.



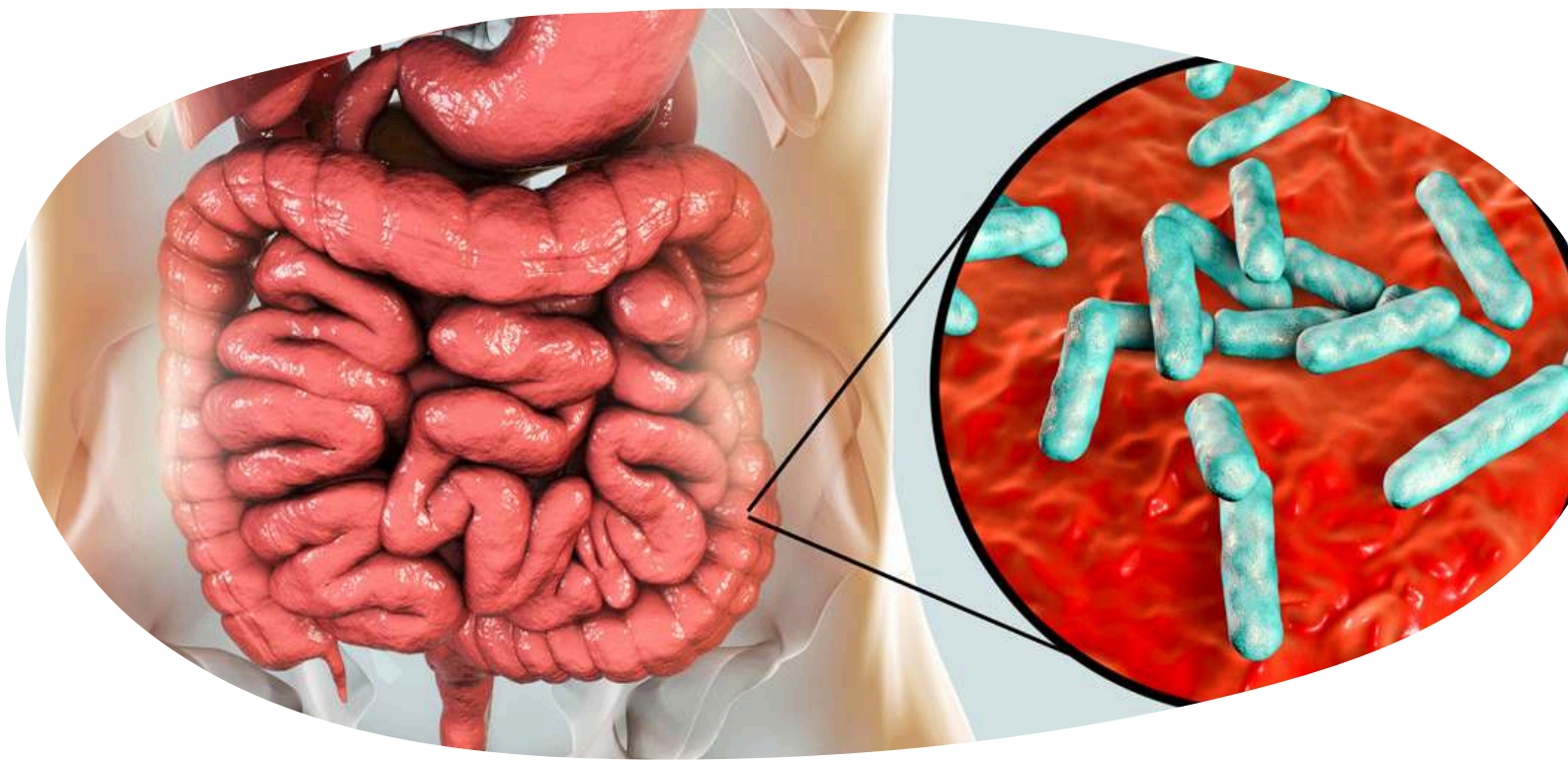
MARCADORES DEL MICROBIOMA

La **microbiota intestinal** es el conjunto de microorganismos que residen en el tracto gastrointestinal humano, incluyendo bacterias, arqueas, hongos y virus. Estos microorganismos juegan un papel crucial en la digestión, la síntesis de vitaminas, la regulación del sistema inmunológico y la protección contra patógenos. La composición y el equilibrio de la microbiota intestinal son esenciales para mantener la salud general del individuo. En este estudio, se analizaron diferentes grupos de microorganismos para evaluar el impacto de una intervención.

Se ha utilizado **"Quick-16S Plus NGS Library Prep Kit (V3-V4, UDI)"** (Zymo Research) que incluye los cebadores para amplificar las regiones variables V3-V4 del gen 16S rRNA:

- 341f (CCTACGGGDGGC/GCAG, CCTAYGGGGYGC/GCAG). El primer Forward es una mezcla de ambos.
- 806r (GACTACNVGGGTMTCTAATCC).

Los cebadores han sido diseñados para cubrir los dominios bacteria (84.2%), archaea (75.8%), and eukaryota (0.0%) según resultados de la base de datos Silva (Marzo 2020).



Para la amplificación del 16S rRNA se partió de 10 ng de DNA y mediante qPCR/PCR se combina la amplificación dirigida y la adición de códigos de barras, generando fragmentos de aproximadamente 606 pb.

La secuenciación de la muestras se llevó a cabo en el equipo NextSeq 2000 (Illumina) mediante aproximación Paired-End (2x300).

El número de lecturas obtenido fue adecuado para todas las muestras (> 500.000 input reads).

