

Tesis Doctoral

La Variabilidad de la Frecuencia Cardíaca como indicador del sistema nervioso autónomo. Efecto del ejercicio físico en adultos.



PROGRAMA DE DOCTORADO EN BIOMEDICINA
DEPARTAMENTO DE EDUCACIÓN FÍSICA Y DEPORTIVA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL DEPORTE
UNIVERSIDAD DE GRANADA

Doctorando

Ginés Navarro Lomas

Director

Francisco J. Amaro Gahete

2022

PROGRAMA DE DOCTORADO EN BIOMEDICINA
DEPARTAMENTO DE EDUCACIÓN FÍSICA Y DEPORTIVA
FACULTAD DE CIENCIAS DEL DEPORTE
UNIVERSIDAD DE GRANADA

La Variabilidad de la Frecuencia Cardíaca como indicador del sistema nervioso autónomo. Efecto del ejercicio físico en adultos.

Ginés Navarro Lomas

Director

Francisco J. Amaro Gahete

PhD, MD

Profesor Contratado Doctor Indefinido

Universidad de Granada

Granada, 18 octubre de 2022

Editor: Universidad de Granada. Tesis Doctorales
Autor: Ginés Navarro Lomas
ISBN: 978-84-1117-611-8
URI: <https://hdl.handle.net/10481/79175>



Dr. Francisco J. Amaro Gahete
Profesor Contratado Doctor Indefinido

Dpto. de Educación Física y Deportiva
Facultad de Ciencias del Deporte
Universidad de Granada

FRANCISCO J. AMARO GAHETE, PROFESOR CONTRATADO DOCTOR INDEFINIDO
DE LA UNIVERSIDAD DE GRANADA

CERTIFICA:

Que la Tesis Doctoral titulada “La Variabilidad de la Frecuencia Cardíaca como indicador del sistema nervioso autónomo. Efecto del ejercicio físico en adultos.” que presenta **D^a. GINÉS NAVARRO LOMAS** al superior juicio del Tribunal que designe la Universidad de Granada, ha sido realizado bajo mi dirección durante los años 2020-2022, siendo expresión de la capacidad técnica e interpretativa de su autor en condiciones tan aventajadas que le hacen merecedor del Título de Doctor, siempre y cuando así lo considere el citado Tribunal.

Fdo. Francisco J. Amaro Gahete

Granada, 18 octubre de 2022



El doctorando D. Ginés Navarro Lomas y el director de la tesis D. Francisco J. Amaro Gahete:

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

Directores de la Tesis

Doctorando

Fdo. Francisco J. Amaro Gahete Fdo. Ginés Navarro Lomas

Granada, 18 octubre de 2022

ÍNDICE

Proyectos y financiación	1
Abreviaturas	3
Tablas	5
Figuras	6
Resumen / Abstract	8
INTRODUCCIÓN	13
¿Qué es la variabilidad de frecuencia cardíaca?	15
Determinantes de la variabilidad de frecuencia cardíaca	16
Análisis de la variabilidad de frecuencia cardíaca	19
Factores que modulan la variabilidad de frecuencia cardíaca	25
OBJETIVOS E HIPÓTESIS	31
MATERIAL Y MÉTODOS	35
Diseño experimental	37
Participantes	38
Protocolos de entrenamiento	46
Variables dependientes	66
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	71
LIMITACIONES Y FORTALEZAS	137
CONCLUSIÓN Y PERSPECTIVAS FUTURAS	143
REFERENCIAS	147
CURRICULUM VITAE	163
AGRADECIMIENTOS	170

PROYECTOS Y FINANCIACIÓN

Proyectos y Financiación

El soporte económico de la presente Tesis Doctoral ha sido otorgado a través de la financiación de dos proyectos de investigación de los cuales han derivado los resultados de la misma:

- (i) FIT-AGEING, parcialmente financiado por la “Junta de Andalucía” (B-CTS-363-UGR18).
- (ii) BEER-HIIT, parcialmente financiado por el Centro de Información Cerveza y Salud (CICS, Madrid, Spain)

Abreviaturas

ANCOVA: análisis de la covarianza

ANOVA: análisis de la varianza

BMI: índice de masa corporal

cm: centímetros

dL: decilitros

DXA: Absorptiometría Dual de Rayos-X

EDTA: ácido etilendiaminotetraacético

EMS: electromioestimulación de cuerpo completo

F: análisis de la varianza

FC: frecuencia cardíaca

FCR: frecuencia cardíaca de reserva

FMI: índice de masa grasa

HDL-C: colesterol de alta densidad

HF: *High Frequency* – Banda de alta frecuencia (0.15 y 0.4 Hz)

HIIT: grupo que realiza entrenamiento interválico de alta intensidad

HIIT+EMS: grupo que realiza entrenamiento interválico de alta intensidad combinado con electromioestimulación de cuerpo completo

HRV: variabilidad de frecuencia cardíaca

Hz: hercios

LF: *Low Frequency* – Banda de baja frecuencia (0.04-0.015 Hz)

LMI: índice de masa muscular

Ln: transformación logarítmica

lpm: latidos por minuto

ABREVIATURAS

mA: miliamperios

mg: miligramos

mmHG: milímetros de mercurio

mL: mililitros

ms: milisegundos

N-T: grupo que no realiza entrenamiento en el estudio BEER-HIIT

OMS: Organización Mundial de la Salud

P: nivel de significación

PAR: grupo que realiza entrenamiento en base a las recomendaciones de la organización mundial de la salud

PNN50: porcentaje de sucesivos intervalos R-R que difieren entre sí más de 50 ms

Ratio LF/HF: Ratio entre frecuencias altas y bajas

Ratio S/PS: ratio simpático/parasimpático

R²: coeficiente de determinación ajustado

RM: repetición máxima

RMSSD: raíz cuadrada de la media de la suma de los cuadrados de las diferencias entre intervalos R-R

SD1: Desviación estándar perpendicular a la línea de identidad del Gráfico de Poincaré

SD2: Desviación estándar paralela a la línea de identidad del Gráfico de Poincaré

SDNN: desviación estándar de los intervalos R-R

SNA: sistema nervioso autónomo

SNP: sistema nervioso parasimpático

SNS: sistema nervioso simpático

SS: Stress Score

T: grupos que realizan entrenamiento en el estudio BEER-HIIT

T-0.0 Beer: grupo que realiza entrenamiento e ingiere cerveza sin alcohol

T-Beer: grupo que realiza entrenamiento e ingiere cerveza sin alcohol

T-Ethanol: grupo que realiza entrenamiento e ingiere agua con gas con vodka diluido

T-Water: grupo que realiza entrenamiento e ingiere agua con gas

UI: unidades internacionales.

VAT: tejido adiposo visceral

VO₂max: consumo máximo de oxígeno

%: porcentaje

>: mayor que

η²: eta cuadrática parcial

β: coeficiente de regresión estandarizado

π: la proporción de observaciones incluidas en el intervalo

RESUMEN/ABSTRACT

Tablas

Tabla 1. Parámetros de HRV en dominio temporal

Tabla 2. Parámetros de HRV en dominio frecuencia

Tabla 3. Parámetros de HRV obtenidos del Gráfico de Poincaré

Tabla 4. Criterios de inclusión y exclusión del proyecto FIT-AGEING

Tabla 5. Criterios de inclusión y exclusión del proyecto BEER-HIIT

Tabla 6. Periodización del entrenamiento PAR

Tabla 7. Periodización del entrenamiento HIIT

Tabla 8. Parámetros eléctricos entrenamiento HIIT+EMS

Tabla 9. Periodización del programa de entrenamiento BEER-HIIT

Tabla 10. Variables dependientes

Tabla 11. Corrección de valores de HRV en los estudios FIT-AGEING y BEER-HIIT

Tabla 12. Valores descriptivos de las variables del estudio

Tabla 13. Intervalos de aceptación para SS y Ratio Simpático / Parasimpático categorizando por grupos de edad

Tabla 14. Lista de verificación de información CONSORT 2010 al reportar un ensayo aleatorizado

Tabla 15. Valores descriptivos segmentados por grupos de intervención en el estudio FIT-AGEING

Tabla 16. Análisis de regresión lineal entre los cambios en composición corporal e índice de riesgo cardiometabólico con cambios en parámetros de variabilidad de frecuencia cardíaca

Tabla 17. Valores descriptivos segmentados por grupos de intervención en el estudio BEER-HIIT

Figuras

Figura 1. Intervalo R-R

Figura 2. Gráfico de Poincaré

Figura 3. Diagrama de flujo de participantes en el estudio FIT-AGEING.

Figura 4. Diagrama de flujo de participantes en el estudio BEER-HIIT.

Figura 5. Asociación entre SD1 con SDNN, RMSSD, PNN50, HF, LF, Ratio LF/HF, SD2 y Ratio SD2/SD1.

Figura 6. Asociación entre SD2 con SDNN, RMSSD, PNN50, HF, LF, Ratio LF/HF, SD2 y Ratio SD2/SD1.

Figura 7. Asociación entre SS con SDNN, RMSSD, PNN50, HF, LF, Ratio LF/HF, SD2 y Ratio SD2/SD1.

Figura 8. Asociación entre Ratio S/PS con SDNN, RMSSD, PNN50, HF, LF, Ratio LF/HF, SD2 y Ratio SD2/SD1.

Figura 9. Asociación de la edad con SS y Ratio S/PS para el 90% central de la distribución de cada variable dependiente.

Figura 10. Diferencias entre sexos en SS y Ratio S/PS.

Figura 11. Diagrama de flujo de la participación en el estudio FIT-AGEING.

Figura 12. Cambios en FC y parámetros de HRV tras la intervención en los cuatro grupos en el estudio FIT-AGEING.

Figure 13. Cambios brutos en FC y HRV tras la intervención en los cuatro grupos en el estudio FIT-AGEING.

Figure 14. Cambios brutos en parámetros de HRV corregidos en función de la media de los intervalos R-R tras el estudio de intervención en los cuatro grupos en el estudio FIT-AGEING

Figura 15. Diagrama de flujo de la participación en el estudio FIT-AGEING.

RESUMEN/ABSTRACT

Figura 16. Cambios en FC y parámetros de HRV tras la intervención en los cinco grupos en el estudio BEER-HIIT.

Figure 17. Cambios brutos en FC y HRV tras la intervención en los cinco grupos en el estudio BEER-HIIT.

Figure 18. Cambios brutos en parámetros de HRV corregidos en función de la media de los intervalos R-R tras el estudio de intervención en los cinco grupos en el estudio BEER-HIIT.

Resumen

Antecedentes: La Variabilidad de la Frecuencia Cardíaca (HRV, del inglés *Heart Rate Variability*) analiza las diferencias entre sucesivos intervalos R-R en la función cardíaca, siendo un fiel reflejo de la adaptabilidad cardíaca y, especialmente, del estado del Sistema Nervioso Autónomo. Existe evidencia científica de que una mayor HRV se asocia con un menor tono simpático y niveles de estrés, mientras que una menor HRV se relaciona directamente con una mayor morbi-mortalidad en humanos. Estudios previos han reportado que el ejercicio físico incrementa HRV. Sin embargo, se desconoce si diferentes metodologías de entrenamiento afectan de forma similar o no a HRV. Por tanto, es de interés científico y clínico comprender el potencial de HRV como un marcador de salud, y el efecto que distintos tipos de ejercicio físico tienen sobre la misma.

Objetivo e hipótesis: El objetivo principal de la presente Tesis Doctoral es analizar el efecto de distintos programas de ejercicio físico sobre la HRV en adultos sedentarios. Se hipotetiza que (i) HRV mejorará tras la realización de diferentes programas de ejercicio físico en adultos sedentarios de mediana edad, especialmente en aquellos entrenamientos basados en la realización de intervalos de alta intensidad; y que (ii) HRV se verá incrementada tras la realización de un programa HIIT en adultos sedentarios jóvenes, independientemente de la ingesta diaria moderada de alcohol.

Material y métodos: Un total de 156 adultos (74 mujeres) participaron en la presente tesis doctoral incluyendo adultos de mediana edad (45-65 años; participantes del proyecto FIT-AGEING) y adultos jóvenes (18-40 años; participantes del proyecto BEER-HIIT). Los participantes del proyecto FIT-AGEING fueron aleatorizados en 4 grupos: (i) grupo control, (ii) grupo de entrenamiento PAR, (iii) grupo de entrenamiento HIIT, y (iv) grupo de entrenamiento HIIT+EMS. Los participantes del proyecto BEER-HIIT conformaron diferentes grupos que llevaron a cabo un programa de entrenamiento HIIT combinado con la ingesta diaria moderada alcohol. HRV fue analizada antes y después de cada intervención en condiciones de reposo,

RESUMEN/ABSTRACT

empleando el pulsómetro Polar RS800CX y el software HRV Kubios®. Además, se calcularon y validaron las variables Stress Score (SS) y Ratio Simpático/Parasimpático (Ratio S/PS) como indicadores de la actividad simpática y del balance autónomo ambas cohortes. Igualmente, se obtuvieron valores de referencia segmentados por grupos de edad empleando intervalos de aceptación de dichas variables.

Resultados: En adultos de mediana edad, parámetros de HRV relacionados con incrementos de actividad del sistema nervioso parasimpático y reducción de actividad del sistema nervioso simpático son modificados por igual en todos los grupos de ejercicio físico (todas $p < 0.001$). Además, los cambios observados en los adultos de mediana edad tras la intervención en HRV se relacionan con los cambios inducidos por el ejercicio físico en composición corporal (incluyendo el índice de masa muscular, índice de masa grasa y tejido adiposo visceral) y riesgo cardiometabólico (todas $p < 0.034$). En adultos jóvenes, el entrenamiento tipo HIIT no generó cambios significativos en los parámetros de HRV analizados (todas $p > 0.380$).

Conclusión: La presente tesis doctoral pone de manifiesto la importancia del ejercicio físico en la mejora de HRV en adultos de mediana edad, una mejora que a su vez se relaciona directamente con otros biomarcadores de salud tales como la composición corporal y el riesgo cardiometabólico. Sin embargo, la realización de un programa de entrenamiento HIIT basado en ejercicios con autocargas no generó cambios en HRV en adultos jóvenes.

Abstract

Background: Heart Rate Variability (HRV) describes differences between successive heartbeats. HRV reflects cardiac adaptability and the autonomic nervous system status. Higher HRV has been related to reduced stress levels and increased life expectancy, while a decreased HRV is usually associated with superior rates of morbidity and mortality. Previous studies have reported that physical exercise affects HRV. Nevertheless, it is currently unknown whether different physical exercise methodologies similarly influence HRV or not. Hence, understanding HRV's role as a health indicator and the effects of different training methodologies on their related parameters has scientific and clinical relevance.

Aims and hypothesis: The principal aim of this Doctoral Thesis is to analyze the effect of different training programs on HRV in sedentary adults. We hypothesize that (i) physical exercise significantly will increase HRV in sedentary middle-aged adults, especially in those training programs based on high intensity intervals; and that (ii) HRV will be improved in young adults after the HIIT intervention independently of the daily ingestion of a moderate dose of alcohol.

Material and methods: 156 adults (74 women) participated in this study. Participants were: (i) middle-aged adults (45–65 years old) from the FIT-AGEING research project; or (ii) young adults (18–40 years old) from the BEER-HIIT study. Participants from the FIT-AGEING study were randomly assigned to 4 groups: (a) a control group (no exercise), (b) a PAR group, (c) a HIIT group, and (d) a HIIT + EMS group. Participants from the BEER-HIIT study were allocated to different intervention groups that completed a HIIT training program combined with a daily but moderate dose of alcohol. HRV was measured before and after each intervention in resting conditions. HRV was recorded with Polar RS800CX and analyzed with the software HRV Kubios[®]. SS (i.e., a sympathetic related HRV outcome) and S/PS Ratio (i.e., an autonomic balance index) were calculated and validated, obtaining reference values for both variables in adults through acceptance intervals.

RESUMEN/ABSTRACT

Results: Increases in vagal-related HRV parameters and decrements in HRV parameters related to sympathetic activity were observed in all training groups in middle-aged adults (all $p < 0.001$). Moreover, exercise-induced changes were related to changes in body composition (i.e., lean mass index, fat mass index, and visceral adipose tissue) and cardiometabolic risk (all $p < 0.034$). No changes were observed in HRV parameters in young adults after the intervention program (all $p > 0.380$).

Conclusion: The results from this doctoral thesis suggest the relevance of physical exercise aiming to improve HRV in middle-aged adults. These enhancements are directly related to exercise-induced changes in other health-related markers (i.e., body composition and cardiometabolic risk). Nevertheless, a 10-week HIIT intervention based on weight-bearing exercises in a circuit form did not have a significant impact on HRV parameters in healthy young adults.

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

Introducción

¿Qué es la variabilidad de frecuencia cardíaca?

La frecuencia cardíaca (FC) define el número de latidos del corazón por minuto. Sin embargo, el corazón de un individuo sano no es un metrónomo, ya que aparecen diferencias en sus ciclos y patrones de funcionamiento. En este contexto, aparece el estudio de la variabilidad de frecuencia cardíaca (HRV, del inglés *Heart Rate Variability*), centrada en analizar las diferencias temporales entre sucesivos latidos cardíacos, concretamente, entre los intervalos R-R del comportamiento electrocardiográfico del corazón, representados en la Figura 1 (Task force of the European Society of Cardiology and the North American Society for Pacing and Electrophysiology 1996; Navarro-Lomas y cols. 2020).

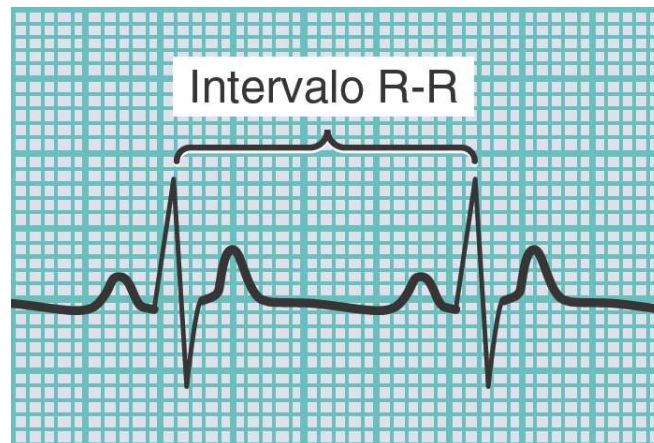


Figura 1. Intervalo R-R. Adaptado de Tortora & Derrickson (2018)

El análisis de estas variaciones cobró un notorio protagonismo en el campo de la medicina donde, en la Antigua Grecia hace más de 2.000 años, ya se estudiaba la fisiología cardíaca. La aparición de los electrocardiogramas, en 1895, y la llegada de la era digital y el procesamiento de la información, hace que, desde la década de 1960, el análisis de HRV cobre protagonismo en el ámbito de la salud y la enfermedad (Billman, 2011). Desde entonces, aparece una continua evolución en la comprensión de los mecanismos implicados en HRV, con especial relevancia de la publicación del estudio de la "*Task Force of the European Society of Cardiology and the North American Society of Pacing and Electrophysiology*", en 1996, que determina los estándares de medida e

interpretación fisiológica de HRV (Ernst, 2017; Task force of the European Society of Cardiology and the North American Society for Pacing and Electrophysiology, 1996).