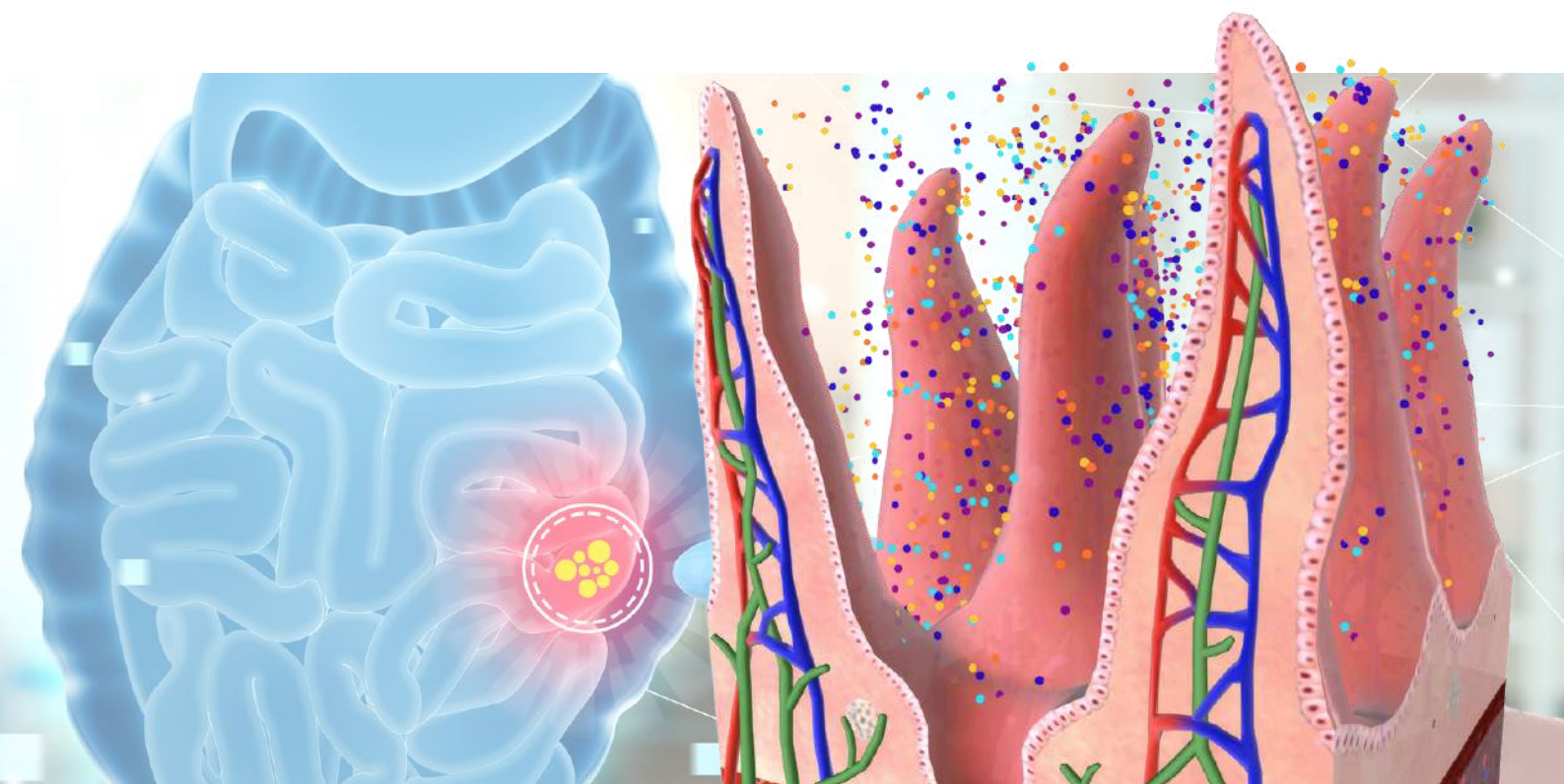
Las unidades de medida utilizadas en este análisis son relativas, expresadas en porcentajes (%), lo que permite una comparación directa entre los diferentes grupos de microorganismos y su variación antes y después de la intervención.

A continuación se presentan los resultados agrupados por tipo de distribución funcional:

- **Muconutritivas**
- **Reguladoras**
- **Proteolíticas**
- **Arqueas**

Los microorganismos no contemplados en el informe es porque han resultado negativos en la totalidad de la muestra, esto significa que no han sido detectados en la muestra de la población estudiada.

Los resultados de cada una de ellas se presentan a continuación:



Muconutritivas

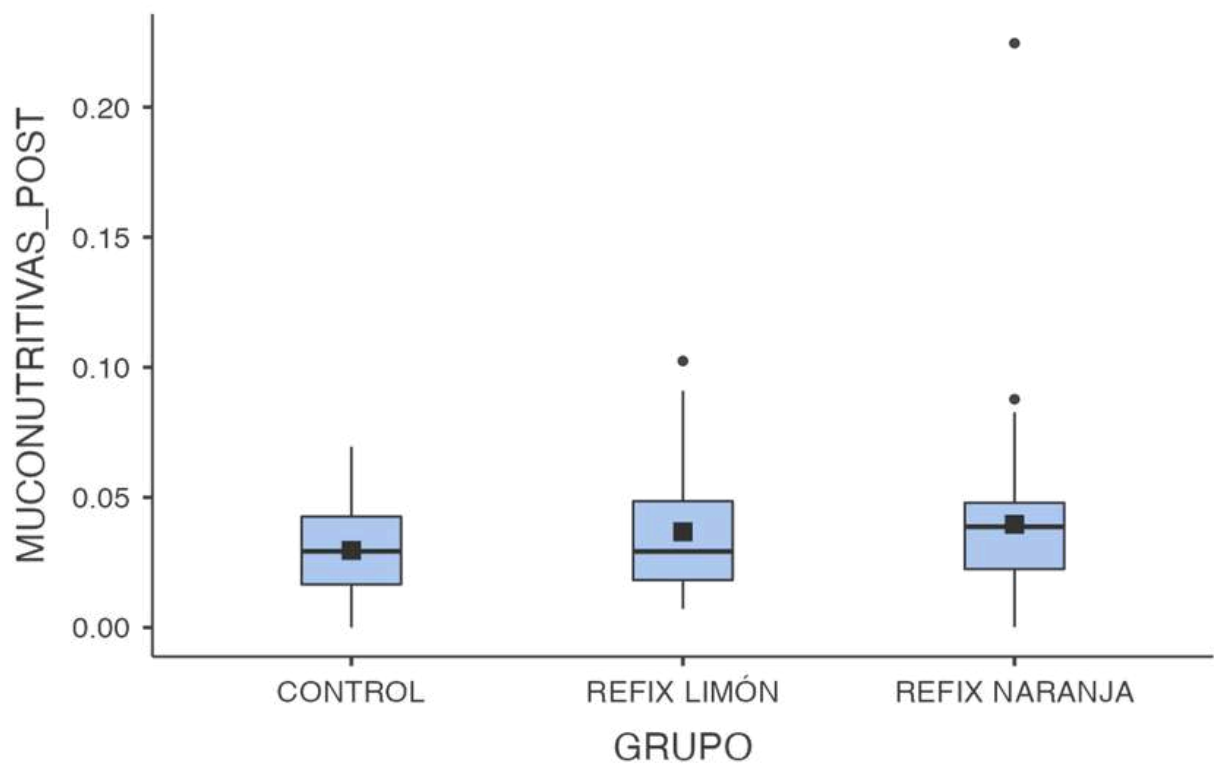
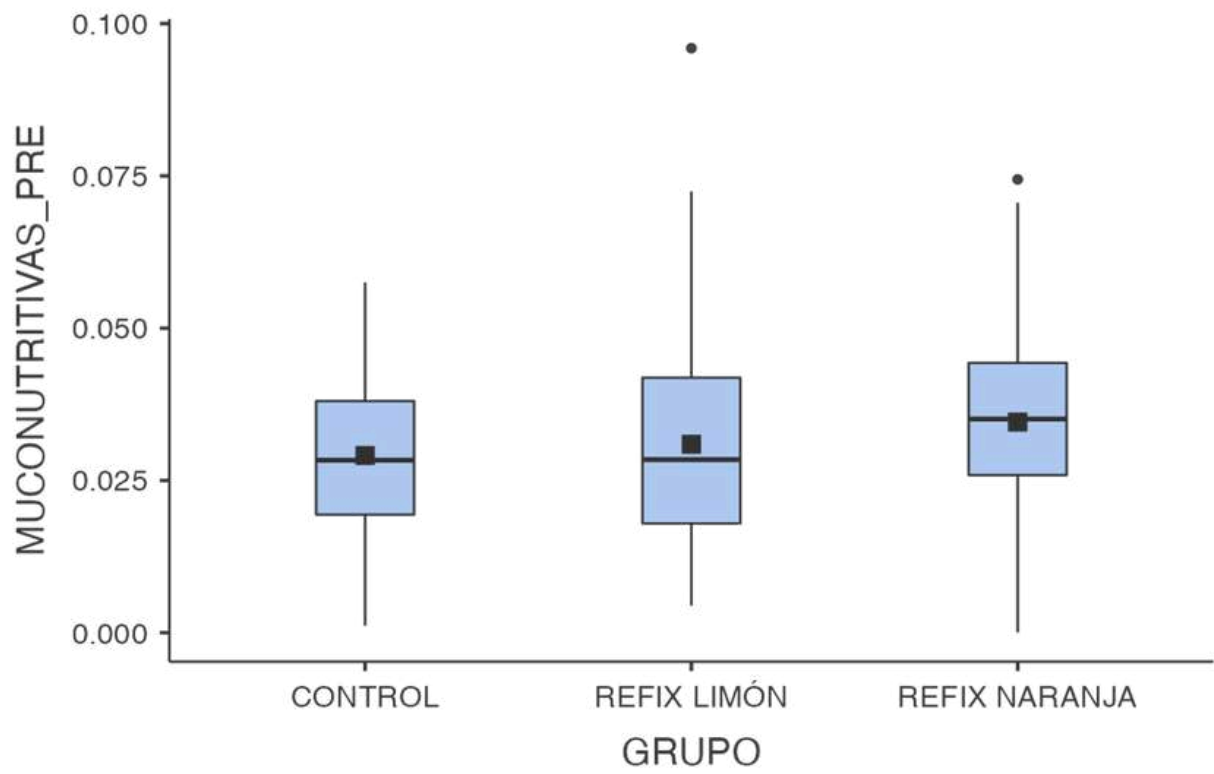
Las bacterias muconutritivas, incluyendo **Akkermansia muciniphila**, **Faecalibacterium prausnitzii**, **Roseburia Intestinalis** y **Eubacterium rectale**, juegan un papel crucial en la salud intestinal y metabólica.

Akkermansia muciniphila es conocida por su capacidad para degradar mucina, protegiendo la barrera intestinal y modulando el sistema inmunológico, lo que contribuye al control del peso y la mejora de la sensibilidad a la insulina. Por otro lado, Faecalibacterium prausnitzii, Roseburia hominis y Eubacterium son importantes productoras de butirato, un ácido graso de cadena corta que reduce la inflamación, promueve la salud de la mucosa intestinal y mejora el metabolismo energético.

La abundancia de estas bacterias está asociada con una menor incidencia de enfermedades inflamatorias y trastornos metabólicos, destacando su importancia en el mantenimiento de un microbioma intestinal saludable.

Los análisis indican que:

- En el grupo control (GC), se observa un leve incremento en la media de las bacterias muconutritivas. Este incremento leve sugiere una estabilidad en la población de bacterias muconutritivas sin intervención, lo cual es esperado en un grupo control.
- En el grupo Refrix Limón (RL), los valores medios aumentan aunque no de forma significativa. La intervención con Refrix Limón **parece haber incrementado ligeramente la abundancia de bacterias muconutritivas**, lo cual puede ser beneficioso para la salud intestinal dado el rol de estas bacterias en la integridad de la mucosa intestinal.
- En el grupo Refrix Naranja (RN), los valores medios incrementan de forma similar al grupo Refrix Limón, por tanto, la intervención con Refrix Naranja también **parece haber tenido un efecto positivo al incrementar la población de bacterias muconutritivas**.