Determinantes de la variabilidad de frecuencia cardíaca

El cuerpo humano puede entenderse como la interacción de diferentes sistemas individuales, pero dependientes entre sí, formando un sistema complejo, aproximación fundamental para comprender la fisiología humana (Ernst, 2017). En este sentido, las diferencias entre sucesivos latidos cardíacos se ven influenciadas de una manera no lineal por factores tanto internos como externos (Ernst, 2017). Dichos factores incluyen al sistema nervioso autónomo (SNA), así como el sistema cardiovascular, nervioso central, endocrino, respiratorio, barorreceptor y quimiorreceptor, además de información proporcionada por el córtex cerebral y el sistema límbico (Shaffer & Ginsberg, 2017).

Sistema Nervioso Autónomo.

El SNA - cuyo control central se localiza en el hipotálamo - forma parte del Sistema Nervioso Periférico. Entre otras funciones, el SNA se encarga del control de tareas involuntarias tales como el patrón cardíaco, el control respiratorio o el funcionamiento de la musculatura lisa. El objetivo final es mantener la homeostasis del organismo a través de una relación entre sus dos componentes: el sistema nervioso simpático (SNS), y el sistema nervioso parasimpático (SNP) (Llácer, 2021).

La relación entre SNP y SNS es compleja ya que, dependiendo de circunstancias contextuales, el incremento de la actividad del SNP puede ir asociado a un incremento, una reducción o a la no modificación de la actividad de SNS (Billman et al., 2015; Shaffer & Ginsberg, 2017). La FC representa el efecto neto del SNP - que ralentiza la FC - y el SNS - que acelera la misma - prevaleciendo en situación de reposo la actividad del SNP (Shaffer & Ginsberg, 2017).

El vago es el principal nervio del SNP, el cual se encarga de inervar el sistema cardíaco intrínseco, el nódulo sinoatrial, el nódulo auriculoventricular y la

INTRODUCCIÓN

musculatura auricular cardíaca (Ernst, 2017). Un aumento en la actividad del nervio vago genera un incremento en la descarga de acetilcolina y la activación de los receptores muscarínicos (especialmente M2), lo cual reduce la ratio de despolarización de los nódulos sinusales y auriculoventriculares y, consecuentemente, produciendo una reducción de la FC (Ernst, 2017).

En contraste, un incremento de la actividad del SNS es la principal vía de aumento de la FC (Ernst, 2017). A través de la inervación de los nódulos sinoatriales y auriculoventriculares mediante el sistema nervioso cardíaco intrínseco y la musculatura cardíaca (i.e., miocardio), se producen potenciales de acción que desencadenan la liberación de norepinefrina y epinefrina, y su unión a los receptores beta-adrenérgicos β_1 ubicados en las fibras musculares cardíacas (Ernst, 2017). Todo ello, conjuntamente, acelera las despolarizaciones de los nódulos sinoatriales y auriculoventriculares, incrementando la FC y aumentando la contractibilidad de las aurículas y los ventrículos (Ernst, 2017).

Ambas ramas del SNA pueden estar activas simultáneamente y trabajar de forma conjunta con el sistema motor somático para regular el comportamiento cardíaco, tanto en condiciones de reposo como ante estímulos estresores (Ernst, 2017). Pese a ello, en el análisis de HRV, siguiendo la teoría propuesta por William Cannon a inicios del s. XX, se ha asumido una asociación estipulada entre ambos sistemas, donde una elevada actividad del SNS es correspondida con una baja actividad del SNP y *viceversa* (Cannon, 1992; Ernst, 2017).

Otros factores condicionantes.

Tomando como referencia la revisión publicada por Ernst (2017), además del SNA, aparecen otros mecanismos que afectan a HRV y que se describen a continuación.

Nódulo sinoatrial.

El nódulo sinoatrial, que supone el origen del ritmo cardíaco en condiciones fisiológicas, posee células con capacidad de autoorganización a través de neuronas cardíacas localizadas en el corazón y neuronas intrínsecas e intratorácicas (Bergfeldt & Haga, 2003). Todas ellas forman una red controlada

tanto por el tronco encefálico como por neuronas de la medula espinal que procesan esta información y controlan el funcionamiento cardíaco (Armour, 2008). Además, las mismas poseen memoria en relación a los últimos eventos cardiovasculares acontecidos en anteriores ciclos cardíacos, influenciando los siguientes impulsos (Armour, 2008).

Sistema respiratorio.

La arritmia sinusal respiratoria describe la fluctuación de la FC durante el ciclo respiratorio. Es dependiente de la influencia del SNP en el corazón y observable en la banda de frecuencia de entre 0.15 y 0.4 Hz. Normalmente, esta arritmia se interpreta como un reflejo de la actividad del SNP a diferentes niveles, incluyendo fluctuaciones de presión sanguínea debido a cambios en la presión intratorácica durante el ciclo respiratorio (Brown et al., 1993; Draghici & Taylor, 2016), así como el acoplamiento del ritmo respiratorio a las neuronas vagales que se encuentran en el corazón (Hayano et al., 1996; Malpas, 2002). Estudios previos postulan que la influencia del tipo y volumen de respiración podría afectar a parámetros de HRV ligados con la actividad del SNP (Wessel et al., 2009), aunque otros trabajos sugieren que se trata de una afirmación cuestionable que requiere un mayor número de investigaciones (Hill et al., 2009; Plaza-Florido et al., 2021).

Sistema endocrino.

Diversas patologías del sistema endocrino se asocian a alteraciones en los parámetros de HRV incluyendo, entre otros, una mayor concentración de cortisol (correlación negativa con parámetros que indican activación del SNP), estrógenos (incremento de parámetros que indican activación del SNP) o progesterona (incremento de parámetros que indican activación del SNS).

Sistema inmunológico.

Infecciones, lesiones y otras patologías sistémicas generan reacciones pro inflamatorias en el organismo, cuyo fin es recuperar la homeostasis. Esta respuesta se basa en una compleja combinación de diferentes mecanismos que contribuyen a neutralizar patógenos, regenerar tejidos dañados y cicatrizar

INTRODUCCIÓN

heridas (Pavlov & Tracey, 2005) a través de mediadores proinflamatorios (e.g., interleucina 1 o el factor de necrosis tumoral Alpha), mediadores vasoactivos y especies reactivas de oxígeno (Ernst, 2017).

Esta descarga de citoquinas modula la actividad del SNP (Cooper et al., 2015; Ernst, 2017) inhibiéndolo (Marstrand et al., 2007). Además, la activación del sistema renina-angiotensina-aldosterona se asocia con un incremento de la actividad del SNS, resultando en efectos deletéreos a largo plazo sobre el sistema cardiovascular (Pittaras & Kheirbek, 2013). De hecho, en numerosas patologías que cursan con inflamación crónica subclínica, también se observa una mayor FC de reposo y una reducción de los valores de HRV asociados a la actividad del SNP (Benichou et al., 2018; Carnethon et al., 2008; Task force of the European Society of Cardiology and the North American Society for Pacing and Electrophysiology, 1996).

Función metabólica.

Numerosos estudios han puesto de manifiesto que la resistencia a la insulina se produce en un contexto fisiológico caracterizado por un incremento de los niveles de múltiples parámetros inflamatorios (Pontiroli et al., 2004). Además, las células beta pancreáticas son inervadas tanto por neuronas del SNS y del SNP. El rol del SNP en estas células es determinado por la acetilcolina y sus respectivos receptores muscarínicos, mientras que la del SNS aparece a través de sus receptores adrenérgicos α_2 . Este proceso provoca una reducción en la liberación de la insulina, lo que provoca la estimulación de receptores adrenérgicos β , generando una mayor descarga de insulina (Ahrén et al., 1986; Kahn et al., 2006).

Análisis de la variabilidad de frecuencia cardíaca

En el estudio de HRV resulta fundamental seleccionar qué variables son las más propicias en su análisis. Dicha decisión dependerá del objetivo del estudio en cuestión (Laborde et al., 2017). Concretamente, los análisis de HRV se pueden realizar en el dominio temporal, dominio frecuencia y análisis no lineales (Laborde et al., 2017; Task force of the European Society of Cardiology and the

North American Society for Pacing and Electrophysiology, 1996), los cuales se detallan en los siguientes epígrafes.

Dominio temporal.

Este análisis cuantifica la variabilidad en las mediciones temporales de los intervalos entre intervalos R-R. Los valores obtenidos se pueden expresar o bien en sus unidades originales, o bien proceder con su transformación logarítmica con el objetivo de obtener una distribución normal de los datos. Las medidas más comunes aparecen en la Tabla 1:

Tabla 1. Parámetros de HRV en dominio temporal

Dominio	Variable	Descripción	Implicaciones fisiológicas
Tiempo	SDNN	Desviación estándar de los intervalos R-R	En medidas de 24 horas refleja el balance del SNA. En medidas más cortas se relaciona con la actividad del SNP. Este valor es un predictor de morbi-mortalidad, pues valores <50ms representan alto riesgo en términos de salud cardiovascular, valores entre 50 y 100ms representan riesgo moderado y valores superiores a 100 ms un óptimo estado de salud cardiovascular
	RMSSD	Raíz cuadrada de la media de la suma de los cuadrados de las diferencias entre intervalos R-R	Robusta relación con la actividad del SNP, reflejando la variabilidad entre latidos y como afectan los cambios en la actividad del SNP a HRV
	PNN50	Porcentaje de intervalos R-R sucesivos que difieren más de 50 ms	Robusta relación con la actividad del SNP. Correlación con RMSSD, aunque este otorga un mejor análisis de la arritmia sinusal respiratoria

Abreviaturas: PNN50; porcentaje de sucesivos intervalos R-R que difieren entre sí más de 50 ms, RMSSD; raíz cuadrada de la media de la suma de los cuadrados de las diferencias entre intervalos R-R, SDNN; desviación estándar de los intervalos R-R, SNP; sistema nervioso parasimpático, HRV; variabilidad de frecuencia cardíaca

INTRODUCCIÓN

Dominio frecuencia.

Este análisis estima la distribución de potencia absoluta y relativa en diversas bandas de frecuencia. En función de la vía empleada para separar sus componentes, los análisis de frecuencia pueden realizarse a través de la transformación de Fast Fourier (FFT) o el modelo autorregresivo (AR). En este dominio aparecen, aparecen, entre otras, las medidas señaladas en la Tabla 2:

Tabla 2. Parámetros de HRV en dominio frecuencia

Dominio	Variable	Descripción	Implicaciones fisiológicas
Frecuencia	HF	<i>High Frequency</i> Banda de alta frecuencia (0.15 y 0.4 Hz)	HF refleja la modulación del SNP sobre la FC (con influencias del ciclo respiratorio, aunque la misma no afecte a la actividad del SNP). Muestra correlación con RMSSD y PNN50, aunque HF está más afectado por la respiración. Valores disminuidos se asocian con estrés, pánico, ansiedad o preocupación y, en general, mayor morbilidad
	LF	<i>Low Frequency</i> Banda de baja frecuencia (0.04-0.015 Hz)	Aunque se consideraba un marcador del SNS, la banda LF se ve influida tanto por el SNS como el SNP, además de por el sistema barorreflejo
	LF/HF	Ratio entre frecuencias altas y bajas	Esta ratio asume que LF es influenciado por el SNS mientras que HF lo es por el SNP, señalando de ese modo el balance entre SNS y SNP. Un menor LF/HF reflejaría dominancia del SNP. No obstante, LF no es un indicador fiable del SNS (influye el SNP y otros factores, además de las relaciones complejas y no lineales entre SNS y SNP), por lo que LF/HF no reflejaría de forma óptima el balance autónomo.

Abreviaturas: HF; High Frequency, LF; Low Frequency, PNN50; porcentaje de sucesivos intervalos R-R que difieren entre sí más de 50 ms, RMSSD; raíz cuadrada de la media de la suma de los cuadrados de las diferencias entre intervalos R-R, SNP; sistema nervioso parasimpático, Hz; hercios, FC; frecuencia cardíaca, SNS; sistema nervioso simpático.

Cabe citar otras medidas de este dominio, tales como *Ultra Low Frequency* (≤ 0.003 Hz), indicador de diversos procesos biológicos tales como los ritmos circadianos, el sistema renina-angiotensina, la temperatura corporal o el metabolismo; o *Very Low Frequency* (0.0033-0.04 Hz), considerado un predictor de mortalidad más preciso que LF o HF.

Medidas no lineales.

Estas medidas permiten cuantificar la impredecibilidad de las secuencias temporales (Stein & Reddy, 2005), ya que la fisiología humana es producto de la interacción de diferentes sistemas con carácter no lineal, formando un sistema complejo. De hecho, diversos investigadores han sugerido que las aproximaciones no lineales podrían ser más adecuadas y precisas que las lineales en el análisis de HRV (Piskorski & Guzik, 2005). Entre estas medidas aparece el Gráfico de Poincaré (Laborde et al., 2017), el cual relaciona la diferencia temporal de un intervalo R-R con el intervalo inmediatamente anterior. Este gráfico ilustra de forma cuantitativa y cualitativa el comportamiento cardíaco en forma de elipse. En el análisis de dicha elipse aparecen dos parámetros lineales en el análisis de la desviación estándar perpendicular (SD1) y longitudinal (SD2) a dicha elipse, de donde se obtienen las medidas que aparecen en la Tabla 3.

INTRODUCCIÓN

Tabla 3. Parámetros de la HRV obtenidos del gráfico de Poincaré

Dominio	Variable	Descripción	Implicaciones fisiológicas
No lineal	SD1	Desviación estándar perpendicular a la línea de identidad del Gráfico de Poincaré	SD1 refleja la actividad del SNP. Es una medida equivalente a RMSSD, que además correlaciona con la presión sanguínea diastólica, PNN50, SDNN y HF
	SD2	Desviación estándar paralela a la línea de identidad del Gráfico de Poincaré	No está clara su implicación fisiológica, aunque SD2 ha sido relacionada de forma inversa con la actividad del SNS.
	Ratio SD2/SD1	Ratio entre SD2 Y SD1	La ratio $SD2/SD1$, mide la impredecibilidad de la secuencia temporal de la serie R-R, determinando el balance autónomo y mostrando relación con la ratio LF/HF. Sin embargo, dado que SD1 y SD2 no reflejan aisladamente SNS y SNP, no es un parámetro adecuado para el análisis del balance autónomo

Abreviaturas: HF; high frequency, PNN50; porcentaje de sucesivos intervalos R-R que difieren entre sí más de 50 ms, RMSSD; raíz cuadrada de la media de la suma de los cuadrados de las diferencias entre intervalos R-R, SD1; Desviación estándar perpendicular a la línea de identidad del Gráfico de Poincaré, SD2; Desviación estándar paralela a la línea de identidad del Gráfico de Poincaré, SDNN; desviación estándar de los intervalos R-R, SNP; sistema nervioso parasimpático, HRV; variabilidad de frecuencia cardíaca

En la siguiente figura (figura 2) se puede observar un ejemplo de Gráfico de Poincaré:

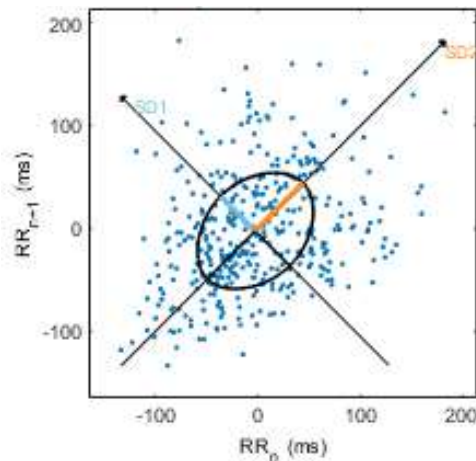


Figura 2. Gráfico de Poincaré

En estos análisis no lineales cabe citar otros parámetros tales como: (i) la *entropía aproximada*, que mide la regularidad y complejidad de la serie temporal, con mayores valores asociados a una menor predictibilidad de la fluctuación entre sucesivos intervalos R-R, mientras que valores reducidos implican una señal regular y predecible, (ii) la *entropía simple*, que busca una medida fiable, regular y compleja de similar interpretación pero con una información menos sesgada, o (iii) el *análisis de fluctuación sin tendencia*, que representa la correlación entre sucesivos intervalos R-R en escalas temporales generando dos pendientes (la pendiente α_1 describe fluctuaciones a corto plazo y se relaciona con el reflejo barorreceptor, mientras que la pendiente α_2 refleja las fluctuaciones a largo plazo y, por tanto, los mecanismos que regulan las fluctuaciones del ciclo cardiaco).

Dentro de este tipo de análisis, Naranjo-Orellana y cols. (2015) propone dos nuevos índices para el análisis de HRV basados en el Gráfico de Poincaré con el objeto de mejorar el conocimiento del balance autónomo a través del análisis de HRV: (i) el *Stress Score* (SS), calculado como $1,000 \times 1/SD_2$, una medida que estaría relacionada directamente con la actividad del SNS, y (ii) el *Ratio Simpático/Parasimpático* (Ratio S/PS), calculado como SS/SD_1 , que correspondería con un indicador del balance autónomo entre SNS y SNP. En este estudio se analizó la validez de SS y Ratio S/PS como medidas de HRV y, además, se establecieron valores de referencia para jugadores de fútbol profesional. Pese al potencial de ambas medidas, hasta la fecha no hay estudios

INTRODUCCIÓN

acerca de la validez de SS y Ratio S/PS (y sus valores normales) como indicadores de HRV en adultos sedentarios sanos.

Factores que modulan la variabilidad de frecuencia cardíaca

Edad.

El envejecimiento se asocia a una pérdida progresiva de diversas funciones fisiológicas, derivando en un incremento del riesgo de mortalidad (Amaro-Gahete, De-La-O, et al., 2019). Conforme avanza la edad, aparece una reducción progresiva de la influencia del SNP sobre la función cardíaca en condiciones de reposo (Almeida-Santos et al., 2016; Navarro-Lomas et al., 2020; Valentini & Parati, 2009; Zulfiqar et al., 2010). En este sentido, la reducción de parámetros de HRV relacionados con la actividad del SNP se asocian con una mayor incidencia de enfermedades metabólicas crónicas (e.g., obesidad o diabetes mellitus tipo 2), así como un mayor riesgo cardiovascular (Hillebrand et al., 2013; Task force of the European Society of Cardiology and the North American Society for Pacing and Electrophysiology, 1996).

Sexo.

En términos generales, las mujeres poseen, mayores valores de FC en reposo, generando intervalos RR más cortos (Koenig & Thayer, 2016). Por el contrario, los hombres generalmente tienen una menor FC. Pese a ello, los hombres muestran una mayor predominancia del SNS en comparación con las mujeres de acuerdo a las medidas de HRV (Koenig & Thayer, 2016).

FC.

HRV depende de la longitud del ciclo cardíaco (Shaffer & Ginsberg, 2017). Una mayor FC genera un descenso del tiempo entre sucesivos latidos cardíacos, y, por tanto, de la variación temporal de los mismos, reduciendo HRV. Por el contrario, una menor FC incrementa el tiempo que aparece entre latidos adyacentes y, por ende, la posibilidad de variación en la función cardíaca. Debido a esta dependencia de HRV ante la FC, en el análisis de HRV se deben aplicar

procedimientos de corrección que ofrezcan valores de HRV independientes de la FC (Plaza-Florido et al., 2021).

Presencia de enfermedades crónicas cardiometabólicas.