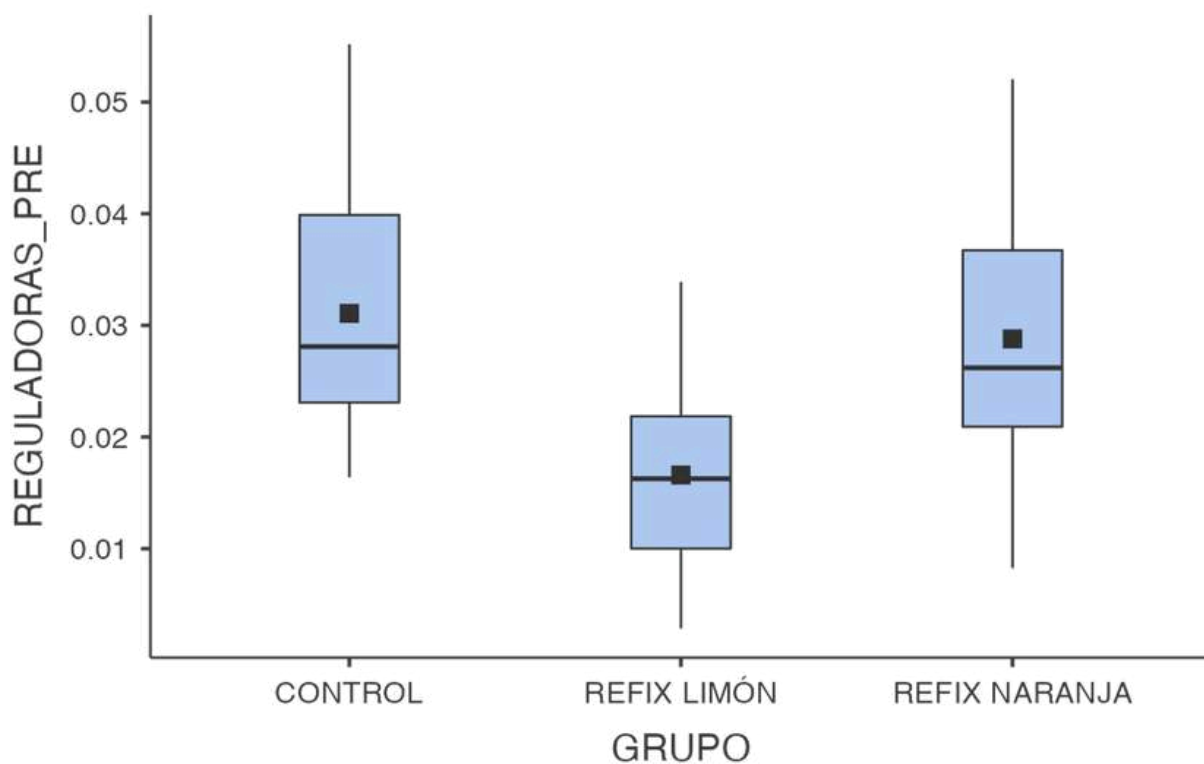


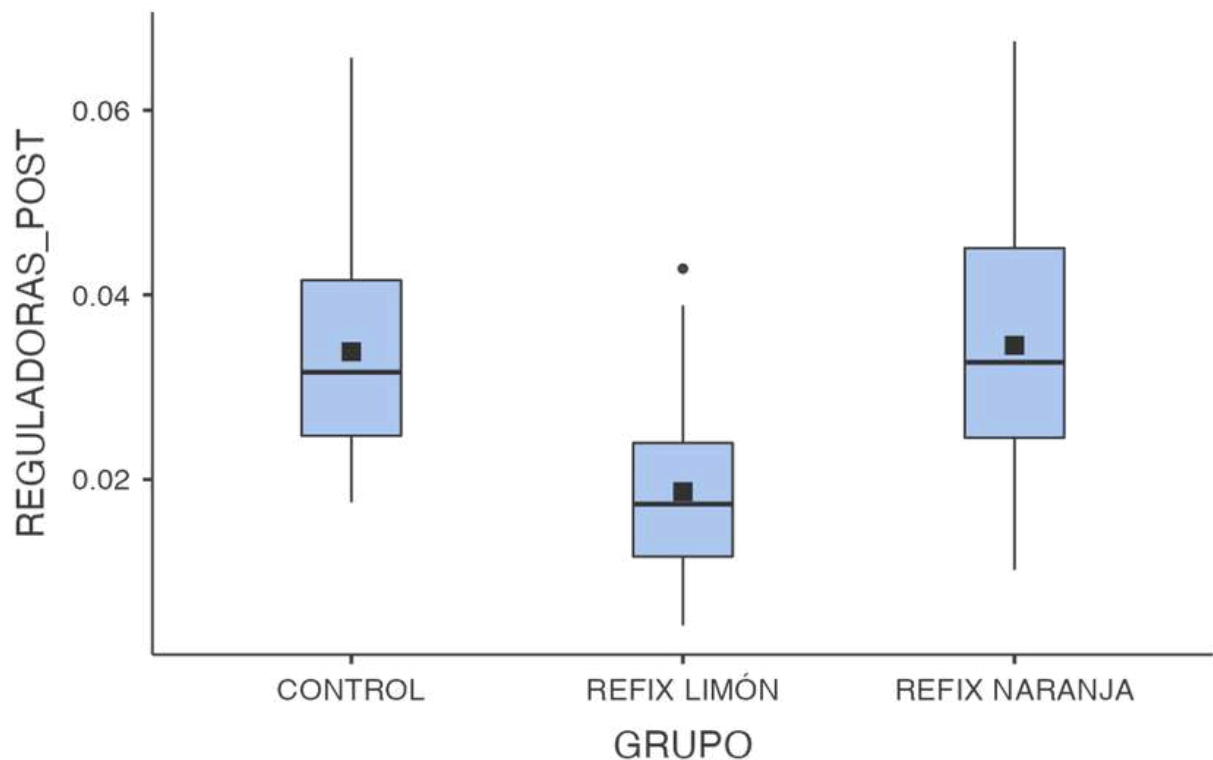
Reguladoras

Las bacterias reguladoras, como **Lactobacillus, Enterococcus, Veillonella, Ruminococcus, Bacteroides, Prevotella, Bifidobacterium, y Oxalobacter**, desempeñan roles cruciales en el mantenimiento de la homeostasis intestinal y la salud general. Estas bacterias participan en la fermentación de fibras dietéticas, la producción de ácidos grasos de cadena corta, la modulación del sistema inmunológico y la inhibición de patógenos. Valores altos de estas bacterias se asocian con beneficios para la salud digestiva, metabólica y inmunológica, subrayando su importancia en un microbioma intestinal equilibrado y saludable.

Los análisis de medidas repetidas y los efectos entre sujetos muestran:

- En el grupo control (GC), hay un leve incremento en la media de las bacterias reguladoras, no significativo.
- En el grupo **Refix Limón (RL)**, los valores **aumentan ligeramente** (DM= -0.00208) aunque no de forma significativa. Lo mismo ocurre en el grupo **Refix Naranja (RN)** (DM= -0.00574). Esto puede ser beneficioso para la salud intestinal dado el rol de estas bacterias en la digestión y la regulación del sistema inmunológico.



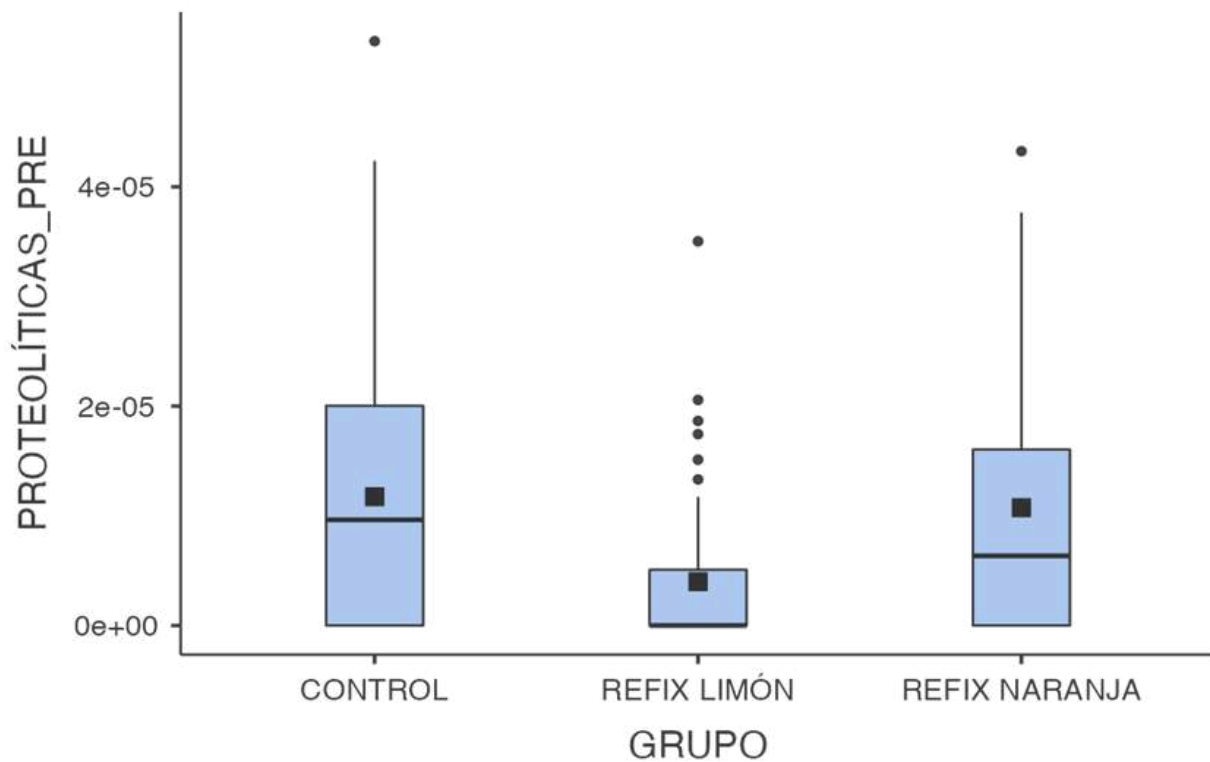


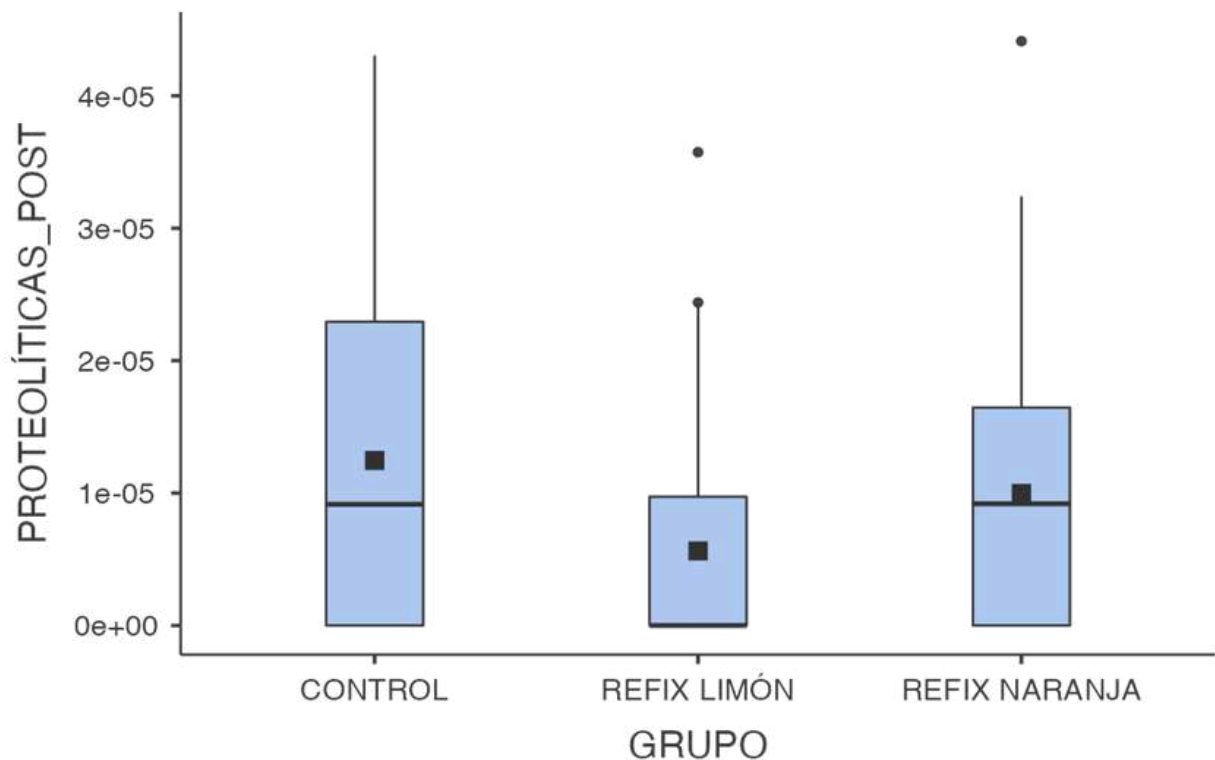
Proteolíticas

Las bacterias proteolíticas, como **Fusobacterium**, **Pseudomonas**, y **Clostridium sensu stricto 1 (perfringens)**, juegan un papel crucial en la descomposición de proteínas en el intestino humano y otros ambientes. Estas bacterias participan en la degradación de proteínas y péptidos, lo que puede influir en la salud intestinal y sistémica. Si bien algunas de estas bacterias son comensales normales del intestino, otras pueden volverse patógenas en ciertas condiciones, causando infecciones y enfermedades. Valores elevados de ciertas especies pueden estar asociados con infecciones y desequilibrios en la microbiota, subrayando la importancia de mantener un equilibrio adecuado de estas bacterias para una salud óptima.

Se observa un **ligero incremento** tanto en el **grupo control (GC)** como **Refix Limón (RL)**, en ninguno de los dos casos significativo (DM = -0.00277 y -0.00208, respectivamente). En el grupo **Refix Naranja (RN)** se ha **reducido ligeramente** la abundancia de bacterias proteolíticas (DM=0.00574), lo cual puede ser beneficioso para evitar el exceso de proteólisis en el intestino.

En ambos casos la evolución es positiva, en los GC y RL el cambio es mínimo y no sugiere un desequilibrio significativo. La reducción en el grupo RN también podría ser beneficiosa para evitar el exceso de proteólisis en el intestino. Además, destacar que **todos los valores de las bacterias proteolíticas** (*Fusobacterium*, *Pseudomonas*, y *Clostridium sensu stricto 1*) están por debajo del 0.01%, lo que está **dentro del rango normal** para estas bacterias en individuos sanos.