La actividad cardíaca posee oscilaciones de carácter complejo y no lineal (Goldberger, 1991). Esta variabilidad otorga flexibilidad y capacidad para adaptarse a los posibles cambios a los que el organismo tiene que hacer frente (Shaffer & Ginsberg, 2017). Un nivel óptimo de HRV en condiciones de reposo (considerado en la literatura científica como un incremento de valores asociados a actividad del SNP) se considera predictor de capacidad de autorregulación, adaptabilidad, menor nivel de estrés y correcto funcionamiento del metabolismo energético (Grässler et al., 2021; Navarro-Lomas et al., 2022; Shaffer & Ginsberg, 2017). Por contra, la desregulación de estos valores en condiciones de reposo se ha vinculado con numerosos problemas de salud asociados a una mayor activación del SNS, tales como menor adaptabilidad del sistema cardiovascular, aparición de eventos cardiovasculares, estrés crónico, aceleración de los procesos de envejecimiento celulares, depleción de reservas de energía o incluso muerte súbita (Navarro-Lomas et al., 2022; Shaffer et al., 2014).

Ejercicio físico.

El ejercicio físico es componente básico asociado a un estilo de vida saludable (Molina-Hidalgo et al., 2019). En población adulta, la práctica de actividad física con volúmenes e intensidades adecuadas se asocia con un incremento de la actividad del SNP (Tornberg et al., 2019), la cual puede estudiarse a través de los parámetros de HRV asociados (Buchheit et al., 2005; Felber Dietrich et al., 2008). Este incremento se ha traducido en una mejora de la salud cardiovascular en general, así como una mejora del estado funcional del SNA, pudiendo potencialmente verse reducido el riesgo tanto de padecer patología cardiovascular como muerte prematura (Grässler et al., 2021).

Dadas las bondades en términos de salud derivadas de la práctica de actividad física, la Organización Mundial de la Salud (OMS) establece unas

INTRODUCCIÓN

recomendaciones internacionales para la promoción de la salud (Bull et al., 2020). De acuerdo a las mismas, se recomienda que la población adulta realice entre 150-300 minutos de actividad física a intensidad moderada o entre 75-150 minutos de intensidad vigorosa (o bien alguna combinación equivalente de ejercicio moderado-vigoroso de carácter aeróbico). Además, se recomienda realizar trabajo de fuerza muscular dos veces por semana (Bull et al., 2020). Sin embargo, la mayoría de la población no cumple estas recomendaciones, argumentando la falta de tiempo libre como principal motivo (Choi et al., 2017). Esto ha provocado la aparición de nuevas metodologías de entrenamiento (e.g., entrenamiento interválico de alta intensidad (HIIT) o la electroestimulación de cuerpo completo (EMS)) como potenciales alternativas (Amaro-Gahete, De-La-O, et al., 2019). De hecho, investigaciones recientes llevadas a cabo en nuestro laboratorio, han puesto de manifiesto que dichos programas de entrenamiento mejoran de forma similar o incluso en mayor medida diversos parámetros relacionados con la salud, como los niveles plasmáticos de la proteína S-Klotho (Amaro-Gahete, De-la-O, Jurado-Fasoli, Espuch-Oliver, et al., 2019), la composición corporal (Amaro-Gahete, De-la-O, Jurado-Fasoli, Ruiz, et al., 2019), Vitamina D (De-la-O et al., 2022), riesgo cardiometabólico (Amaro-Gahete, De-la-O, Jurado-Fasoli, Martinez-Tellez, et al., 2019), aptitud física (Amaro-Gahete, De-La-O, et al., 2019) o hábitos nutricionales (Jurado-Fasoli et al., 2020).

En el análisis del efecto del ejercicio físico sobre HRV, una intervención duradera de ejercicio aeróbico parece ser una herramienta efectiva en la mejora de dichos parámetros en condiciones de reposo tanto en adultos jóvenes como seniors (Albinet et al., 2010; Grässler et al., 2021; Tulppo et al., 2003). No obstante, hasta donde alcanza nuestro conocimiento no se ha estudiado en profundidad el efecto de otras intervenciones de ejercicio físico sobre HRV en términos comparativos (Grässler et al., 2021). En este contexto, un estudio previo ha sugerido que un programa de entrenamiento tipo HIIT de 2 semanas con una frecuencia de 4 sesiones/semana induce mejores adaptaciones en HRV que un programa de ejercicio aeróbico continuo de intensidad moderada en adultos

físicamente inactivos de entre 20 y 40 años (Alansare et al., 2018). Sin embargo, dado que existen numerosos protocolos de HIIT que generan diferentes adaptaciones fisiológicas en función de las características del mismo (e.g., tipo de ejercicio, duración, intensidad o número de intervalos realizados) se requieren nuevos estudios que investiguen sus efectos sobre los parámetros de HRV. Adicionalmente, Ricci et al. (2020) encontraron que una intervención de 6 semanas basada en entrenamiento con EMS durante 5 días semanales no generó beneficios adicionales sobre HRV en comparación con el mismo tipo de entrenamiento sin EMS en adultos de entre 18 y 50 años de edad tras una cirugía bariátrica (Ricci et al., 2020), aunque los efectos de este tipo de entrenamiento sobre HRV no han sido analizados en una población adulta y sin patologías.

Ingesta de alcohol tras la realización de ejercicio físico.

Socialmente, el consumo de cerveza y otras bebidas alcohólicas es una práctica común tras la realización de ejercicio físico (Molina-Hidalgo et al., 2020). La influencia de una elevada ingesta de alcohol en la salud tras la realización de ejercicio ha sido estudiada previamente en humanos, mostrando hallazgos inequívocamente vinculados a una salud empobrecida (Barnes, 2014). Concretamente, se ha observado en respuesta a la misma una elevación de FC en reposo, empeoramiento de la función muscular, hipertensión, fragmentación del sueño y otros procesos metabólicos que causan disrupción de la homeostasis (Barnes, 2014). Sin embargo, se desconoce el efecto de una ingesta crónica de alcohol en dosis moderadas sobre HRV y otros marcadores de salud tales como la función hepática o factores de riesgo cardiovascular (de Gaetano et al., 2016a; Molina-Hidalgo et al., 2020).

Por un lado, se han señalado efectos negativos en medidas de HRV asociadas a la actividad vagal cuando una gran ingesta de alcohol se convierte en un hábito crónico (Ralevski et al., 2019). Dichos efectos podrían producirse a través de su influencia sobre la modulación autónoma de la descarga sinoatrial y la alteración de la síntesis y liberación de neurotransmisores que afectan a la ritmicidad central neural (Spaak et al., 2010). Por otro lado, un estudio sugiere que la ingesta moderada de alcohol podría incrementar parámetros de HRV asociados a la actividad vagal en jóvenes adultos que consumen de forma

INTRODUCCIÓN

moderada alcohol, un hecho que podría explicarse a partir de una reducción de diversos procesos inflamatorios favorecidos por ello (Quintana et al., 2013). Sin embargo, se desconoce si un consumo moderado y diario de alcohol modifica los potenciales efectos del ejercicio físico sobre HRV.

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

OBJETIVOS E HIPÓTESIS

Objetivos e hipótesis

Objetivos

Objetivo general.

El objetivo principal de la presente Tesis Doctoral es analizar el efecto de distintos programas de ejercicio físico sobre la HRV en adultos sedentarios

Objetivos específicos.

1. Evaluar la asociación de SS y Ratio S/PS con variables tradicionales de la HRV en los análisis temporales y de frecuencia, estableciendo valores de referencia de SS y Ratio S/PS en adultos sedentarios sanos.
2. Analizar el efecto de distintos programas de ejercicio [entrenamiento en base a las recomendaciones de la Organización Mundial de la Salud Organización Mundial de la Salud (PAR, del inglés Physical Activity Recommendations), entrenamiento interválico de alta intensidad (HIIT, del inglés High Intensity Interval Training) y entrenamiento HIIT añadiendo electroestimulación de cuerpo completo (HIIT+EMS)] sobre la HRV en adultos sedentarios de mediana edad (40 – 65 años de edad).
3. Examinar el efecto de un programa de entrenamiento HIIT sobre HRV en una cohorte de adultos jóvenes sedentarios y sanos que ingieren una dosis diaria moderada de alcohol (18 – 40 años de edad).

Hipótesis

Se hipotetiza que:

1. SS y Ratio S/PS son adecuados marcadores de HRV capaces de indicar el estado del sistema nervioso autónomo y de salud en general en adultos sedentarios sanos.
2. HRV mejorará tras la realización de diferentes programas de ejercicio físico en adultos sedentarios de mediana edad, especialmente en aquellos entrenamientos basados en la realización de intervalos de alta intensidad.
3. HRV se verá incrementada tras la realización de un programa HIIT en adultos sedentarios jóvenes, independientemente de la ingesta diaria moderada de alcohol.

MATERIAL Y MÉTODOS

MATERIAL Y MÉTODO

Material y métodos

La presente Tesis Doctoral se ha desarrollado en el seno de dos proyectos de investigación de los cuales han derivado otras Tesis Doctorales. Por tanto, algunos apartados de esta sección comparten contenido con las Tesis Doctorales de los Drs. Amaro-Gahete, De-la-O y Molina-Hidalgo (Amaro Gahete, 2019; de la O Puerta, 2021; Molina Hidalgo, 2021).

Diseño Experimental

La presente tesis doctoral se desarrolla bajo el marco de dos ensayos controlados aleatorizados:

- (i) Estudio FIT-AGEING. (ClinicalTrials.gov ID: NCT03334357) (Amaro-Gahete, De-la-O, Jurado-Fasoli, et al., 2018).
- (ii) Estudio BEER-HIIT (ClinicalTrials.gov ID: NCT03660579).

Ambos proyectos se desarrollaron íntegramente en el Instituto Mixto Universitario Deporte y Salud (iMUDS), siendo aprobados por los Comités de Ética de Investigación Humana de la Junta de Andalucía (FIT-AGEING; 0838- N-2017) y de la Universidad de Granada (BEER-HIIT; 321-CEIH-2017). Además, ambos siguieron las indicaciones de la revisión en vigor (7ª revisión de octubre de 2013) de la Declaración de Helsinki (World Medical Association, 2013). Todos los participantes firmaron un consentimiento informado escrito relativo al uso de los datos obtenidos en ambos proyectos para su explotación científica.

Estudio FIT-AGEING.

El estudio FIT-AGEING se centró en analizar el rol del ejercicio físico en la regulación de la proteína Klotho y otros biomarcadores de envejecimiento en adultos de mediana edad (45-65 años). Los participantes fueron aleatorizados en 4 grupos a través del método de aleatorización simple (Schulz & Grimes, 2002): (a) grupo control (instruido para mantener sus hábitos de vida en cuanto a nivel de actividad física y hábitos nutricionales), (b) grupo de entrenamiento PAR, (c) grupo de entrenamiento HIIT, y (d) grupo de entrenamiento HIIT+EMS.

Estudio BEER-HIIT.

El estudio BEER-HIIT investigó el efecto de un programa de entrenamiento interválico de alta intensidad combinado con la ingesta diaria moderada de alcohol sobre diversos parámetros de salud y rendimiento en adultos jóvenes (18-40 años). Los participantes eligieron si preferían ser incluidos en un grupo de no entrenamiento (N-T, del inglés *Non-Training*) - que mantenía sus hábitos de vida nutricionales y de niveles de actividad física - o en un grupo de entrenamiento (T, del inglés *Training*). Los que seleccionaron grupo de entrenamiento eligieron si preferían ser incluidos en un grupo que ingiriera bebidas alcohólicas (contenido del 5.4% de alcohol) o en un grupo que ingiriera bebidas sin alcohol. Los participantes que seleccionaron alcohol fueron asignados aleatoriamente a grupos que tomaron cerveza (T-Beer, de la traducción al inglés del término *cerveza*) o agua con gas mezclada con vodka (T-Ethanol, de la traducción al inglés del término *etanol*). Los que seleccionaron bebidas sin alcohol fueron aleatoriamente asignados a un grupo que tomó cerveza sin alcohol (T-0.0 Beer) o agua con gas (T-Water, de la traducción al inglés del término *agua*). Cada grupo incluyó a un total de 8 hombres y 8 mujeres.

Participantes

En la presente tesis doctoral participaron 156 adultos (47.4% mujeres) de entre 18 y 65 años de edad, pertenecientes a los estudios FIT-AGEING y HIIT-BEER. En ambos casos, los participantes completaron una revisión médica.

MATERIAL Y MÉTODO

Criterios de inclusión y exclusión.

Estudio FIT-AGEING.

Los criterios de inclusión y exclusión del proyecto FIT-AGEING aparecen en la Tabla 4:

Tabla 4. Criterios de inclusión y exclusión del proyecto FIT-AGEING

Estudio FIT-AGEING	
Criterios de inclusión	Criterios de exclusión
<ul style="list-style-type: none">- Edad: 45-65 años de edad- Índice de Masa Corporal (BMI): 18.5-35 kg/m²- No practicar actividad física regular >20min durante > 3 días/semana- No participar en programas de pérdida de peso- Mostrar un peso estable durante los últimos 5 meses (menos de 5 kg de cambio)- Los participantes deben ser capaces de dar su autorización, entender los criterios de exclusión y aceptar la asignación aleatoria de grupos- Electrocardiograma normal	<ul style="list-style-type: none">- Historial de problemas cardiovasculares- Diabetes- Embarazo o planeamiento de quedar embarazada durante el periodo del estudio- Uso de Beta-Bloqueantes o Benzodiazepinas- Tomar medicación para tiroides- Otras condiciones significativas que puedan ser agravadas por la práctica de ejercicio físico- Ser incapaz de completar los requerimientos del estudio o de asumir la asignación aleatoria de grupos

Estudio BEER-HIIT.

Los criterios de inclusión y exclusión del proyecto BEER-HIIT aparecen en la Tabla 5:

Tabla 5. Criterios de inclusión y exclusión del proyecto BEER-HIIT

Estudio BEER-HIIT	
Criterios de inclusión	Criterios de exclusión
<ul style="list-style-type: none"> - Edad: 18-40 años de edad - BMI: 18.5-30 kg/m² - No tener historial familiar de alcoholismo - No participar en un programa de entrenamiento o de pérdida de peso estructurado en los últimos 5 meses - Mostrar un peso estable durante los últimos 5 meses (menos de 3 kg de cambio) - Los participantes deben ser capaces de dar su autorización, entender los criterios de exclusión y aceptar la asignación de grupos - Electrocardiograma normal 	<ul style="list-style-type: none"> - Historial de problemas cardiovasculares o diabetes - Historial de alcoholismo personal o familiar - Embarazo o planeamiento de quedar embarazada durante el periodo del estudio - Uso de Beta-Bloqueantes o Benzodiazepinas - Tomar medicación para tiroides - Otras condiciones significativas que puedan ser agravadas por la práctica de ejercicio físico - Ser incapaz de completar los requerimientos del estudio o de asumir la asignación de grupos

Tamaño de muestra.

Para realizar los cálculos de tamaño muestral se empleó el programa IBM-SPSS Sample Power software (versión 3.0.1). HRV es una variable secundaria en los proyectos FIT-AGEING y BEER-HIIT por lo que los cálculos de tamaño muestral no emplearon HRV como referencia. Por ello, las conclusiones obtenidas en la presente tesis doctoral se deben calificar como análisis exploratorios a confirmar por futuras investigaciones que cuenten con un tamaño muestral propicio para ello.

MATERIAL Y MÉTODO

Estudio FIT-AGEING.

El tamaño muestral fue calculado en base a un tamaño del efecto de 100 pg/ml en los niveles plasmáticos de la proteína S-Klotho. Para los cálculos se estableció potencia estadística del 85% asumiendo una pérdida de participantes del 25 %. Con estos datos y teniendo como referencia una participación equitativa entre géneros (≈50% mujeres), se determinó una participación de 80 personas.

Estudio BEER-HIIT.

El tamaño muestral fue calculado en base a un cambio del 15% en el VO₂max. Se estableció potencia estadística del 80%, asumiendo una pérdida de participantes del 20% (BEER-HIIT). Tomando como referencia una participación equitativa entre géneros (≈50% mujeres), se establece una participación de 80 sujetos.

Reclutamiento y adherencia de participantes.

El reclutamiento de los participantes siguió estrategias similares en ambos proyectos. Ambos estudios fueron publicitados a través de las redes sociales, medios de comunicación locales y pósteres. Además, se organizaron reuniones informativas donde se detallaron: (i) los objetivos de cada estudio, (ii) criterios de inclusión y exclusión, (iii) datos a evaluar, (iv) características de los diferentes programas de entrenamiento a realizar, (v) potenciales riesgos derivados de la participación en ambos proyectos y (vi) resolución de las dudas de los potenciales participantes. Aquellos que cumplieron los requisitos de inclusión fueron invitados a una segunda sesión orientativa, donde se otorgó por escrito información detallada sobre la metodología a seguir y se firmó el consentimiento informado. Finalmente, antes de realizar la primera evaluación, todos los participantes fueron informados de las condiciones a cumplir antes de llevar a cabo la misma.

Estudio FIT-AGEING.

Durante la intervención, en el proyecto FIT-AGEING, los participantes tuvieron la posibilidad de abandonar el proyecto en cualquier momento. Con objeto de

evitar dicho abandono y maximizar la adherencia a los diferentes programas de entrenamiento, se implementaron diferentes estrategias. Concretamente, para evitar periodos vacacionales durante la intervención, el estudio se desarrolló entre los meses de septiembre y diciembre en dos oleadas por motivos prácticos. Las sesiones fueron desarrolladas en grupos reducidos (<8 participantes) y dirigidas por entrenadores cualificados que supervisaron detalladamente la correcta ejecución de cada ejercicio, además de apoyar moralmente a los participantes. Igualmente, cabe destacar que las sesiones fueron desarrolladas en lugares ventilados e iluminados, acompañadas de música y con equipamiento deportivo en óptimas condiciones. La asistencia al entrenamiento se registró diariamente, exigiendo una participación de al menos el 90% para emplear los datos en los análisis finales. En la Figura 3 se muestra el diagrama de flujo de los participantes del proyecto FIT-AGEING:

MATERIAL Y MÉTODO

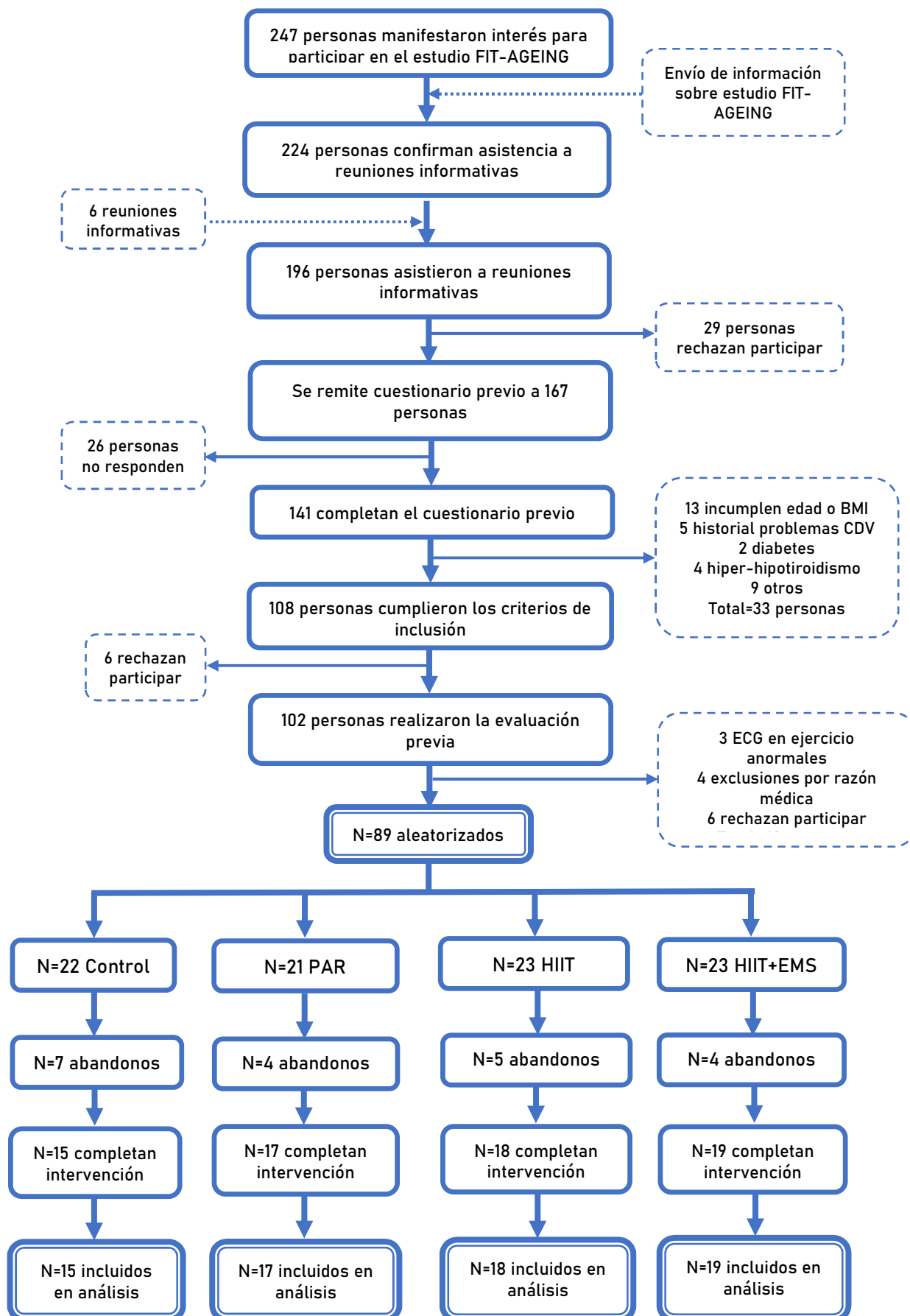


Figura 3. Diagrama de flujo de los participantes en el estudio FIT-AGEING. *Abreviaturas:* BMI; índice de masa corporal, CDV; cardiovascular, ECG; electrocardiograma, n= número de participantes.