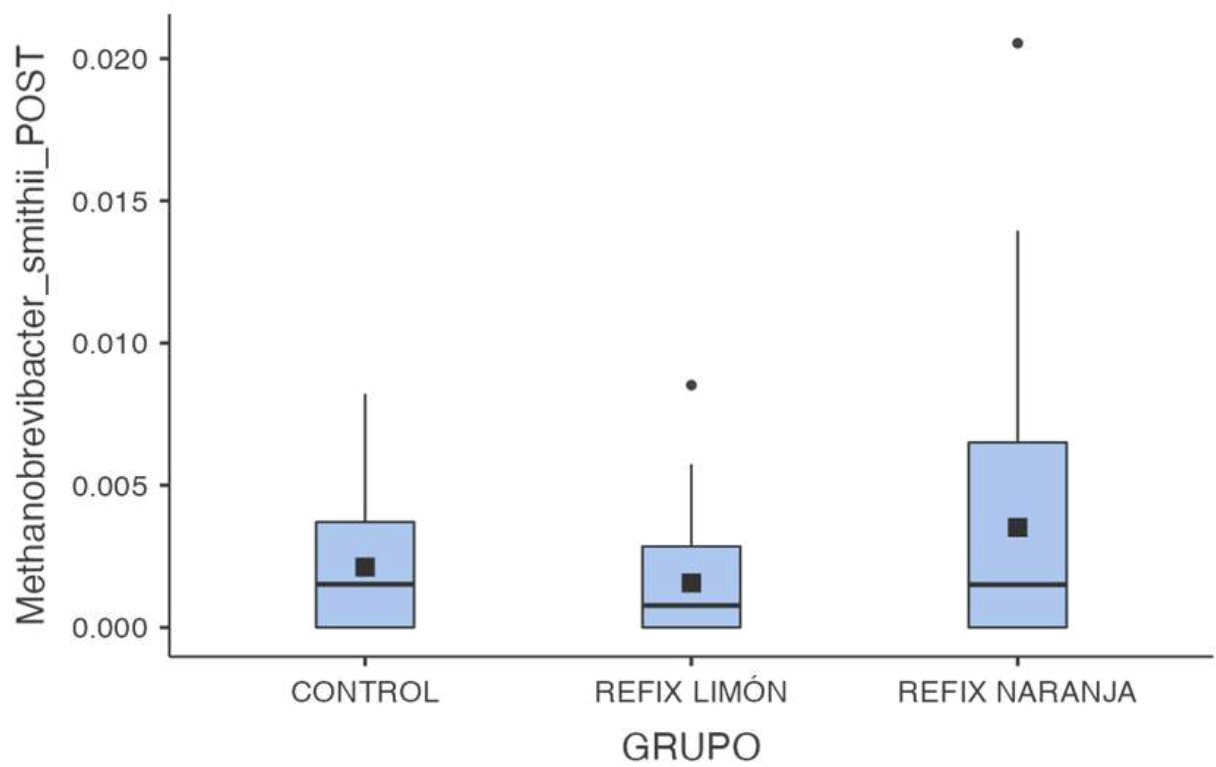
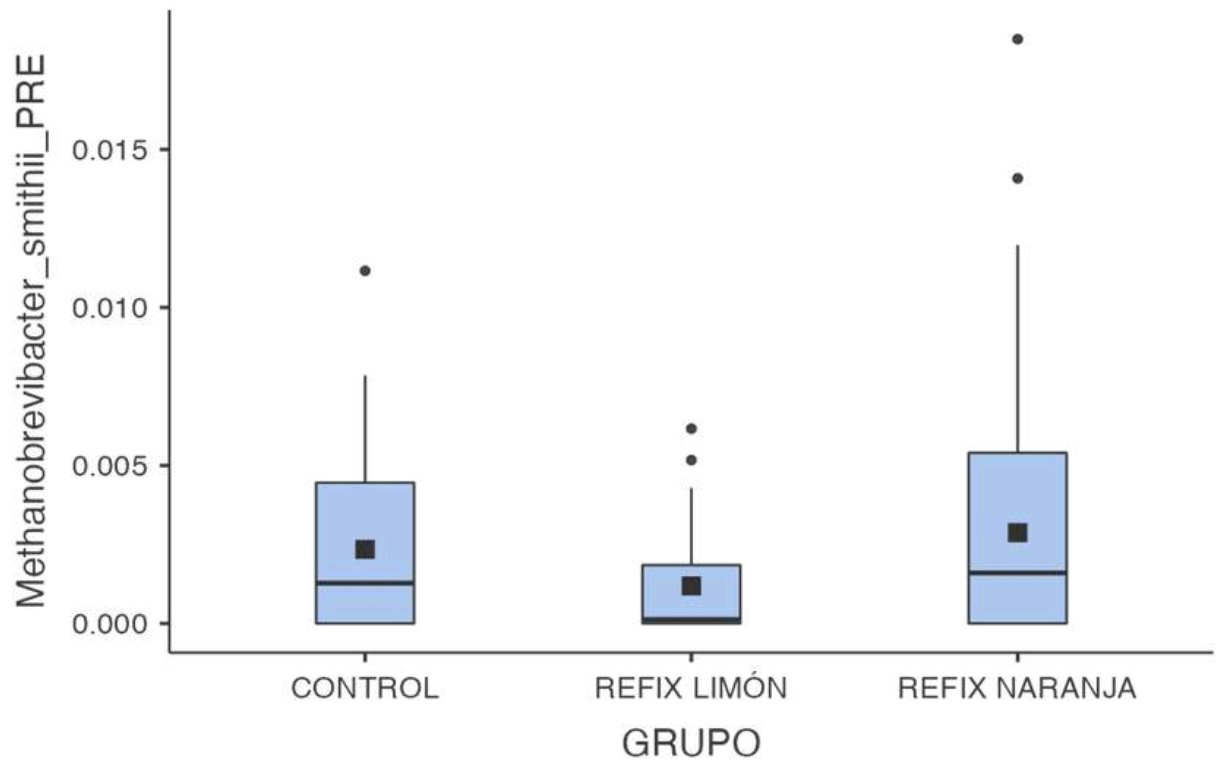


Arqueas

Methanobrevibacter smithii es una arquea metanogénica predominante en el intestino humano, donde desempeña un papel crucial en la digestión y el metabolismo. Esta arquea es una de las especies más abundantes del dominio Archaea en el microbioma intestinal y es conocida por su capacidad para producir metano a partir de hidrógeno y dióxido de carbono, un proceso importante para la eficiencia energética del huésped.

En ningún grupo se han observado diferencias significativas tras la intervención, no obstante, tanto en los grupos **Refix Limón (RL)** como **Refix Naranja (RN)**, la intervención parece haber tenido un **efecto mínimo en la abundancia de Methanobrevibacter smithii**, lo cual sugiere un posible efecto beneficioso en la **eficiencia de la fermentación de carbohidratos complejos**.

Destacar que los valores observados están dentro del rango típico esperado para arqueas metanogénicas, lo cual es beneficioso dado que no se observa un incremento significativo que pueda estar relacionado con problemas de salud.



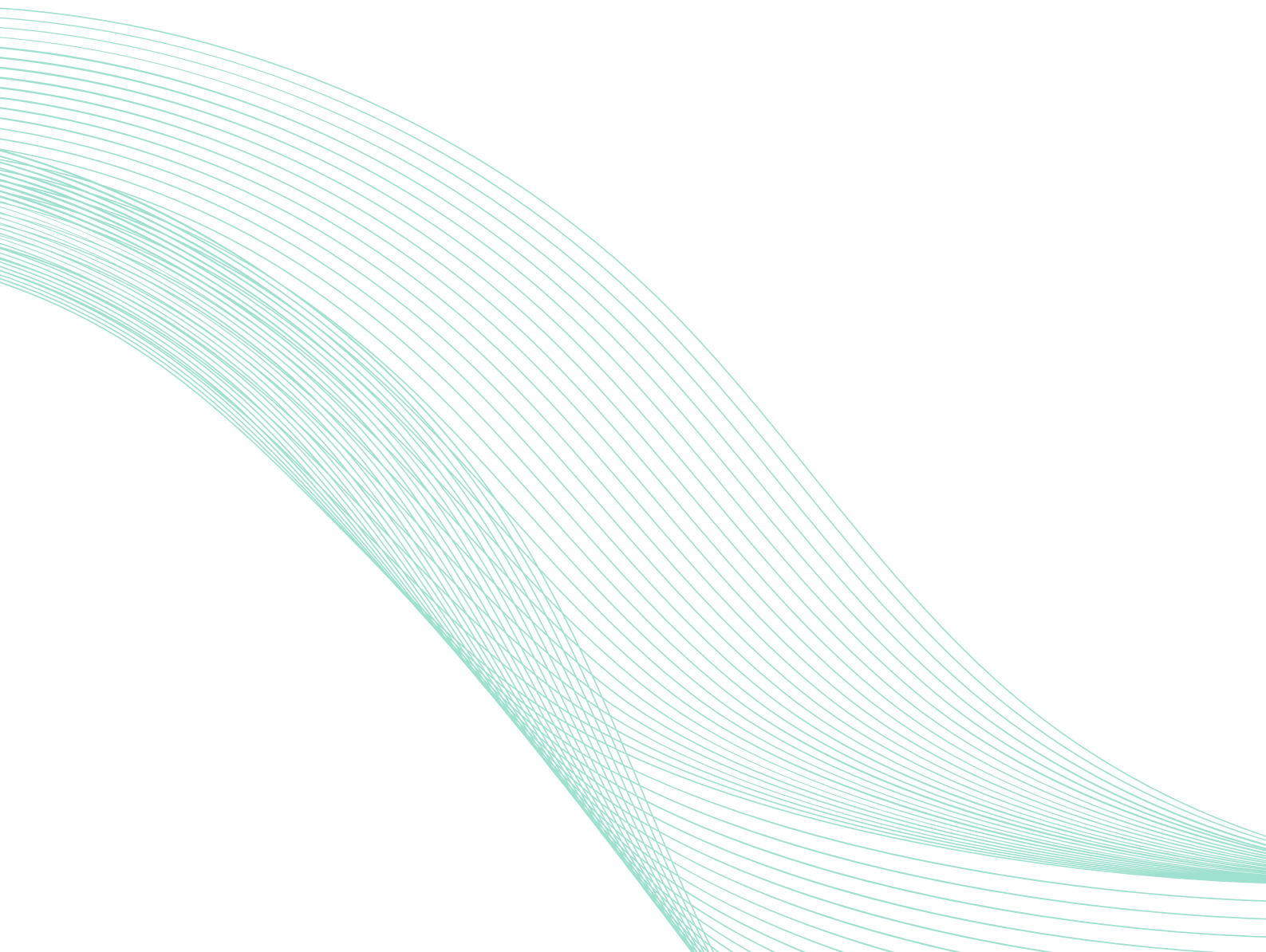


**European Institute of
Exercise and Health**



**Universitat d'Alacant
Universidad de Alicante**

CONCLUSIÓN



COMPOSICIÓN CORPORAL

Se observó una reducción en el peso corporal y el IMC en todos los grupos, lo que sugiere no hay diferencia entre intervenciones.

BIOPARÁMETROS

No se encontraron diferencias significativas en la **tensión arterial** entre los grupos, lo que indica que REFIX mantiene la estabilidad cardiovascular.

La reducción en los niveles de **glucosa** en los grupos REFIX sugiere un posible efecto beneficioso en el control glucémico. En el mismo sentido, la disminución en los niveles de **insulina** podría indicar una mejora en la sensibilidad a la insulina.

No se observaron cambios significativos en los **niveles de lípidos**, lo que indica que la intervención en los grupos REFIX no tiene un impacto negativo en este aspecto.

CUESTIONARIOS

Dieta cuantitativa: No hubo cambios significativos en los **hábitos alimentarios** durante el estudio, indicando que la intervención no altera los patrones de alimentación.

Ingesta de alcohol: La baja frecuencia de consumo de alcohol refuerza la validez de los resultados obtenidos, minimizando cualquier posible influencia en las variables de salud estudiadas.

Actividad física: Los niveles de actividad física **se mantuvieron** estables durante el estudio.

Calidad del sueño: No hubo diferencias significativas en la calidad del sueño entre los grupos, sugiriendo que la intervención en los grupos REFIX no impacta negativamente en este ámbito.

Escala de Bristol: La **mejora en la consistencia de las heces en los grupos REFIX refleja un potencial beneficio para la salud gastrointestinal.**

Estado de ánimo (POMS): Se observaron **aumentos en varias dimensiones** del estado de ánimo en los **grupos REFIX**, aunque sin diferencias significativas entre ellos, lo que puede indicar un efecto general positivo.

Calidad de vida (WHOQOL): No se observaron cambios significativos en la calidad de vida medida por el WHOQOL-BREF, lo que sugiere que los efectos de la intervención en los grupos REFIX pueden ser más sutiles o requerir un tiempo más prolongado para manifestarse significativamente.

Estrés percibido: Los niveles de estrés no mostraron cambios significativos.

Escala del perfil del estado de ánimo: Similar al POMS, no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el estado de ánimo entre los grupos.

Evaluación de los síntomas de estreñimiento (PAC-SYM): Se observaron **disminuciones significativas** en los síntomas de estreñimiento en los **grupos REFIX**, demostrando un efecto positivo en la función gastrointestinal.

Calidad de vida del paciente con estreñimiento (PAC-QOL): La intervención mostró una **mejora en la calidad de vida relacionada con el estreñimiento en los grupos REFIX.**

MARCADORES ORINA

Peso específico de la orina: La estabilidad en el peso específico refleja un mantenimiento adecuado de la hidratación.

Minerales (K⁺, Na⁺, Mg²⁺, Ca²⁺): Los incrementos en los niveles de sodio y magnesio sugieren un efecto positivo de la intervención en los grupos REFIX en el equilibrio electrolítico.

pH de la orina: La estabilidad en el pH de la orina indica que la intervención con REFIX no altera el equilibrio ácido-base.