Estudio BEER-HIIT.

De igual forma, los participantes podían abandonar el estudio de intervención en cualquier momento. De cara a reducir estos casos y maximizar la adherencia al programa de entrenamiento, se desarrollaron numerosos procesos para generar un ambiente positivo. Las sesiones fueron acompañadas de música escogida por los participantes, además de desarrolladas en ambientes iluminados y ventilados. Entrenadores cualificados supervisaron cuidadosamente el desarrollo de las sesiones. Las mismas se desarrollaron en grupos reducidos (≤ 8 personas) para garantizar la adecuada realización e intensidad de los ejercicios. Además, de cara a garantizar la participación se ofrecieron diferentes horarios para realizar los entrenamientos. Si algún participante no acudía a alguna sesión se realizaron llamadas telefónicas y, si la participación bajaba del objetivo (90% de sesiones), se aplicó un plan de contingencias específico para incrementar la asistencia a las sesiones. Finalmente, de cara a evitar periodos vacacionales que dificultasen la participación, el programa de intervención se desarrolló entre los meses de febrero y mayo. En la Figura 4 se muestra el diagrama de flujo de los participantes del proyecto BEER-HIIT:

MATERIAL Y MÉTODO

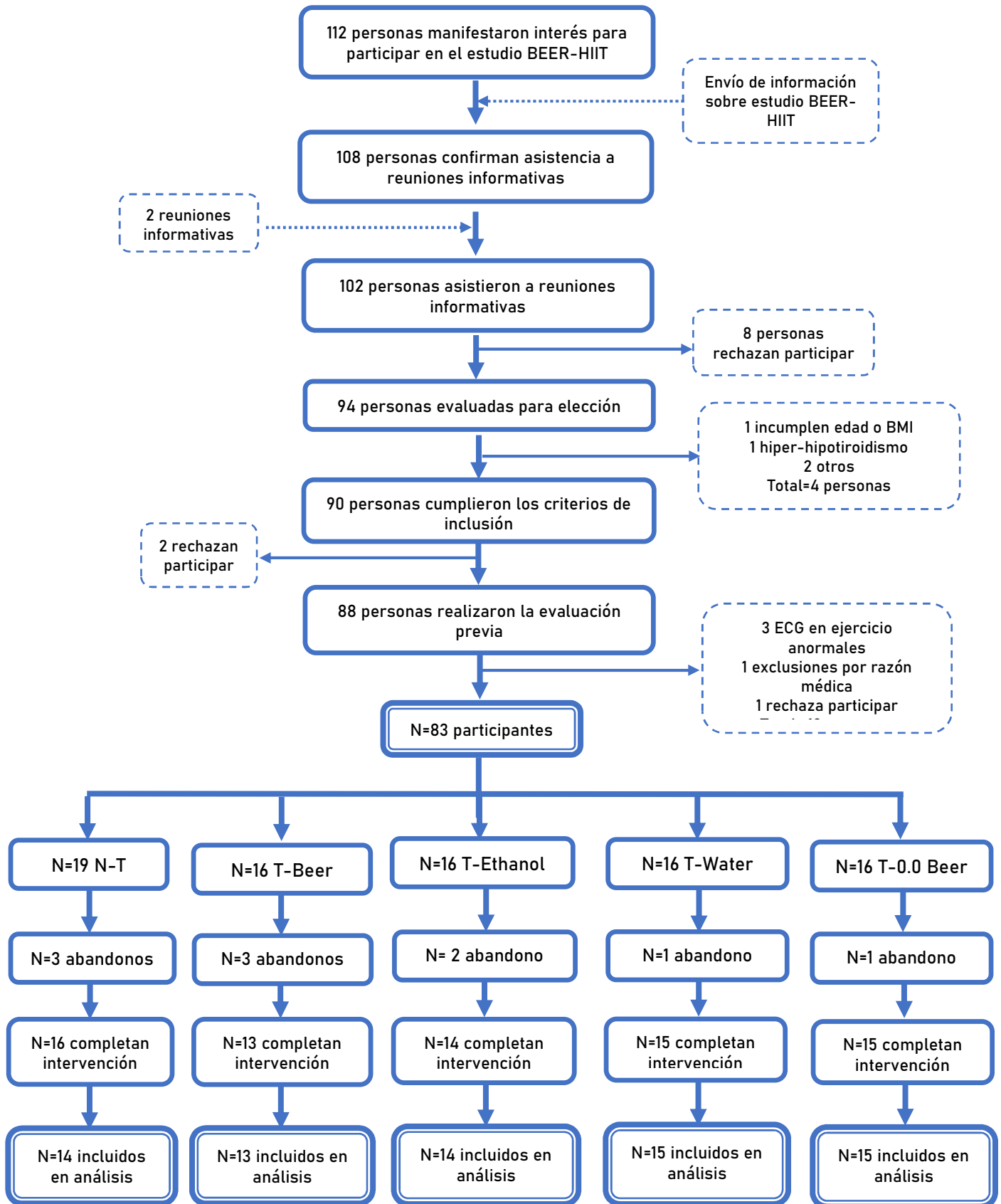


Figura 4. Diagrama de flujo de los participantes en el estudio BEER-HIIT. *Abreviaturas:* BMI; índice de masa corporal, CDV; cardiovascular, ECG; electrocardiograma, n= número de participantes.

Protocolos de entrenamiento

Estudio FIT-AGEING.

El estudio FIT-AGEING se diseñó con objeto de analizar el efecto de 3 metodologías de entrenamiento diferentes durante 12 semanas, comparando diferentes volúmenes e intensidades de entrenamiento.

Entrenamiento PAR.

Este grupo realiza un programa de entrenamiento concurrente (i.e., un entrenamiento que combina ejercicio aeróbico y de fuerza), en base a las recomendaciones de la OMS (WHR, 2010).

Volumen, intensidad, frecuencia y tipo de entrenamiento - PAR

Durante 12 semanas consecutivas, los participantes realizaron 3 sesiones de entrenamiento concurrente por semana, con una separación entre sesiones de al menos 48 horas de recuperación. Este volumen de entrenamiento se estableció siguiendo las recomendaciones mínimas de la OMS [150 minutos de entrenamiento aeróbico por semana a una intensidad de entre el 60 y el 65% de la frecuencia cardiaca de reserva (FCR) y ~60 minutos por semana a una intensidad de entre el 40 y el 50% de la repetición máxima (RM) para el entrenamiento de fuerza].

El entrenamiento aeróbico se desarrolló empleando tapices rodantes, cicloergómetros y elípticas. El entrenamiento de fuerza fue realizado a través de ejercicios con autocargas y máquinas neumáticas guiadas, tales como press de banca, sentadilla o peso muerto, entre otros. Además, buscando reducir el riesgo de lesión y promover la adherencia al programa, se realizaron ejercicios compensatorios, así como de flexibilidad y estabilidad de la zona CORE.

Sesiones de entrenamiento - PAR

Las sesiones del grupo PAR comenzaban con un calentamiento dinámico estandarizado, que incluía ejercicios de activación de diferentes grupos musculares. Tras el calentamiento, se iniciaba una fase de ejercicio aeróbico, con intervalos de 10 minutos que, en el caso de sesiones combinadas, eran

MATERIAL Y MÉTODO

alternados con ejercicios de fuerza (que a su vez variaban en función de la sesión; ver Tabla 6). Los participantes tenían la posibilidad de elegir el ergómetro en el que realizar estos intervalos aeróbicos (i.e., cicloergómetro, elíptica o tapiz rodante). En cuanto a las sesiones de ejercicio aeróbico, los participantes realizaban un total de 60 minutos, incluyendo ejercicios compensatorios. En todos los casos, las sesiones finalizaban con un protocolo de vuelta a la calma, consistente en estiramientos globales activos con cinco ejercicios de cadenas musculares anterior y posterior alternativamente.

Variación de la carga de entrenamiento - PAR

Debido a las características de los participantes (sedentarios), se realizó una progresión gradual en la carga de entrenamiento respecto a su volumen e intensidad. La progresión del programa de entrenamiento PAR fue la siguiente:

- Entrenamiento aeróbico: El volumen inicial fue de 75 minutos por semana al 60% de la FCR, incrementando progresivamente 30 minutos por semana hasta llegar a los 150 minutos por semana en la cuarta semana de intervención.
- Entrenamiento de fuerza: La intervención comenzó con dos semanas de familiarización que buscaban la adquisición de los patrones de movimiento de los ejercicios propuestos. Además, se realizaron ejercicios complementarios para prevenir lesiones.

El desarrollo del programa PAR fue generando un incremento en la forma física de los participantes, lo que obligó a incrementar la carga de entrenamiento aeróbica y de fuerza. Para ello, se incrementó la intensidad del entrenamiento para mantener la misma FCR en las sesiones aeróbicas mientras que, para las sesiones de fuerza, se realizó una valoración de la RM al inicio de cada fase de la intervención (ver Tabla 6).

Periodización del entrenamiento - PAR

La periodización del programa de entrenamiento en el grupo PAR se organizó en 3 fases:

- (i) Fase de familiarización: Durante dos semanas, los participantes adquirieron los patrones de movimiento de los ejercicios *hinge*, *bridge*, *squat*, y *pulls* and *pushs* horizontales y verticales. Dicho proceso de familiarización fue clave para realizar una correcta evaluación de la RM de dichos ejercicios, a la vez que mejoraban su condición física.
- (ii) Fase I: Durante 5 semanas, los participantes desarrollaron una sesión de entrenamiento aeróbico y dos sesiones de entrenamiento concurrente, que alternaban 4 ejercicios de fuerza de grandes grupos musculares, 2 ejercicios de estabilidad de zona CORE, y 2 ejercicios compensatorios entre los intervalos de 10 minutos de ejercicio aeróbico, incluyendo:
 - Entrenamiento aeróbico: Volumen de 150 minutos por semana (excepto en semanas de evaluación de la RM, donde se realizaron 120 minutos por semana) y una intensidad del 60% FCR.
 - Entrenamiento de fuerza: Se incluyeron ejercicios de grandes grupos musculares, así como patrones de movimiento genéricos, como el press de banca, sentadilla o peso muerto.
- (iii) Fase II: Durante las restantes 5 semanas, las sesiones de entrenamiento concurrente siguieron una organización diferente buscando generar diferentes estímulos de entrenamiento. Para ello, los participantes realizaron ejercicios similares a los citados en la Fase I, aunque además se incluyen algunos ejercicios que implicaron a otros grupos musculares, como elevaciones laterales o press francés, llevando a cabo dos tipos de sesiones en función de su objetivo:
 - Sesiones Tipo I, con el objetivo de generar tensión mecánica y daño muscular.
 - Sesiones Tipo II, centradas en generar estrés metabólico.

MATERIAL Y MÉTODO

Tabla 6. Periodización del entrenamiento PAR

Entrenamiento aeróbico			Entrenamiento de fuerza		
	Volumen (min /sem)	Intensidad (%FCR)	Intensidad (%RM)	Tipo de ejercicio	Objetivo
Fase de Familiarización					
Semana 1	75	60	Autocargas y bandas elásticas	Movimientos globales y patrones de movimiento	Adquirir patrones de movimiento y realizar ejercicios compensatorios
Semana 2	105	60			
Fase I					
Semana 3	120	60	Evaluación RM	Ejercicios de grandes grupos musculares	Generar adaptaciones iniciales al entrenamiento de fuerza y realizar ejercicios compensatorios
Semana 4	150	60	50		
Semana 5	150	60	50		
Semana 6	150	60	50		
Semana 7	150	60	50		
Fase II					
Semana 8	120	60	Evaluación RM	Ejercicios de grandes grupos musculares y otros ejercicios	Promover tensión mecánica, daño muscular y estrés metabólico
Semana 9	150	60	50		
Semana 10	150	60	50		
Semana 11	150	60	50		
Semana 12	150	60	50		

Abreviaturas: min; minutos, sem; semana, %; porcentaje, FCR; frecuencia cardíaca de reserva, RM; repetición máxima

Entrenamiento HIIT.

El entrenamiento HIIT se describe como la ejecución de intervalos de trabajo de intensidad vigorosa intercalados con intervalos de recuperación activa o pasiva. De acuerdo con la literatura científica, el entrenamiento HIIT es considerado una estrategia efectiva para conseguir mejoras en diversos biomarcadores de salud, como la composición corporal o el fitness cardiorrespiratorio de igual o incluso superior efecto en comparación a la realización de ejercicio aeróbico continuo de intensidad moderada (Gibala, Little, Macdonald, & Hawley, 2012; Ulbrich et al., 2016).

Volumen, intensidad, frecuencia y tipo de entrenamiento - HIIT

Los participantes del grupo HIIT realizaron 2 sesiones semanales durante 12 semanas con una recuperación entre sesiones de, al menos, 72 horas. Se realizaron dos protocolos de entrenamiento HIIT diferentes, incluyendo sesiones con intervalos de mayor duración (sesiones tipo A) y sesiones con intervalos de menor duración (sesiones tipo B).

Por un lado, las sesiones tipo A tuvieron un volumen de entrenamiento de entre 40 y 65 minutos por semana a una intensidad superior al 95% del VO_2 max. Estas sesiones se realizaron utilizando un tapiz rodante con una pendiente personalizada a la condición física de cada participante. Por otro lado, las sesiones tipo B tuvieron un volumen de entrenamiento de entre 40 y 65 minutos por semana a una intensidad de entre 6 y 9 en una escala (1-10) de percepción subjetiva de esfuerzo (RPE) (Borg, 1982). En estas sesiones, los participantes realizaron 8 ejercicios, basados en la autocarga, en forma de circuito (i.e., sentadilla, rodillas arriba, talones arriba, flexiones, remo horizontal, plancha frontal, plancha lateral, peso muerto y remo horizontal).

Sesiones de entrenamiento - HIIT

- Sesiones Tipo A: comenzaron con un calentamiento dinámico estandarizado que incluía ejercicios de activación de diferentes grupos musculares, seguidos de 5 minutos de ejercicio aeróbico en un ergómetro a una intensidad correspondiente al 60% del

MATERIAL Y MÉTODO

VO₂max. Tras el calentamiento, los participantes ejecutaron los diferentes intervalos y series en función de la periodización descrita en la tabla 7.

- Sesiones tipo B: comenzaron con un calentamiento dinámico estandarizado tras el cual se realizó un entrenamiento en forma de circuito con 8 ejercicios con autocargas. El circuito se realizó dos veces por sesión con un descanso activo entre éstos, consistente en caminar a una intensidad correspondiente al 60% del VO₂max, siguiendo la metodología descrita en la tabla 7.

Variación de la carga de entrenamiento

Debido a las características de los participantes (sedentarios), se determinó una progresión gradual de las características del entrenamiento con objeto de crear las adaptaciones fisiológicas esperadas.

En las sesiones tipo A, los participantes comenzaron con un volumen menor a 40 minutos por semana al 80-90% del VO₂max (fase de familiarización). Tras ello, hubo un incremento progresivo en el volumen (hasta los 50 minutos por semana) e intensidad (superior al 95% del VO₂max) en la Fase I. Finalmente, en la Fase II, los participantes alcanzaron los 65 minutos por semana a dicha intensidad.

En las sesiones tipo B, se siguió la misma metodología por fases, avanzando desde la fase de familiarización (menos de 40 minutos por semana al 80-90% del VO₂max) hasta las fases 1 (50 minutos por semana al 120% del VO₂max) y 2 (65 minutos por semana al 120% del VO₂max).

Periodización del entrenamiento - HIIT

El entrenamiento HIIT se dividió en 3 fases de 4 semanas cada una:

- (i) Fase de familiarización: Las sesiones tipo A se componían de entre 6 y 7 intervalos de 4 minutos (alternando 2 minutos al 80% del VO₂max) con 2 minutos de descanso. El tiempo máximo de sesión fue de 14 minutos. Las sesiones tipo B consistieron en 2 series de 16 ejercicios

correspondientes a dos vueltas al circuito señalado anteriormente. En estas sesiones se alternaron 15-20 segundos a una intensidad del 120% del $VO_2\text{max}$ con 15-20 segundos de recuperación. La duración total de la serie fue de entre 8-10.5 minutos de trabajo y la duración total de la sesión fue de 21 minutos. Entre series se realizó una recuperación activa de 5 minutos caminando al 60% del $VO_2\text{max}$. En la tercera y cuarta semana de la intervención se incrementaron tanto la intensidad como el volumen en las sesiones tipo A, realizando entre 8 y 9 intervalos al 90% del $VO_2\text{max}$ (alternando 2 minutos de trabajo y 2 minutos de recuperación) hasta completar un total de 18 minutos. En las sesiones tipo B se mantuvieron el mismo volumen de trabajo e intensidad citados previamente.

- (ii) Fase I: En las sesiones tipo A, la intensidad se incrementó a >95% del $VO_2\text{max}$ completando entre 8 y 10 intervalos de 4 minutos (alternando 2 minutos de trabajo y 2 minutos de recuperación), siendo la duración máxima por sesión de 20 minutos. En las sesiones tipo B, la intensidad se mantuvo la intensidad en el 120% del $VO_2\text{max}$, realizando 2 series (8-16 minutos) de 16 ejercicios con una ratio de 15-30 segundos de trabajo y 15-30 segundos de recuperación. El tiempo total por sesión ascendió hasta un total de 32 minutos. Entre series se realizó una recuperación activa caminando durante 5 minutos al 60% del $VO_2\text{max}$.
- (iii) Fase II: En esta fase, la intensidad se mantuvo respecto a la fase I (>95% del $VO_2\text{max}$ en sesiones tipo A y 120% del $VO_2\text{max}$ en sesiones tipo B), pero se incrementó el volumen del entrenamiento. En las sesiones tipo A, se realizaron entre 6-8 intervalos de 5 minutos (3 minutos de ejercicio y 2 minutos de recuperación), alcanzando los 24 minutos por sesión. Las sesiones tipo B consistieron en 3 series (con una duración de entre 8 y 13.5 minutos cada una) de 16 ejercicios (llegando hasta un total de 40-5 minutos por sesión). La ratio fue de 15-30 segundos de trabajo y 15-30 segundos de recuperación. Entre series se realizó una recuperación activa caminando durante 5 minutos al 60% del $VO_2\text{max}$.

MATERIAL Y MÉTODO

Tabla 7. Periodización del entrenamiento HIIT

FASE DE FAMILIARIZACIÓN								
Semana	1		2		3		4	
Sesión (tipo)	1 (A)	2 (B)	3 (A)	4 (B)	5 (A)	6 (B)	7 (A)	8 (B)
Volumen	12 min	16 min	14 min	21 min	16 min	16 min	18 min	21 min
Intensidad	80% VO ₂ max	80% VO ₂ max	80% VO ₂ max	80% VO ₂ max	90% VO ₂ max	90% VO ₂ max	90% VO ₂ max	90% VO ₂ max
Intervalos	6	2	7	2	8	2	9	2
Duración intervalo	4 min	8 min	4 min	10.5 min	4 min	8 min	4 min	10.5 min
Tiempo trabajo	2 min	15 seg	2 min	20 seg	2 min	15 seg	2 min	20 seg
Tiempo recuperación	2 min	15 seg	2 min	20 seg	2 min	15 seg	2 min	20 seg
Descanso intervalos	-	5 min 60% VO ₂ max	-	5 min 60% VO ₂ max	-	5 min 60% VO ₂ max	-	5 min 60% VO ₂ max

FASE I								
Semana	5		6		7		8	
Sesión (tipo)	9 (A)	10 (B)	11 (A)	12 (B)	13 (A)	14 (B)	15 (A)	16 (B)
Volumen	16 min	16 min	18 min	21 min	20 min	27 min	20 min	32 min
Intensidad	>95% VO ₂ max	120% VO ₂ max	>95% VO ₂ max	120% VO ₂ max	>95% VO ₂ max	120% VO ₂ max	>95% VO ₂ max	120% VO ₂ max
Intervalos	8	2	9	2	10	2	10	2
Duración intervalo	4 min	8 min	4 min	10.5 min	4 min	13.5 min	4 min	16 min
Tiempo trabajo	2 min	15 seg	2 min	20 seg	2 min	25 seg	2 min	30 seg
Tiempo recuperación	2 min	15 seg	2 min	20 seg	2 min	25 seg	2 min	30 seg
Descanso intervalos	-	5 min 60% VO ₂ max	-	5 min 60% VO ₂ max	-	5 min 60% VO ₂ max	-	5 min 60% VO ₂ max

MATERIAL Y MÉTODO

FASE II								
Semana	9		10		11		12	
Sesión (tipo)	17 (A)	18 (B)	19 (A)	20 (B)	21 (A)	22 (B)	23 (A)	24 (B)
Volumen	18 min	24 min	21 min	31.5 min	24 min	40.5 min	24 min	40.5 min
Intensidad	>95% VO ₂ max	120% VO ₂ max	>95% VO ₂ max	120% VO ₂ max	>95% VO ₂ max	120% VO ₂ max	>95% VO ₂ max	120% VO ₂ max
Intervalos	6	3	7	3	8	3	8	3
Duración intervalo	5 min	8 min	5 min	10.5 min	5 min	13.5 min	5 min	13.5 min
Tiempo trabajo	3 min	15 seg	3 min	20 seg	3 min	25 seg	3 min	25 seg
Tiempo recuperación	2 min	15 seg	2 min	20 seg	2 min	25 seg	2 min	25 seg
Descanso intervalos	-	5 min 60% VO ₂ max	-	5 min 60% VO ₂ max	-	5 min 60% VO ₂ max	-	5 min 60% VO ₂ max

Abreviaturas: min; minuto, >; mayor que, %; porcentaje, VO₂max, consumo máximo de oxígeno, seg; segundos

Entrenamiento HIIT+EMS.

El entrenamiento EMS ha surgido en los últimos años como una novedosa modalidad de entrenamiento. Esta tecnología permite estimular externa y simultáneamente de forma bipolar, simétrica, y rectangular, entre 14 y 18 regiones o 8-12 grupos musculares, con la posibilidad de configurar diferentes intensidades a cada región y ocupando sus electrodos hasta un total de 2800cm² (Filipovic et al., 2015). El uso de esta tecnología puede derivar en diversas complicaciones y problemas de salud, por lo que es fundamental seguir las recomendaciones científicas en su utilización (Kemmler, Froehlich, et al., 2016; Malnick et al., 2016), especialmente en una población sedentaria y sin experiencia previa con este tipo de entrenamiento.

Volumen, intensidad, frecuencia, tipo de ejercicio, sesiones de entrenamiento y periodización - HIIT+EMS

Los participantes de este grupo completaron un programa de entrenamiento basado en la misma metodología de entrenamiento que el grupo HIIT en cuanto al volumen, intensidad, frecuencia, tipo de ejercicio, tipos de sesiones y periodización del entrenamiento, con la diferencia de la utilización de impulsos eléctricos a través de un dispositivo inalámbrico de electromioestimulación de cuerpo completo (Wiemspro®, Málaga, Spain)

Parámetros eléctricos

La periodización de los parámetros eléctricos durante las 12 semanas de intervención aparece reflejada en la Tabla 8. En la elaboración de la misma se tuvieron en cuenta los siguientes parámetros tomando como referencia las recomendaciones que aparecen en la literatura científica sobre esta tipología de entrenamiento (Filipovic et al., 2011):

- (i) *Frecuencia*: se define como el número de pulsos eléctricos por unidad temporal. De acuerdo a estudios anteriores, la frecuencia ideal para reclutar fibras musculares tipo I es de entre 7 y 33 Hz, mientras que para activar fibras musculares tipo II es de entre 35 y 100 Hz. Por ello,

MATERIAL Y MÉTODO

se propuso una frecuencia de entre 15 y 33 Hz para sesiones tipo I y 35-75 Hz para sesiones tipo II.

- (ii) *Amplitud de impulso*: La amplitud del impulso determina la intensidad de la contracción muscular, siendo específica para cada grupo muscular. Su rango, de acuerdo a previas investigaciones, se debe localizar entre 200-400 μ s dependiendo de la musculatura inervada por lo que se determinó la siguiente amplitud de impulso: muslos (400 μ s), glúteos (350 μ s), zona abdominal (300 μ s), zona dorsal (250 μ s), zona cervical (200 μ s), pecho (200 μ s), y brazos (200 μ s).
- (iii) *Intensidad*: se define como el porcentaje de máxima contracción voluntaria. Fue establecida en una intensidad >50 mA, de acuerdo a previas investigaciones que tuvieron por objetivo mejorar la forma física y la composición corporal. Por ello, dependiendo del tipo de sesión se estableció una intensidad de entre 80 y 100 mA. Además, la intensidad fue adaptada individualmente en una escala de percepción subjetiva (Borg, CR-10 (Borg, 1982)) con valores entre 5 y 9 sobre 10, de forma similar a la realizada por otras investigaciones (Filipovic et al., 2015; Gibala, Little, Macdonald, Hawley, et al., 2012; Kemmler et al., 2010; Kemmler, Teschler, et al., 2016) .
- (iv) *Ciclo de trabajo*: se define como la ratio entre el tiempo que se recibe estímulo eléctrico respecto al tiempo total del ciclo. El ciclo de trabajo se relaciona con la frecuencia seleccionada de forma inversa. Se estableció un ciclo de trabajo del 99% para el entrenamiento aeróbico (sesiones tipo A) y del 50-63% para el entrenamiento de fuerza (sesiones tipo B)

$$\%Ciclo\ de\ Trabajo = 100 / \left(\frac{Tiempo\ Total}{Tiempo\ de\ trabajo} \right)$$

A modo resumen, el impulso eléctrico programado para cada tipo de sesión fue:

- Sesiones tipo A: Frecuencia de 15-20 Hz, intensidad de 100 mA, amplitud de impulso de 200-400 μ s y ciclo de trabajo de 99%.
- Sesiones tipo B: Frecuencia de 35-75 Hz, intensidad de 80 mA, amplitud de impulso de 200-400 μ s y ciclo de trabajo de 50-63%.

Tabla 8. Parámetros eléctricos entrenamiento HIIT+EMS

FASE DE FAMILIARIZACIÓN								
Semana	1		2		3		4	
Sesión (tipo)	1 (A)	2 (B)	3 (A)	4 (B)	5 (A)	6 (B)	7 (A)	8 (B)
Frecuencia	15 Hz	35 Hz	15 Hz	35 Hz	15 Hz	40 Hz	15 Hz	40 Hz
Intensidad	100 mA	80 mA	100 mA	80 mA	100 mA	80 mA	100 mA	80 mA
RPE impulso	5-6	5-6	6-7	6-7	7-8	7-8	7-8	7-8
Ciclo de trabajo	99% (59":1")	50% (15":15")	99% (59":1")	57% (20":15")	99% (59":1")	50% (15":15")	99% (59":1")	57% (20":15")
FASE I								
Semana	5		6		7		8	
Sesión (tipo)	9 (A)	10 (B)	11 (A)	12 (B)	13 (A)	14 (B)	15 (A)	16 (B)
Frecuencia	20 Hz	45 Hz	20 Hz	45 Hz	20 Hz	50 Hz	20 Hz	55 Hz
Intensidad	100 mA	80 mA	100 mA	80 mA	100 mA	80 mA	100 mA	80 mA
RPE impulso	7-8	7-8	7-8	7-8	7-8	7-8	7-8	7-8
Ciclo de trabajo	99% (59":1")	50% (15":15")	99% (59":1")	57% (20":15")	99% (59":1")	63% (25":15")	99% (59":1")	67% (30":15")

MATERIAL Y MÉTODO

FASE II								
Semana	9		10		11		12	
Sesión (tipo)	17 (A)	18 (B)	19 (A)	20 (B)	21 (A)	22 (B)	23 (A)	24 (B)
Frecuencia	20 Hz	60 Hz	20 Hz	65 Hz	20 Hz	70 Hz	20 Hz	75 Hz
Intensidad	100 mA	80 mA	100 mA	80 mA	100 mA	80 mA	100 mA	80 mA
RPE impulso	8-9	8-9	8-9	8-9	8-9	8-9	8-9	8-9
Ciclo de trabajo	99% (59":1")	50% (15":15")	99% (59":1")	57% (20":15")	99% (59":1")	63% (25":15")	99% (59":1")	67% (30":15")

Abreviaturas: Hz; hercios, mA; miliamperios, %; porcentaje, "; segundos

Estudio BEER-HIIT.

Entrenamiento HIIT.

Volumen, intensidad, frecuencia y tipo de entrenamiento

Los participantes realizaron 2 sesiones semanales durante 10 semanas, con al menos dos días de recuperación entre sesiones. Pese a que, tradicionalmente, el HIIT se ha recomendado 3 días/semana (Buchheit & Laursen, 2013; Lunt et al., 2014), teniendo en consideración el nivel de forma física inicial de los participantes (individuos no entrenados) y en base a la experiencia previa del grupo de investigación (Amaro-Gahete, De-la-O, Jurado-Fasoli, et al., 2018; Amaro-Gahete, De-la-O, Sanchez-Delgado, et al., 2018; Sanchez-Delgado et al., 2015), se estableció una frecuencia semanal de 2 entrenamientos, garantizando de este modo la adecuada recuperación entre sesiones

Los participantes completaron un volumen de entrenamiento de entre 16 y 32 minutos por semana a una intensidad superior al 8 RPE (Borg, 1982). En estas sesiones, los participantes realizaron 8 ejercicios basados en autocargas en forma de circuito que repitieron en dos ocasiones (i.e., sentadilla, rodillas arriba, flexiones, *battle rope*, remo horizontal con TRX, plancha frontal, peso muerto y *burpees*). Entre ejercicios se realizó un descanso pasivo, mientras que entre series se realizó un descanso activo a una intensidad de 6 RPE, correspondiente al 60% del $VO_2\text{max}$ (Gillach et al., 1989; Lamb, 1995) tal y como aparece en la tabla 9.

Sesiones de entrenamiento

Las sesiones se realizaron a última hora de la tarde y primera hora de la noche, entre los lunes y los viernes. Las sesiones comenzaron con un calentamiento dinámico estandarizado incluyendo numerosos ejercicios de activación muscular. Además, las sesiones de entrenamiento finalizaban con un protocolo de vuelta a la calma consistente en estiramientos globales activos. Se realizaron 7 estiramientos de cadenas musculares anteriores y posteriores.

MATERIAL Y MÉTODO

Periodización del entrenamiento

La periodización del programa de entrenamiento aparece en la tabla 9. La misma se dividía en dos fases:

- (i) Fase de familiarización: la intensidad seleccionada fue el 80% del $VO_2\text{max.}$, completando 2 series (8 – 10.5 minutos) de 16 ejercicios (15- 20 segundos de trabajo / 15 – 20 segundos de recuperación), con una recuperación activa de 5 minutos a una intensidad del 60% del $VO_2\text{max.}$
- (ii) Fase I: la intensidad seleccionada fue el 120% del $VO_2\text{max.}$, completando 2 series (8 – 16 minutos) de 16 ejercicios (15 – 30 segundos de trabajo / 15 – 30 segundos de recuperación), con un descanso activo de 5 minutos a una intensidad del 60% del $VO_2\text{max.}$, y completando un máximo de 32 minutos de duración por sesión
- (iii) Fase II: En esta fase, la intensidad era la misma que en la fase anterior, incrementando el volumen de entrenamiento. Los participantes realizaron 3 series (8 – 13.5 minutos) de 16 ejercicios (15 – 30 segundos de trabajo / 15 – 30 segundos de recuperación), con una recuperación activa de 5 minutos a una intensidad del 60% del $VO_2\text{max.}$ y una duración máxima de 40.5 minutos por sesión

Tabla 9. Periodización del programa de entrenamiento BEER-HIIT

FASE DE FAMILIARIZACIÓN								
Semana	1		2		3		4	
Sesión	1	2	3	4	5	6	7	8
Volumen	16 min	16 min	21 min	21 min	16 min	16 min	21 min	21 min
Intensidad	8 RPE	8 RPE	8 RPE	8 RPE	9 RPE	9 RPE	9 RPE	9 RPE
Intervalos	2	2	2	2	2	2	2	2
Duración intervalo	8 min	8 min	10.5 min	10.5 min	8 min	8 min	10.5 min	10.5 min
Tiempo trabajo	15 seg	15 seg	20 seg	20 seg	15 seg	15 seg	20 seg	20 seg
Tiempo recuperación	15 seg	15 seg	20 seg	20 seg	15 seg	15 seg	20 seg	20 seg
Descanso intervalos	5 min (6 RPE)	5 min (6 RPE)	5 min (6 RPE)	5 min (6 RPE)	5 min (6 RPE)	5 min (6 RPE)	5 min (6 RPE)	5 min (6 RPE)

MATERIAL Y MÉTODO

FASE I								
Semana	5		6		7		8	
Sesión (tipo)	9	10	11	12	13	14	15	16
Volumen	16 min	16 min	21 min	21 min	27 min	27 min	32 min	32 min
Intensidad	10 RPE	10 RPE	10 RPE	10 RPE	10 RPE	10 RPE	10 RPE	10 RPE
Intervalos	2	2	2	2	2	2	2	2
Duración intervalo	8 min	8 min	10.5 min	10.5 min	13.5 min	13.5 min	16 min	16 min
Tiempo trabajo	15 seg	15 seg	20 seg	20 seg	25 seg	25 seg	30 seg	30 seg
Tiempo recuperación	15 seg	15 seg	20 seg	20 seg	25 seg	25 seg	30 seg	30 seg
Descanso intervalos	5 min (6 RPE)	5 min (6 RPE)	5 min (6 RPE)	5 min (6 RPE)	5 min (6 RPE)	5 min (6 RPE)	5 min (6 RPE)	5 min (6 RPE)

FASE II				
Semana	9		10	
Sesión (tipo)	17 (A)	18 (B)	21 (A)	22 (B)
Volumen	24 min	24 min	31.5 min	31.5 min
Intensidad	10 RPE	10 RPE	10 RPE	10 RPE
Intervalos	3	3	3	3
Duración intervalo	8 min	8 min	10.5 min	10.5 min
Tiempo trabajo	15 seg	15 seg	20 seg	20 seg
Tiempo recuperación	15 seg	15 seg	20 seg	20 seg
Descanso intervalos	5 min (6 RPE)	5 min (6 RPE)	5 min (6 RPE)	5 min (6 RPE)

Abreviaturas: min; minuto, >; mayor que, %; porcentaje, RPE; percepción subjetiva del esfuerzo, seg; segundos

MATERIAL Y MÉTODO

Protocolo de ingesta de alcohol.

La ingesta de bebidas se realizó diariamente entre el lunes y el viernes. El volumen de líquido ingerido fue el mismo en todos los grupos (660 ml para hombres y 330 ml para mujeres). Los hombres ingirieron 330 ml con la comida y 330 ml con la cena, mientras que las mujeres ingerían 330 ml con la cena.

El grupo T-Beer ingirió cerveza Lager (5.4% alcohol-Alhambra Especial, Granada, Spain). El grupo T-0.0Beer tomó cerveza sin alcohol (0.0% alcohol-Cruzcampo®, Sevilla, Spain). El grupo T-Water ingirió agua con gas (Eliqua 2®, Font Salem, Spain). El grupo T-Ethanol tomó agua con gas, incorporando exactamente la misma cantidad de alcohol destilado que en el grupo T-Beer. El alcohol destilado usado en este estudio fue vodka debido a la pureza de su composición (37.5% etanol y 62.5% agua).

Estas cantidades de alcohol se basaron en la evidencia científica previa, la cual sugiere que una cantidad moderada se corresponde con 2 o 3 bebidas por día (o entre 24 y 36 gramos de etanol por día) en hombres y con una o dos bebidas diarias (12 y 24 gramos de etanol por día) en mujeres (de Gaetano et al., 2016b; Poli, Marangoni, Avogaro, Barba, Bellentani, Bucci, Cambieri, Catapano, Costanzo, Cricelli, de Gaetano, di Castelnuovo, et al., 2013). Las bebidas eran otorgadas por el staff al inicio de cada semana. Entre lunes y viernes, los participantes no debían ingerir otro tipo de bebidas alcohólicas. Durante el fin de semana se solicitaba a los participantes incluidos en los grupos que ingerían alcohol que no tomaran más de la dosis ingerida entre semana. Los participantes de los grupos que ingirieron bebidas sin alcohol debían abstenerse de tomar alcohol durante el fin de semana. Además, la ingesta de alcohol se registró antes y después de la intervención.

Variables dependientes

En la tabla 10 aparecen las variables dependientes principales y secundarias que aparecen en los estudios que conforman la presente tesis doctoral.