MARCADORES MICROBIOTA

Las intervenciones con Refrix Limón y Refrix Naranja muestran efectos positivos en la microbiota intestinal, promoviendo la abundancia de bacterias muconutritivas y reguladoras que son beneficiosas para la salud intestinal y metabólica. Los cambios en las bacterias proteolíticas y *Methanobrevibacter smithii* son mínimos y no sugieren desequilibrios adversos, lo que indica que estas intervenciones son seguras y potencialmente beneficiosas para mantener un microbioma intestinal saludable.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Casa DJ, Stearns RL, Lopez RM, Ganio MS, McDermott BP, Walker Yeargin S, Yamamoto LM, Mazerolle SM, Roti MW, Armstrong LE, Maresh CM. Influence of hydration on physiological function and performance during trail running in the heat. *J Athl Train.* 2010 Mar-Apr;45(2):147-56. doi: 10.4085/1062-6050-45.2.147. PMID: 20210618; PMCID: PMC2838466.

Grandner MA, Patel NP, Gehrman PR, Xie D, Sha D, Weaver T, Gooneratne N. Who gets the best sleep? Ethnic and socioeconomic factors related to sleep complaints. *Sleep Med.* 2010 May;11(5):470-8. doi: 10.1016/j.sleep.2009.10.006. PMID: 20388566; PMCID: PMC2861987.

Asher Y Rosinger, Anne-Marie Chang, Orfeu M Buxton, Junjuan Li, Shouling Wu, Xiang Gao, Short sleep duration is associated with inadequate hydration: cross-cultural evidence from US and Chinese adults, *Sleep*, Volume 42, Issue 2, February 2019, zsy210, <https://doi.org/10.1093/sleep/zsy210>

Torres, S., Nowson, C., & Worsley, A. (2008). Dietary electrolytes are related to mood. *The British journal of nutrition*, 100 5, 1038-45 . <https://doi.org/10.1017/S0007114508959201>.

James, L., & Shirreffs, S. (2015). Effect of Electrolyte Addition to Rehydration Drinks Consumed After Severe Fluid and Energy Restriction. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 29, 521-527. <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000000657>.

Skevington, S., Lotfy, M., & O'Connell, K. (2004). The World Health Organization's WHOQOL-BREF quality of life assessment: Psychometric properties and results of the international field trial. A Report from the WHOQOL Group. *Quality of Life Research*, 13, 299-310.

Yang, S., Kuo, P., Wang, J., Lin, M., & Su, S. (2005). Quality of life and its determinants of hemodialysis patients in Taiwan measured with WHOQOL-BREF(TW). *American Journal of Kidney Diseases*, 46(4), 635-641.



Rias, Y., Kurniawan, A., Chang, C., Gordon, C., & Tsai, H. (2020). Synergistic effects of regular walking and alkaline electrolyzed water on decreasing inflammation and oxidative stress, and increasing quality of life in individuals with type 2 diabetes: A community based randomized controlled trial. *Antioxidants*, 9.

Moreira, T. C., Figueiró, L. R., Fernandes, S. P., Justo, F. M., Dias, I. R., Barros, H. M., & Ferigolo, M. (2013). Quality of life of users of psychoactive substances, relatives, and non-users assessed using the WHOQOL-BREF. *Ciencia & Saude Coletiva*, 18(7), 1953-1962.

Moreira, T., Leonhardt, D., & Conde, S. (2017). INFLUENCE OF DRINKING A PROBIOTIC FERMENTED MILK BEVERAGE CONTAINING BIFIDOBACTERIUM ANIMALIS ON THE SYMPTOMS OF CONSTIPATION.. *Arquivos de gastroenterologia*, 54 3, 206-210 . <https://doi.org/10.1590/S0004-2803.201700000-27>.

Tanaka, Y., Saihara, Y., Izumotani, K., & Nakamura, H. (2018). Daily ingestion of alkaline electrolyzed water containing hydrogen influences human health, including gastrointestinal symptoms. *Medical Gas Research*, 8, 160 - 166. <https://doi.org/10.4103/2045-9912.248267>.

Neri, I., Blasi, I., Castro, P., Grandinetti, G., Ricchi, A., & Facchinetti, F. (2004). Polyethylene glycol electrolyte solution (Isocolan) for constipation during pregnancy: an observational open-label study.. *Journal of midwifery & women's health*, 49 4, 355-8 . <https://doi.org/10.1016/J.JMWH.2004.03.007>.

Ostaszkiwicz, J., Hornby, L., Millar, L., & Ockerby, C. (2010). The Effects of Conservative Treatment for Constipation on Symptom Severity and Quality of Life in Community-Dwelling Adults. *Journal of Wound, Ostomy and Continence Nursing*, 37, 193-198. <https://doi.org/10.1097/WON.0b013e3181cf7206>.

Stanhope, K., Medici, V., Bremer, A., Lee, V., Lam, H. D., Nuñez, M. V., Chen, G. X., Keim, N., & Havel, P. (2015). A dose-response study of consuming high-fructose corn syrup-sweetened beverages on lipid/lipoprotein risk factors for cardiovascular disease in young adults. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 101(6), 1144-1154.

Ebbeling, C., Feldman, H., Steltz, S. K., Quinn, N., Robinson, L. M., & Ludwig, D. (2020). Effects of Sugar-Sweetened, Artificially Sweetened, and Unsweetened Beverages on Cardiometabolic Risk Factors, Body Composition, and Sweet Taste Preference: A Randomized Controlled Trial. *Journal of the American Heart Association: Cardiovascular and Cerebrovascular Disease*, 9.



Bergin, P., Leggett, A., Cardwell, C.R. et al. The effects of vitamin E supplementation on malondialdehyde as a biomarker of oxidative stress in haemodialysis patients: a systematic review and meta-analysis. *BMC Nephrol* 22, 126 (2021). <https://doi.org/10.1186/s12882-021-02328-8>

Lei WT, Huang KY, Jhong JH, Chen CH, Weng SL. Metagenomic analysis of the gut microbiome composition associated with vitamin D supplementation in Taiwanese infants. *Sci Rep.* 2021 Feb 3;11(1):2856. doi: 10.1038/s41598-021-82584-8. PMID: 33536562; PMCID: PMC7859236.

Gaweł S, Wardas M, Niedworok E, Wardas P. Dialdehyd malonowy (MDA) jako wskaźnik procesów peroksydacji lipidów w organizmie. Malondialdehyde (MDA) as a lipid peroxidation marker. *Wiad Lek.* 2004;57(9-10):453-5. Polish. PMID: 15765761.

Henning T, Weber D. Redox biomarkers in dietary interventions and nutritional observation studies - From new insights to old problems. *Redox Biol.* 2021 May;41:101922. doi: 10.1016/j.redox.2021.101922. Epub 2021 Mar 3. PMID: 33756398; PMCID: PMC8020480.