Tabla 10. Variables dependientes

Estudio	Variable dependiente principal	Variables dependientes secundarias
FIT-AGEING	- HRV	- Antropometría y composición corporal. - Presión sanguínea - Parámetros sanguíneos - Riesgo cardiometabólico
BEER-HIIT	- HRV	- Antropometría y composición corporal.

Abreviaturas: HRV; Variabilidad de Frecuencia Cardíaca

Variable dependiente principal: HRV.

En la obtención de datos de HRV se tomaron como referencia los factores contextuales señalados en la introducción de esta tesis doctoral, a lo que hay que sumar las siguientes especificaciones:

Los participantes acudieron al laboratorio entre las 7.00 y las 11.00 a.m. Las condiciones establecidas para la toma de datos fueron:

- (i) Situación de ayuno.
- (ii) Mantener un patrón de sueño normal la noche anterior.
- (iii) No ingerir alcohol, drogas o estimulantes en las 24 horas anteriores.
- (iv) Evitar la realización de actividad física moderada las 24 horas previas y actividad física intensa las 48 horas previas al test.

La medición de la señal R-R se realizó con los participantes en posición tendido supino, sobre una camilla médica, en una habitación con una temperatura de entre 22 y 23° C. Para el registro de HRV, se utilizó el pulsómetro Polar RS800CX (Polar Electro, Kempele, Finland), que, aunque no es una herramienta

MATERIAL Y MÉTODO

considerada como “gold-standard” en la determinación de HRV, se ha establecido como una herramienta válida y fiable para determinar HRV en adultos (Williams et al., 2017). De cara a obtener medidas de HRV replicables, se registraron 15 minutos tras un periodo de 10 minutos de aclimatación (Schroeder et al., 2004), durante los que los participantes fueron instruidos para no hablar ni moverse, buscando una máxima relajación, pero manteniéndose despiertos.

Los archivos resultantes fueron descargados con el software Polar Pro Trainer 5[®] (Polar Electro, Finland), y analizados con el software Kubios HRV Standard[®], free version 2.2 software (University of Eastern Finland, Kuopio, Finland) (Tarvainen et al., 2014), siguiendo la metodología descrita por estudios previos (Alcántara et al., 2020; Plaza-Florido et al., 2021; Shaffer & Ginsberg, 2017). Para este análisis, se aplicó:

- (i) Filtro medio ofrecido por el software Kubios.
- (ii) Suavización de datos con un valor Lambda de 500.
- (iii) Interpolación cúbica al valor por defecto de 4 Hz.
- (iv) Para obtener datos de HRV reproducibles y válidos, de acuerdo a un estudio previo (Plaza-Florido et al., 2020), un único investigador entrenado en el análisis de HRV realizó dicha función (los datos obtenidos en el estudio FIT-AGEING mostraron un coeficiente de correlación de entre 0,951 y 0,995, y un coeficiente de variación menor a un 13,7%).

Para la presente tesis doctoral, se emplearon variables de HRV en los dominios temporales (i.e., SDNN y RMSSD) y análisis no lineales (Gráfico de Poincaré) siguiendo los procedimientos estandarizados en su obtención (Task force of the European Society of Cardiology and the North American Society for Pacing and Electrophysiology, 1996).

Con objeto de eliminar la influencia de FC sobre HRV se calcularon parámetros corregidos de HRV (Plaza-Florido et al., 2021). Para ello, se tomaron como referencia 3 supuestos:

- (i) Si los parámetros de HRV poseen una correlación negativa con FC, la corrección se calcula a través de ratios entre los parámetros de HRV y diferentes potencias de la media de los intervalos R-R.
- (ii) Si los parámetros de HRV tienen una correlación positiva con FC, la corrección se calcula multiplicando los parámetros de HRV y diferentes potencias de la media de los intervalos R-R.
- (iii) Para analizar las diferencias obtenidas en la intervención, los valores de HRV previos y posteriores a la misma fueron normalizados con las mismas potencias. Con ello, las fórmulas empleadas en la corrección fueron las expresadas en la tabla 11:

Tabla 11. Corrección de valores de HRV en los estudios FIT-AGEING y BEER-HIIT

<i>Estudio FIT-AGEING</i>	<i>Estudio BEER-HIIT</i>
SDNN corregido = SDNN / Media intervalos R-R ^{1.6}	SDNN corregido = SDNN / Media intervalos R-R ^{1.2}
RMSSD corregido = RMSSD / Media intervalos R-R ^{2.7}	RMSSD corregido = RMSSD / Media intervalos R-R ^{1.9}
SS Corregido = SS * Media intervalos R-R ^{1.1}	SS Corregido = SS* Media intervalos R-R
Ratio S/PS Corregido = Ratio S/PS * Media intervalos R-R	Ratio S/PS Corregido = Ratio S/PS * Media intervalos R-R ^{2.9}

Abreviaturas: Ratio S/PS; Ratio Simpático Parasimpático, RMSSD; Raíz cuadrada de la media de la suma de los cuadrados de las diferencias entre intervalos R-R, SDNN; desviación estándar de los intervalos R-R, SS; Stress Score

VARIABLES DEPENDIENTES SECUNDARIAS.

Antropometría y composición corporal.

La altura y el peso se determinaron empleando una escala electrónica (model 799, Electronic Column Scale, Hamburg, Germany). La circunferencia de cintura se obtuvo con la media de dos medidas en el punto intermedio entre la cresta iliaca y la base de la caja torácica al final de una expiración normal. La composición corporal fue determinada a través de una Absopiometría Dual de Rayos-X (DXA; Discovery Wi, Hologic, Inc., Bedford, MA, USA). Para ello se siguieron las instrucciones del fabricante en los controles de calidad,

MATERIAL Y MÉTODO

posicionamiento de participantes y el análisis de los resultados. En cada día de estudio se realizaba un control de calidad del escáner usando una fantoma espinal de prueba para osteodensitometría.

Además, se calcularon 3 índices de composición corporal en base a la altura: Índice de Masa Corporal (BMI, del inglés *Body Mass Index*), como peso corporal / altura²; Índice de Masa Magra (LMI, del inglés *Lean Mass Index*), como masa magra / altura²; e Índice de Masa Grasa (FMI, del inglés *Fat Mass Index*), como masa grasa / altura².

Presión sanguínea.

La presión sanguínea fue determinada en el brazo derecho utilizando un monitor automático HEM 705 CP (Omron Healthcare Co., Kyoto, Japan) mientras los participantes permanecían sentados y siguiendo las recomendaciones de la “European Heart Society” (Carey et al., 2018). La medición se realizó dos veces, obteniendo la media de ambas. Finalmente, la presión sanguínea media se calculó como la presión sanguínea sistólica menos un tercio de la presión sanguínea diastólica (Carey et al., 2018).

Parámetros sanguíneos.

Las muestras sanguíneas se obtuvieron entre las 8.30 y las 10.00 a.m. después de un ayuno nocturno de mínimo 12 horas y en días diferentes a la medida de HRV. Antes de obtener las muestras sanguíneas, los participantes permanecieron 10 minutos en posición tendida supina. Las muestras se recolectaron en tubos EDTA (ácido etilendiaminotetraacético) (Vacutainer SST, Becton Dickinson, Plymouth, UK) e inmediatamente después fueron centrifugadas durante 15 minutos a 3.000 rpm, alicuotadas y almacenadas a -80°C hasta su análisis. En el mismo se determinaron, entre otras variables, la glucosa, HDL-C y triglicéridos empleando un espectrofotómetro (model AU5800, Beckman Coulter, Brea, CA, USA).

Riesgo Cardiometabólico.

Siguiendo las recomendaciones de la Federación Internacional de Diabetes y el “*Adult Treatment Panel III for defining metabolic syndrome*”, se calculó un indicador de riesgo cardiometabólico empleando como variables la circunferencia de cintura, presión sanguínea media, glucosa plasmática, colesterol de alta densidad (HDL-C) y triglicéridos (Carracher et al., 2017). En este cálculo, cada variable fue estandarizada como $(\text{valor} - \text{media}) / \text{desviación estándar}$. En el caso del HDL-C, sus valores estandarizados se multiplicaron por -1 con objeto de indicar mayor riesgo con el incremento de sus valores. A continuación, se calculó el índice de riesgo cardiometabólico a través de una media de los 5 valores estandarizados, obteniendo por definición una media de 0 y una desviación estándar de 1, con valores más bajos asociados a un menor riesgo cardiovascular (Carracher et al., 2017).

Cronología de evaluación de variables.

Estudio FIT-AGEING.

En el estudio FIT-AGEING, la toma de datos duró 4 días. Las variables que componen esta tesis doctoral fueron obtenidas durante los dos primeros.

1. *Día 1:* Examen médico (anamnesis, determinación de la presión sanguínea, etc.) y análisis de sangre.
2. *Día 2:* Determinación de HRV durante 15 minutos, análisis de la composición corporal con DXA, y medidas antropométricas.

Estudio BEER-HIIT.

En el estudio HIIT-BEER, la toma de datos de las variables que componen esta tesis doctoral fue obtenidas en un único día de evaluación.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Assessment of the autonomic nervous system through non-linear heart rate variability outcomes in sedentary healthy adults

Gines Navarro-Lomas ¹, Alejandro de-la-O ¹, Lucas Jurado-Fasoli ¹, Manuel J. Castillo ¹, Pedro Femia ² & Francisco J. Amaro-Gahete ¹

1: EFFECTS-262 Research Group, Department of Physiology, Faculty of Medicine, University of Granada, Avda. de la Investigación 11, 18016 Granada, Spain

2: Department of Statistics. University of Granada. Granada. Spain.

Abstract

Background. Heart rate variability (HRV) is a psycho-physiological phenomenon with broad health implications. Different data analysis methods have been used to assess the autonomic nervous system activity, but the validation of new indexes that accurately describe its balance through non-invasive methods (i.e., HRV analysis) is of clinical interest. This study aimed: (i) to evaluate the association of the Stress Score (SS) and the Sympathetic/Parasympathetic Ratio (S/PS) with time domain and frequency domain analysis of HRV, and (ii) to set the reference values of SS and S/PS in sedentary healthy adults.

Methods. A total of 156 sedentary healthy adults (38.4 ± 15.57 years old, 81 women), were involved in this study. HRV was measured for 15 minutes in a supine position at rest. SS and S/PS were calculated from the non-linear HRV analyses based on Poincare Plot.

Results. SS showed a non-linear negative power-law relationship with SDNN ($\beta = -0.969$; $R^2 = 0.963$; $P < 0.001$), RMSSD ($\beta = -0.867$; $R^2 = 0.722$; $P < 0.001$), High Frequency ($\beta = -0.834$; $R^2 = 0.752$; $P < 0.001$), Low Frequency ($\beta = -0.627$; $R^2 = 0.330$; $P < 0.001$), SD1 ($\beta = -0.867$; $R^2 = 0.722$; $P < 0.001$) and SD2 ($\beta = -1.000$; $R^2 > 0.999$; $P < 0.001$). There was observed a negative cubic relationship between SS with PNN50 ($\beta = -1.972$; $R^2 = 0.644$; $P < 0.001$). A linear regression model was conducted between SS with Ratio Low/High Frequency ($\beta = 0.026$; $R^2 < 0.001$; $P = 0.750$). Non-linear power-law regression models were built between S/PS and SDNN ($\beta = -0.990$; $R^2 = 0.981$; $P < 0.001$), RMSSD ($\beta = -0.973$; $R^2 = 0.939$; $P < 0.001$), High Frequency ($\beta = -0.928$; $R^2 = 0.970$; $P < 0.001$), Low Frequency ($\beta = -2.344$; $R^2 = 0.557$; $P < 0.001$), SD1 ($\beta = -0.973$; $R^2 = 0.939$; $P < 0.001$) and SD2 ($\beta = -0.611$; $R^2 = 0.908$; $P < 0.001$). A non-negative regression model was built between S/PS and PNN50 ($\beta = -3.412$; $R^2 = 0.868$; $P < 0.001$). A linear regression model was conducted between S/PS and SD2/SD1 ($\beta = 0.075$; $R^2 = 0.006$; $P < 0.001$).

Conclusion: Our results support the use of SS as a sympathetic activity marker, and S/PS as an indicator of the sympathetic and parasympathetic activity of the autonomic nervous system in sedentary healthy adults.

Introduction

Heart Rate Variability (HRV) describes the differences between successive heart beats, and it is commonly assessed by measuring electrocardiographic RR intervals (Task force of the European Society of Cardiology and the North American Society for Pacing and Electrophysiology, 1996). According to Dantas et al. (Dantas et al., 2018), HRV is a psycho-physiological phenomenon with broad implications, that include physiological, neuro-psychological, pathological, environmental, and lifestyle issues, in addition to non-modifiable factors such as age or gender (Ernst, 2017; Fatissou et al., 2016). HRV is an accepted non-invasive method commonly used to describe the influence of the Autonomic Nervous System (ANS) on heart function (Almeida-Santos et al., 2016; Germán-Salló & Germán-Salló, 2016; Sztajzel, 2004). Increased HRV is linked to reduced stress and good health, while decreased HRV is associated with chronic diseases and high cardiovascular risk (Tsuji et al., 1996).

HRV characteristics can be determined by three different data analysis methods: (i) Time-Domain analysis, that includes, among others, standard deviation of RR intervals (SDNN), root mean square of successive differences (RMSSD), and percentage of successive RR intervals that differs in more than 50 ms (PNN50); (ii) Frequency-Domain analysis, that includes High Frequency (absolute values of power in 0.15 – 0.4 Hz band in milliseconds), Low Frequency, (absolute values of power in 0.04 – 0.15 Hz band in milliseconds) and Ratio Low/High Frequency (calculated as a quotient between Low and High Frequency) ; and (iii) Non-linear analysis, an approach which aims to quantify the structure and complexity of RR interval time series (Task force of the European Society of Cardiology and the North American Society for Pacing and Electrophysiology, 1996).

The HRV signals are non-stationary and non-linear in nature. The analysis of HRV dynamics by methods based on chaos theory and non-linear system theory is established on observations clearly indicating that the mechanisms involved in cardiovascular regulation likely interact with each other in a non-linear manner (Germán-Salló & Germán-Salló, 2016). Poincare Plot is widely considered as a non-linear method to analyse HRV (Tulppo et al., 1996) although there is still

controversy about this regard (Brennan et al., 2001). The RR intervals are represented against the previous one in a two-dimensional dispersion plot, showing a qualitative picture of the variations between RR intervals (Woo et al., 1992) and a quantitative HRV outcome (Brennan et al., 2001). SD1 is defined as the standard deviation orthogonal to the line of identity in Poincare Plot and SD2 is defined as the standard deviation along the line of identity (Shaffer & Ginsberg, 2017). SD1 is directly associated with parasympathetic activity (Hoshi et al., 2013). SD2, although is less well defined, seems to be inversely proportional to sympathetic activity (Naranjo-Orellana, Torres, et al., 2015). Some studies have reported an association of SD2 with sympathetic and parasympathetic activity (De Vito et al., 2002), while others have shown a negative strong association between SD2 and sympathetic activity (de la Cruz Torres et al., 2008; Naranjo-Orellana, Torres, et al., 2015).

Naranjo-Orellana et al. (Naranjo-Orellana, Torres, et al., 2015) proposed two new indexes from the Poincare Plot that should help for a better understanding of the autonomic balance through HRV analysis: (i) *Stress Score (SS)*, calculated as $1000 * 1/SD2$, as a direct assessment of sympathetic activity, and (ii) *Sympathetic/Parasympathetic Ratio (S/PS Ratio)*, calculated as $SS/SD1$, as an indicator of autonomic balance. Naranjo-Orellana et al. (Naranjo-Orellana, Torres, et al., 2015) studied the validity of SS and S/PS as HRV measurements and also set normal values for elite soccer players. However, to our knowledge, there are not studies investigating the validity of SS and S/PS as HRV indicators in sedentary healthy adults.

Therefore, we aimed (i) to evaluate the association of SS and S/PS with time domain and frequency domain analysis and (ii) to set the reference values of SS and S/PS in sedentary healthy adults. We hypothesized that high levels of SS and S/PS would be related to lower values of parasympathetic activity outcomes.

Materials & Methods

Participants and study design

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

A total of 156 participants (81 women) aged between 18–65 years old participated in the current cross-sectional study. Participants were sedentary (<20min of physical activity on <3 days/week) and healthy individuals from the province of Granada (Spain). The inclusion criteria were to show a stable body weight over the previous 3 months (changes <5 kg) and to have no chronic metabolic disease, cancer, or any problem that could be aggravated by physical activity. Participants were enrolled in two different randomized control trials, respectively: the FIT-AGEING study (ClinicalTrials.gov ID: NCT03334357) and the BEER-HIIT study (ClinicalTrials.gov ID: NCT03660579) which mainly aimed to investigate the effects of different exercise training modalities on health-related parameters. Both projects were approved by the Ethics Committees on Human Research of both the government authority and the University of Granada (0838-N-2017 and 321/CEIH/2017) and followed the principles of the last revised Declaration of Helsinki (7th revision of October 2013) (“World Medical Association Declaration of Helsinki,” 2013). All participants signed a written informed consent and agreed to transfer their scientific data for other scientific purposes or research studies.

Evaluation tests were performed at the Sports and Health Research Centre (CIDS)), University of Granada (Spain). Participants came to our laboratory between 7.00 and 11.00 a.m. meeting the following pre-conditions: (i) normal sleep the night before, (ii) abstaining from alcohol intake and drugs or stimulant consumption, including coffee and others stimulant 24h before, and (iii) avoiding strenuous physical exercise during the two days before the test. The environmental conditions were standardized (22–23°C).

HRV analysis

(i) HR assessment: The assessment of HRV was carried out in a supine position. Polar RS800CX (Polar Electro, Kempele, Finland) was used to evaluate HRV (R-R series activated). Heart activity was recorded for 15 minutes, and participants were instructed not to talk or move and to relax as much as possible. The participants were in a supine position for 5 minutes prior to the start of the HRV test.

(ii) HRV analysis: Data were downloaded by the Polar Pro Trainer 5[®] software. HRV files were analysed with the Kubios HRV Standard[®] (University of Eastern Finland, Kuopio, Finland) software (Tarvainen et al., 2014). Artefacts of the recordings were excluded eliminating RR intervals which differed more than 25% from the previous and the subsequent RR intervals and were replaced with conventional spline interpolation following the methodology described by previous studies and applying the medium filter provided by the Kubios HRV Standard[®] (Shaffer & Ginsberg, 2017). The smoothness prior approach with a Lambda value of 500 was used to remove not valid low-frequency baseline trend components (Tarvainen et al., 2014).

(iii) Time-domain frequency-domain and non-linear domain analysis: Results from the Time-Domain methods (SDNN, RMSSD and PNN50), the Frequency-Domain methods (HF, LF and LF/HF ratio) and the non-linear analyses (SD1, SD2 and SD2/SD1 ratio) were obtained by the HRV Kubios software following standard procedures (Task force of the European Society of Cardiology and the North American Society for Pacing and Electrophysiology, 1996). SS and S/SP were also calculated.

Statistical analyses

Data are expressed as mean \pm standard deviation. Mann-Whitney tests were carried out in order to assess the homogeneity of genders. Both linear and non-linear regression models were built to study the relation of SD1, SD2, SS and S/PS with variables traditionally used for HRV analysis. The relationship of SS and S/PS with age was also assessed. Normality of SS and S/PS was checked (i.e., Shapiro-Wilk test, visual check of histograms, and Q-Q plots) and Student Unpaired Test was used to look for differences between genders in SS and S/PS. Effect Size was calculated with Hedges' G correction formula, categorizing the results as trivial (<0.2), small (0.2-0.5), medium (0.5-0.8) and large (>0.8) based on a modification by Sullivan and Feinn (Sullivan & Feinn, 2012). Acceptance intervals categorized by age group (18-25, 35-45, 45-55 and 55-65 years old) were calculated setting confidence (1- α) at 0.95 and proportion of observations within the interval (π) at 0.90.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Statistical analyses were performed using the Statistical Package IBM Statistical Package for Social Sciences (IBM Corp. Released 2017. IBM SPSS Statistics for Windows, Version 25.0. Armonk, NY: IBM Corp.) and the Software Graph Pad Prism version 7.0 (Graph Pad Software Inc., San Diego, CA.). Type I error (α) was set at 0.05.

Results

Descriptive parameters of the study sample can be found in Table 12. Women showed lower Low/High Frequency Ratio and SD2/SD1 ratio than men (all $P < 0.05$).

Table 12. Descriptive values for all variables of the study

	All (n=156)	Men (n=75)	Women (n=81)
Age (years)	38.4 ± 15.57	39.1 ± 15.60	37.8 ± 15.6
Weight (kg)	72.3 ± 16.7	85.2 ± 17.6	64.2 ± 10.9
Height (m)	1.68 ± 0.09	1.76 ± 0.06	1.62 ± 0.05
Heart Rate (bpm)	66.2 ± 9.97	65.1 ± 10.15	67.4 ± 9.72
SDNN (ms)	41.3 ± 21.49	42.9 ± 22.96	39.87 ± 20.06
RMSSD (ms)	43.2 ± 27.57	43.4 ± 29.42	43.13 ± 25.9
PNN50 (%)	21.3 ± 21.15	21.4 ± 21.24	21.23 ± 21.21
High Frequency (ms ²)	941 ± 1225	945 ± 1454	937 ± 971
Low Frequency (ms ²)	941 ± 1099	1076 ± 1259	817 ± 919
Low/High Frequency Ratio	1.6 ± 1.96	1.8 ± 1.63*	1.5 ± 2.24*
SD1 (ms)	30.6 ± 19.53	30.7 ± 20.84	30.6 ± 18.4
SD2 (ms)	49.0 ± 24.56	51.3 ± 26.4	46.9 ± 22.7
SD2/SD1 Ratio	1.7 ± 0.59	1.91 ± 0.67*	1.7 ± 0.47*
SS (ms)	26.3 ± 14.05	25.9 ± 15.24	26.7 ± 12.91
S/PS Ratio	1.6 ± 2.11	1.8 ± 2.65	1.5 ± 1.43

Data are presented as Mean ± Standard Deviation. *Abbreviations.* SDNN; Standard Deviation of RR intervals, RMSSD; Square root of the mean squared differences between successive RR intervals; PNN50, Percentage of successive RR interval pairs that differ more than 50 ms, SD1; Standard deviation of Poincare Plot orthogonal to the line-of-identity, SD2; Standard Deviation of Poincare Plot along the line-of-identity, bpm; beats per minute, ms; milliseconds, ms²; milliseconds square, %; percentage, *; P<0.05 between gender on Mann-Whitney Test.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

The associations of SD1 with the Time-Domain, Frequency-Domain and non-linear analyses of HRV are presented in Figure 5. Linear regression models were established between SD1 with SDNN ($\beta= 0.932$; $R^2= 0.868$; $P<0.001$), RMSSD ($\beta= 1.000$; $R^2>0.999$; $P<0.001$), Low Frequency ($\beta= 0.674$; $R^2= 0.454$; $P<0.001$), and SD2 ($\beta= 0.846$; $R^2= 0.715$; $P<0.001$). Non-linear regression models were built between SD1 and PNN50, High Frequency and Ratio SD2/SD1. SD1 showed a sigmoid relationship with PNN50 ($\beta= 0.683$; $R^2= 0.945$; $P=0.028$), while a positive power relationship was observed between SD1 with High Frequency ($\beta= 1.988$; $R^2=0.858$; $P=0.028$). SD1 showed a negative power relationship with Ratio SD2/SD1 ($\beta= -0.591$; $R^2= 0.358$; $P= 0.028$). We did not observe a significant relationship between SD1 and Low/High Frequency Ratio ($\beta= -0.129$; $R^2= 0.016$; $P= 0.116$).

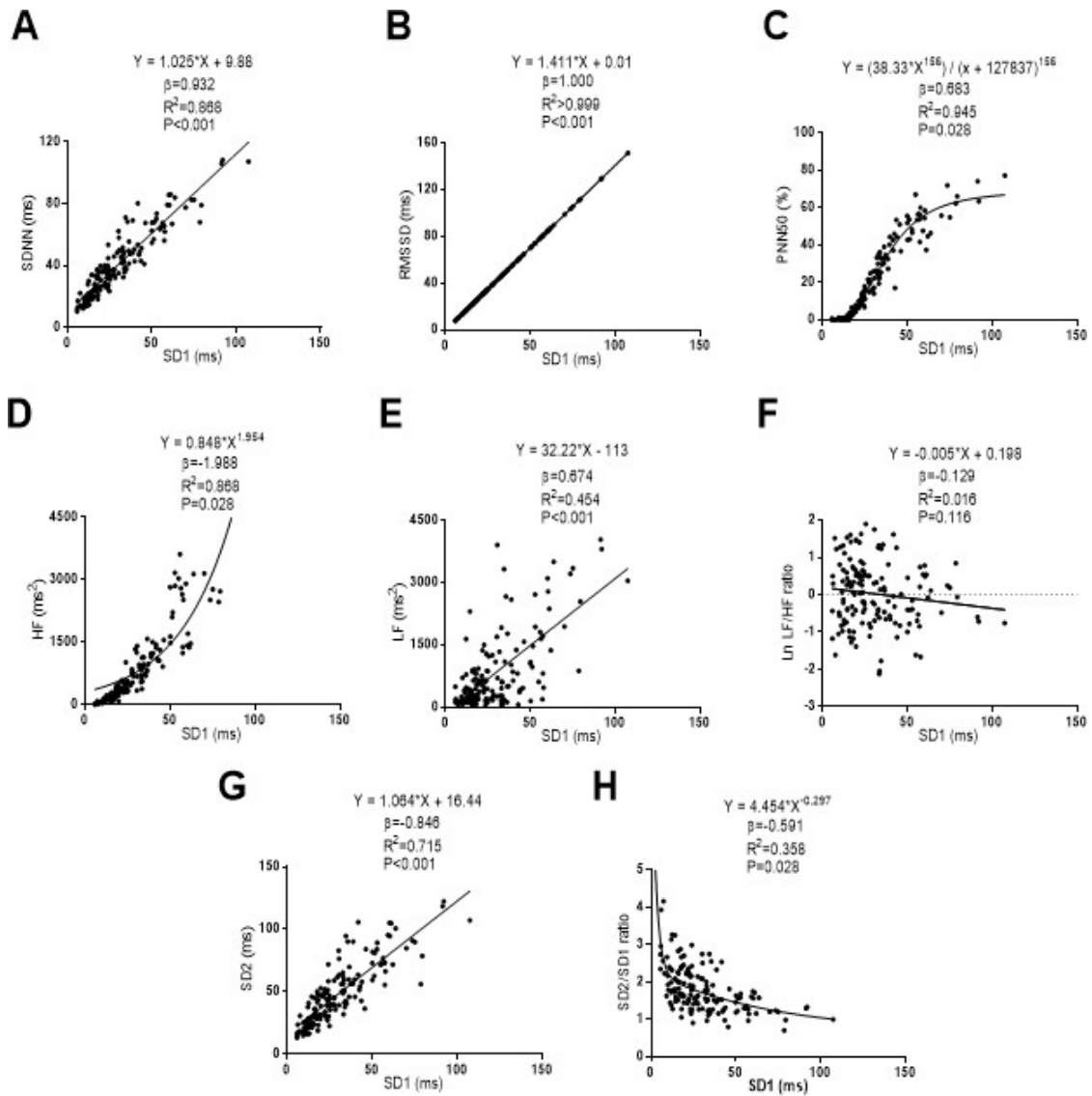


Figure 5. Association between SD1 and SDNN (A), RMSSD (B), PNN50 (C), high frequency (D), low frequency (E), ratio low-high frequency (F), SD2 (G) and ratio SD2/SD1 (H). β (standardized regression coefficient), R^2 (determination coefficient) and P (level of significance) from simple linear regression and non-linear regression analysis respectively. *Abbreviations:* SDNN, standard deviation of RR intervals; RMSSD, root mean square of successive differences; PNN50, percentage of successive intervals that differs more than 50 ms; SD1, standard deviation of Poincare plot orthogonal to the line-of-identity; SD2, standard deviation of Poincare plot along the line-of-identity; ms, milliseconds; %, percentage and ms^2 , milliseconds square.

The relationships between SD2 with the Time-Domain, Frequency-Domain and non-linear analysis outcomes can be seen in Figure 6. A linear regression model was established between SD2 with SDNN ($\beta = 0.968$; $R^2 = 0.963$; $P < 0.001$), RMSSD ($\beta = 0.846$; $R^2 = 0.716$; $P < 0.001$), PNN50 ($\beta = 0.797$; $R^2 = 0.635$; $P < 0.001$), Low Frequency ($\beta = 0.763$; $R^2 = 0.599$; $P < 0.001$), and SD1 ($\beta = 0.846$; $R^2 = 0.715$; $P < 0.001$). A non-linear regression model was established between SD2 and High Frequency showing a positive power relationship between them ($\beta = 0.834$; $R^2 = 0.690$; $P < 0.001$). There

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

was no relationship between SD2 and Low/High Frequency ratio ($\beta = -0.004$; $R^2 < 0.001$; $P = 0.958$), as well as between SD2 with SD2/SD1 ratio ($\beta = -0.114$; $R^2 = 0.014$; $P = 0.156$).

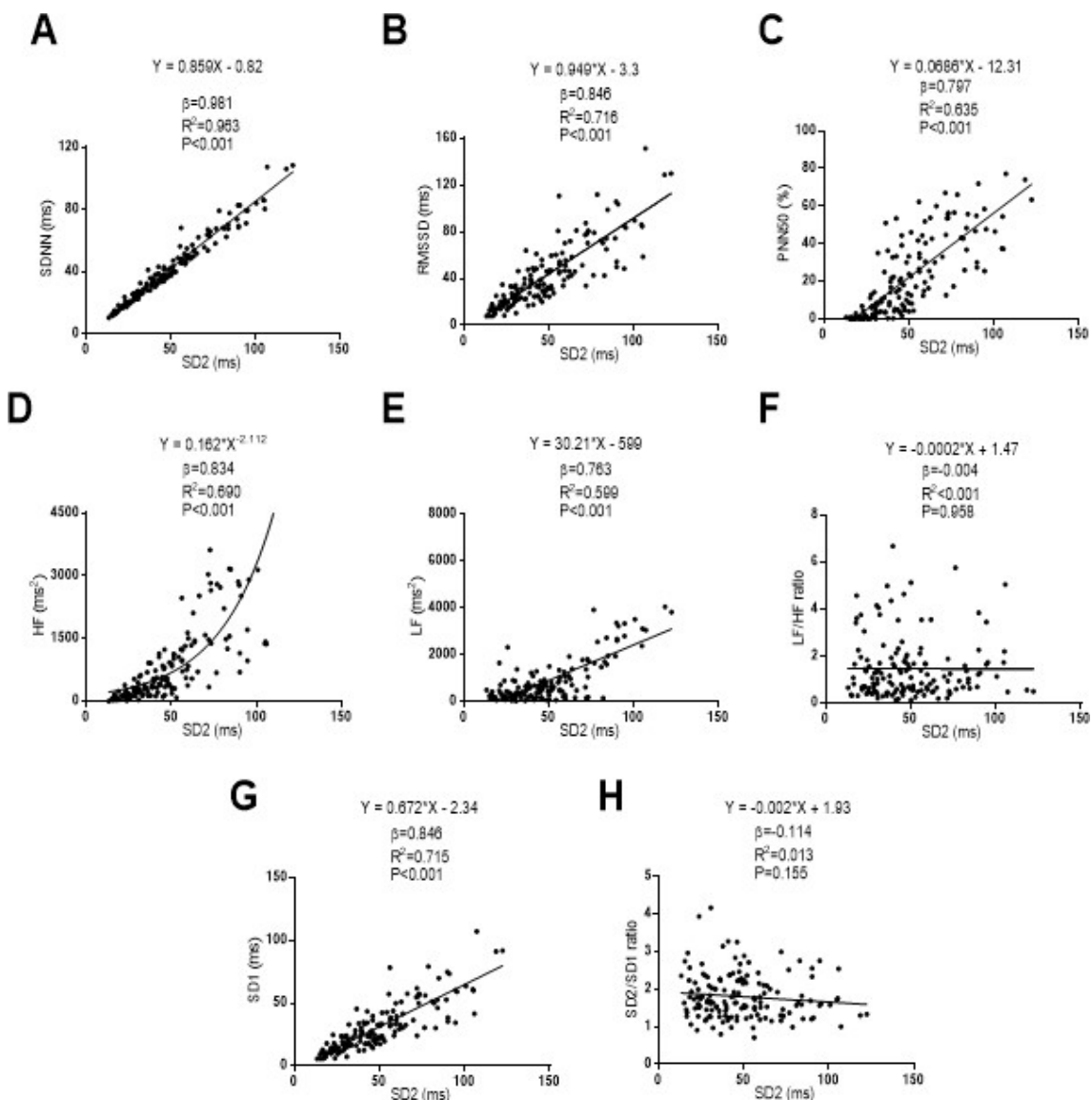


Figure 6. Association between SD2 and SDNN (A), RMSSD (B), PNN50 (C), high frequency (D), low frequency (E), ratio low-high frequency (F), SD1 (G) and ratio SD2/SD1 (H). β (standardized regression coefficient), R^2 (determination coefficient) and P (level of significance) from simple linear regression and non-linear regression analysis respectively. *Abbreviations:* SDNN, standard deviation of RR intervals; RMSSD, root mean square of successive differences; PNN50, percentage of successive intervals that differs more than 50 ms; SD1, standard deviation of Poincare plot orthogonal to the line-of-identity; SD2, standard deviation of Poincare plot along the line-of-identity; ms, milliseconds; %, percentage and ms^2 , milliseconds square.

The associations of SS with the Time-Domain, Frequency-Domain and non-linear analyses of HRV are presented in Figure 7. Non-linear regression models were established between SS with SDNN, RMSSD, High Frequency, Low Frequency, SD1 and SD2. SS showed a non-linear negative power-law

relationship with SDNN ($\beta = -0.969$; $R^2 = 0.963$; $P < 0.001$), RMSSD ($\beta = -0.867$; $R^2 = 0.722$; $P < 0.001$), High Frequency ($\beta = -0.834$; $R^2 = 0.752$; $P < 0.001$), Low Frequency ($\beta = -0.627$; $R^2 = 0.330$; $P < 0.001$), SD1 ($\beta = -0.867$; $R^2 = 0.722$; $P < 0.001$) and SD2 ($\beta = -1.000$; $R^2 > 0.999$; $P < 0.001$). There was observed a negative cubic relationship between SS with PNN50 ($\beta = -1.972$; $R^2 = 0.644$; $P < 0.001$). A linear regression model was conducted between SS with Ratio Low/High Frequency ($\beta = 0.026$; $R^2 < 0.001$; $P = 0.750$). No linear association was observed between SS and Ratio SD2/SD1 ($\beta = 0.112$; $R^2 = 0.010$; $P = 0.204$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

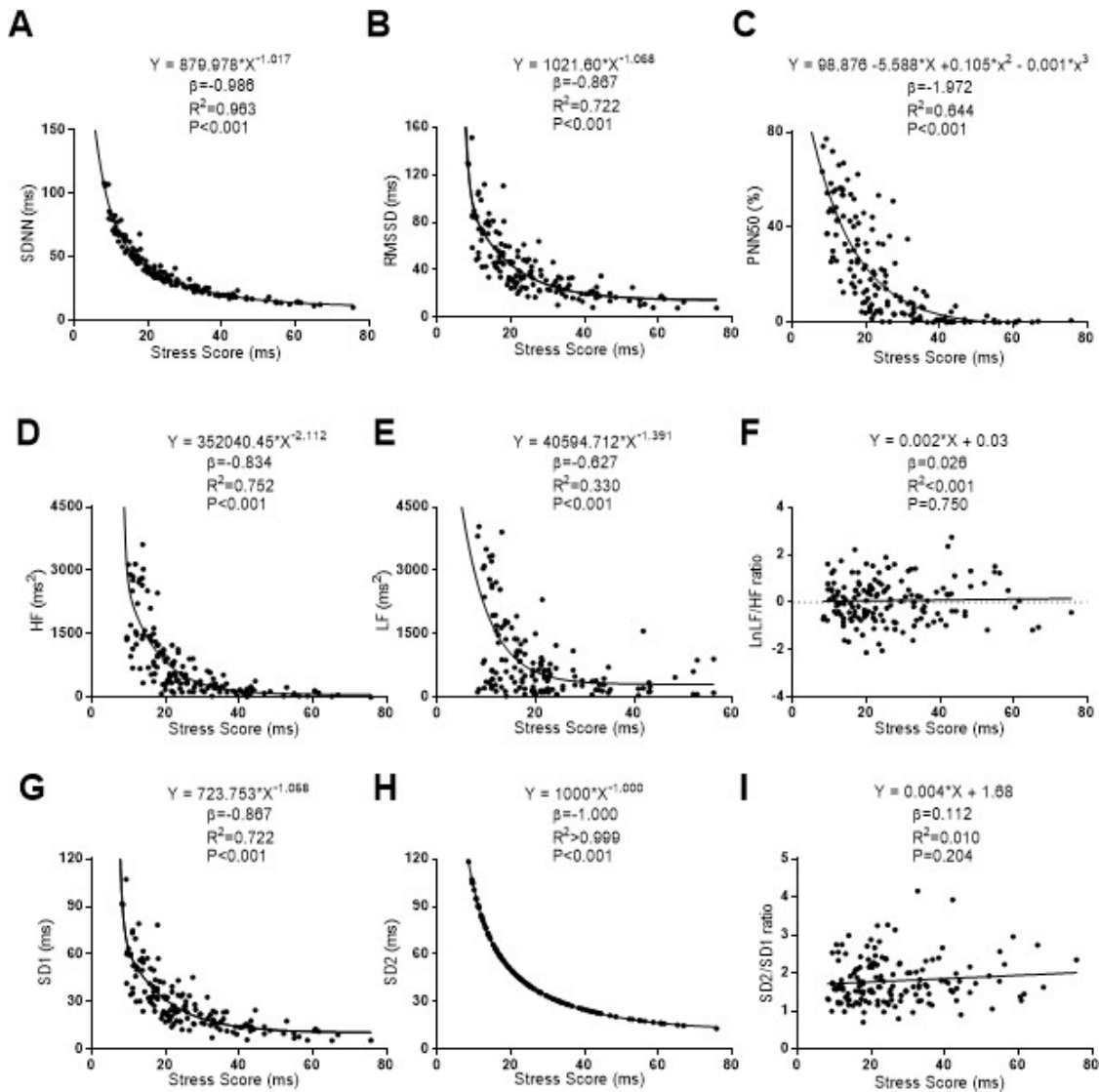


Figure 7. Association between SS and SDNN (A), RMSSD (B), PNN50 (C), high frequency (D), low frequency (E), ratio low–high frequency (F), SD1 (G), SD2 (H) and ratio SD2/SD1 (I). β (standardized regression coefficient), R^2 (determination coefficient) and P (level of significance) from simple linear regression and non-linear regression analysis respectively. *Abbreviations:* SDNN, standard deviation of RR intervals; RMSSD, root mean square of successive differences; PNN50, percentage of successive intervals that differs more than 50 ms; SD1, standard deviation of Poincare plot orthogonal to the line-of-identity; SD2, standard deviation of Poincare plot along the line-of-identity; Ln, Napierian logarithm; ms, milliseconds; %, percentage and ms^2 , milliseconds square.

The associations of S/PS with the Time-Domain, Frequency-Domain and non-linear analyses of HRV can be seen in Figure 8. Non-linear power-law regression models were built between S/PS and SDNN ($\beta = -0.990$; $R^2 = 0.981$; $P < 0.001$), RMSSD ($\beta = -0.973$; $R^2 = 0.939$; $P < 0.001$), High Frequency ($\beta = -0.928$; $R^2 = 0.970$; $P < 0.001$), Low Frequency ($\beta = -2.344$; $R^2 = 0.557$; $P < 0.001$), SD1 ($\beta = -0.973$; $R^2 = 0.939$; $P < 0.001$) and SD2 ($\beta = -0.611$; $R^2 = 0.908$; $P < 0.001$). A non-linear negative regression model was built between S/PS and PNN50 ($\beta = -3.412$; $R^2 = 0.868$;

$P < 0.001$). A linear regression model was conducted between S/PS and SD2/SD1 ($\beta = 0.075$; $R^2 = 0.006$; $P < 0.001$). We did not find any association between S/PS with Ratio Low/High Frequency ($\beta = 0.075$; $R^2 = 0.006$; $P < 0.357$).

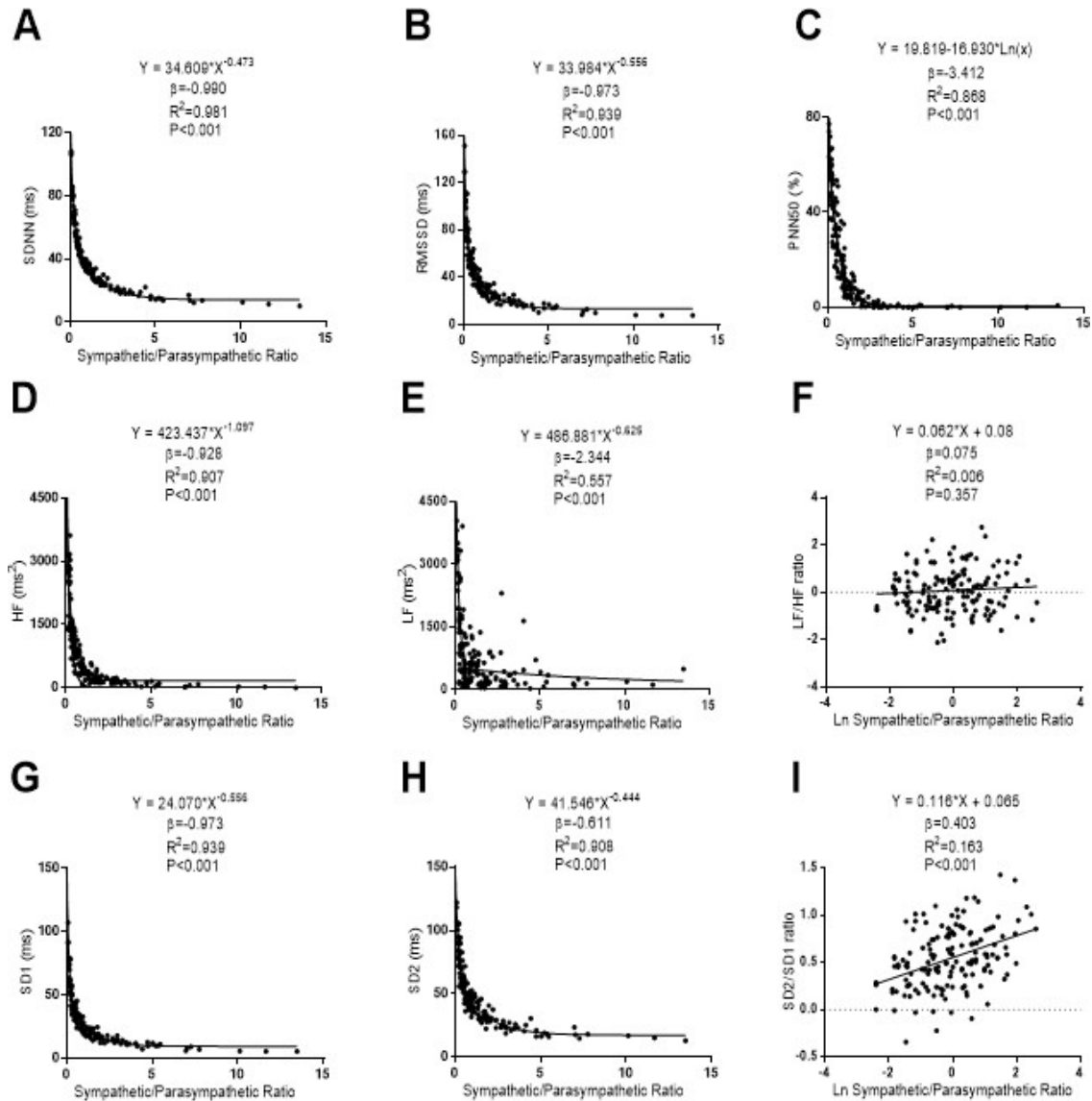


Figure 8. Association between SS and SDNN (A), RMSSD (B), PNN50 (C), high frequency (D), low frequency (E), ratio low–high frequency (F), SD1 (G), SD2 (H) and ratio SD2/SD1 (I). β (standardized regression coefficient), R^2 (determination coefficient) and P (level of significance) from simple linear regression and non-linear regression analysis respectively. *Abbreviations:* SDNN, standard deviation of RR intervals; RMSSD, root mean square of successive differences; PNN50, percentage of successive intervals that differs more than 50 ms; SD1, standard deviation of Poincare plot orthogonal to the line-of-identity; SD2, standard deviation of Poincare plot along the line-of-identity; ms, milliseconds; %, percentage and ms^2 , milliseconds square; Ln, Napierian logarithm.

The associations of SS and S/PS with the participants' age are presented in Figure 9. There was a linear positive association of SS and S/PS with the

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

participants' age ($\beta = 0.424$; $R^2 = 0.180$; $P < 0.001$; $\beta = 0.460$; $R^2 = 0.212$; $P < 0.001$, respectively).

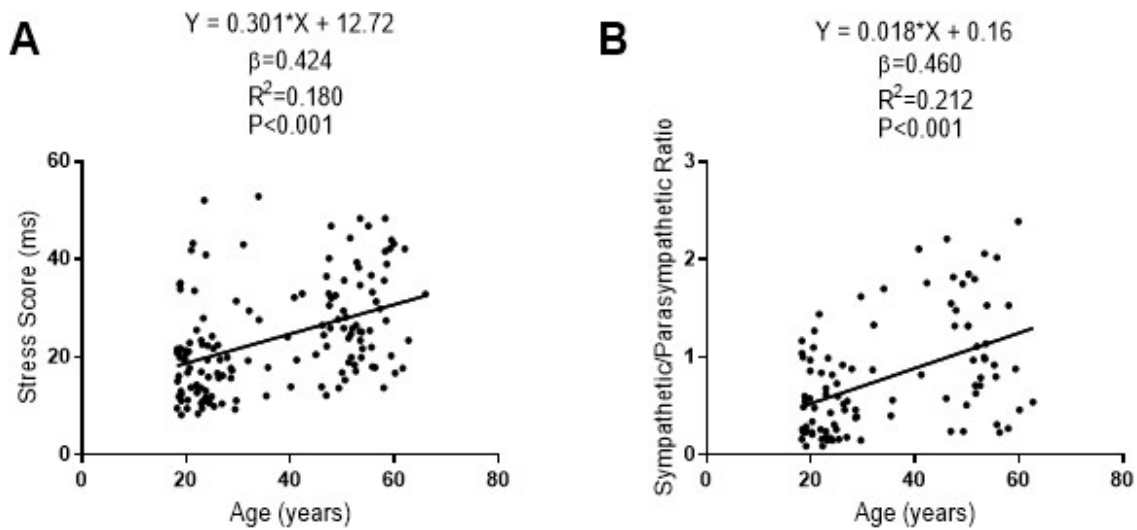


Figure 9. Association between age and SS (A) and S/PS ratio (B) for central 90% of distribution of each dependent variable. β (standardized regression coefficient), R^2 (determination coefficient) and P (level of significance) from a simple linear regression analysis. *Abbreviations:* ms, milliseconds

We performed a comparative analysis of SS and S/PS normalized by logarithmic transformation between sexes in Figure 10. No significant differences were found between sexes (all $P > 0.425$), and a trivial effect size was detected in both cases (0.052 and 0.171, respectively).

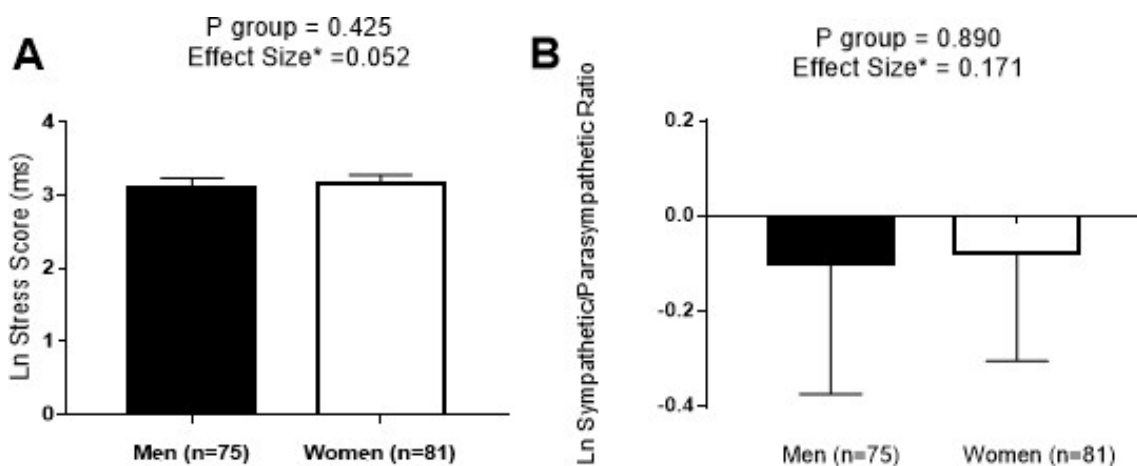


Figure 10. Differences between sexes in SS (A) and S/PS ratio (B). Data are represented as Mean \pm 95% CI. *Abbreviations:* P, level of significance calculated by Student T-Test; Ln, Napierian logarithm; ms, milliseconds; *, correction of Hedges' G effect size formula.

SS and S/PS acceptance intervals calculated by age groups are presented in Table 13. The acceptance intervals were generally wide in older than younger participants.

Table 13 Acceptance intervals for SS and S/PS ratio dividing by age group.

Age groups	SS (ms)	S/PS Ratio
18 – 25 years old ($n = 55$)	(6.89; 46.42)	(0.06; 4.12)
25 – 35 years old ($n = 20$)	(6.62; 55.77)	(0.06; 5.79)
35- 45 years old ($n = 8$)	(6.60; 63.35)	(0.07; 8.65)
45 – 55 years old ($n = 44$)	(12.10; 66.18)	(0.27; 8.28)
55 – 65 years old ($n = 28$)	(12.16; 89.73)	(0.14; 21.14)

Note: Acceptance intervals were calculated with $\alpha = 0.05$ and $\pi = 0.90$. *Abbreviations:* n, number of participants; ms, milliseconds.

Discussion

The main results of this study suggested that SS could be considered an excellent indicator of the sympathetic activity, and that S/PS can accurately determine the relationships between the sympathetic and parasympathetic activities of the ANS.

It has been previously reported that SD1 showed a positive relationship with RMSSD, PNN50 and High Frequency, which are related to the parasympathetic activity (Thayer et al., 2010), and also with SDNN, which is considered a global HRV marker (Michael et al., 2017). Our findings concurred with those observed in previous investigations suggesting SD1 as a good parasympathetic activity marker (Hoshi et al., 2013; Tulppo et al., 1996).

There is controversial evidence about the physiological implications of SD2 as an HRV outcome. Previous studies have considered SD2 as an inverse indicator of the sympathetic activity (Naranjo-Orellana, Torres, et al., 2015). Considering the almost perfect negative correlation between SD2 and SDNN in addition to a strong negative correlation of SD2 with RMSSD, PNN50 and High Frequency observed in our study, our findings support the notion that SD2 can be

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

considered an excellent index of the inverse sympathetic activity (Naranjo-Orellana, Torres, et al., 2015).

SS showed a strong negative relationship with well-known parasympathetic activity markers (i.e., SDNN, RMSSD, PNN50, High Frequency and SD1) (Thayer et al., 2010). Assuming the relationships between the sympathetic and parasympathetic activity of the ANS (Almeida-Santos et al., 2016; Sztajzel, 2004), SS could be considered a good indicator of sympathetic activity. Our results concurred with those reported by a previous study developed in professional soccer players (Naranjo-Orellana, Torres, et al., 2015) observing slightly higher values of SS in our study. These differences could be explained because our participants were sedentary healthy adults, and a predominance of sympathetic activity related to age and physical fitness level has been previously described (Lanfranchi & Somers, 2002; Valentini & Parati, 2009) compared with professional soccer players (Naranjo-Orellana, Torres, et al., 2015).

S/PS has been proposed as an indicator of autonomic balance (Naranjo-Orellana, Torres, et al., 2015). The HRV outcomes proposed to assess the relationship between sympathetic and parasympathetic activity of the ANS are (i) Low/High Frequency Ratio (Montano et al., 1994) and (ii) SD2/SD1 ratio (Guzik et al., 2007). On the one hand, we did not find any significant relationship between S/PS and Low/High Frequency ratio, thus, taking together our finding and those obtained by a previous study (Michael et al., 2017), Low Frequency should not be considered a good sympathetic activity indicator. Consequently, the Low/High Frequency ratio should not be considered a valid index to analyse the relationship between the sympathetic and parasympathetic activities (Billman, 2013; Medeiros et al., 2018). On the other hand, Naranjo-Orellana et al. (Naranjo-Orellana, Torres, et al., 2015) suggested that SD2/SD1 is not a good measurement of sympathetic and parasympathetic function, since it would rather provide information about the inverse of the sympathetic function and the parasympathetic function (Naranjo-Orellana, Torres, et al., 2015). In this sense, the relationship of S/PS Ratio behaviour with the time-domain HRV outcomes

observed in our study concurred with the findings reported by Naranjo-Orellana et al. (Naranjo-Orellana, Torres, et al., 2015).

We found a trivial effect size in SS and S/PS between sexes that concurred with the results reported in a recent meta-analysis in which a small effect size between sexes in SD1 and SD2 was observed (Koenig & Thayer, 2016). The aging process is accompanied by a loss of global autonomic regulation and a prevalence of the sympathetic activity of the ANS according to Almeida-Santos et al. (Almeida-Santos et al., 2016). Therefore, the positive and strong linear relationship between SS and S/PS with age supports the use of both parameters as an excellent sympathetic activity and ANS balance markers.

We divided our participants cohort into five age groups and we calculated acceptance intervals for each one. The normal values of SS and S/PS were higher in older participants, which is consistent with the age-related effects on ANS balance previously described. Naranjo-Orellana et al. (Naranjo-Orellana, Torres, et al., 2015) set reference values for SS and S/PS of professional soccer players through percentiles. However, we calculated acceptance intervals for our study cohorts. Acceptance intervals are an inference statistical method that shows up tolerance limits of each variable (calculated in function of the average, standard deviation and K factor) determined on the base of the sample size, confidence (α), and the proportion of observations within the interval (π) (Andres & del Castillo, 1998). Therefore, the use of acceptance intervals allows us to give reference values more accurately than using percentiles.

The results of the current study should be considered cautiously, since some limitations are present. We conducted the FIT-AGEING and the HIIT-BEER projects in two different seasons (autumn vs. winter). Kristal-Boneh et al. (Andres & del Castillo, 1998) reported a variation coefficient lower to 3% over SDNN, RMSSD and PNN50 between different seasons of the year (winter vs. summer), but to our knowledge, there are no studies that have investigated the effects of seasonal variation on non-linear HRV outcomes in sedentary healthy adults. Moreover, these findings cannot be extended to older and/or younger individuals.

Conclusions

In summary, the results of our study support the use of SS as a sympathetic activity marker and S/PS as an indicator of the sympathetic and parasympathetic activities of the ANS in sedentary healthy adults. These findings have important clinical implications since the determination of SS and S/PS by HRV assessment seems to be a simply, cheap and valuable method to study both the sympathetic and parasympathetic activities of the ANS in sedentary but healthy adults.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Different exercise training modalities similarly improve Heart Rate Variability in sedentary middle-aged adults: The FIT-AGEING randomized controlled trial

Ginés Navarro-Lomas ¹, Manuel Dote-Montero ^{1,2}, Juan MA Alcantara ², Abel Plaza-Florido ², Manuel J. Castillo ¹, Francisco J. Amaro-Gahete ^{1,2}

1: EFFECTS-262 Research Group, Department of Physiology, Faculty of Medicine, University of Granada, Avda. de la Investigación 11, 18016 Granada, Spain

2: PROmoting FITness and Health Through Physical Activity Research Group (PROFITH), Sport and Health University Research Institute (iMUDS), Department of Physical and Sports Education, Faculty of Sport Sciences, University of Granada, Camino de Alfacar s/n, Granada, 18071, Spain

Abstract

Purpose: This study aimed to investigate the influence of different exercise training modalities on Heart Rate Variability (HRV) in sedentary middle-aged adults; and to study whether changes in health-related outcomes (i.e., body composition and cardiometabolic risk) are associated with those hypothetical HRV changes in sedentary middle-aged adults.

Methods: A total of 66 middle-aged adults (53.6 ± 4.4 years old; 50% women) were enrolled in the FIT-AGEING study. We conducted a 12-week randomized controlled trial. The participants were randomly assigned to 4 groups: (a) a control group (no exercise), (b) a physical activity recommendation from the World Health Organization group (PAR), (c) a high-intensity interval training group (HIIT), and (d) a High-Intensity Interval training group adding whole-body electromyostimulation (HIIT+EMS).

Results: All exercise training modalities induced changes in HRV parameters (all $P \leq 0.001$) without statistical differences between them (all $P > 0.05$). We found associations between changes in body composition and cardiometabolic risk and exercise-related changes in HRV.

Conclusion: Our results suggest that different exercise interventions (i.e., PAR, HIIT and HIIT+EMS) induced an enhancement of HRV in sedentary middle-aged adults. Our findings support the notion that exercise-related changes in HRV are associated with changes in body composition and cardiometabolic risk after the intervention program.

Introduction

Heart Rate Variability (HRV) describes the time differences between successive R-R intervals (Navarro-Lomas et al., 2020; Task force of the European Society of Cardiology and the North American Society for Pacing and Electrophysiology, 1996). HRV is commonly used as a non-invasive method to describe the influence of the autonomic nervous system on heart function (Almeida-Santos et al., 2016; Navarro-Lomas et al., 2020; Wong & Figueroa, 2021). Concretely, HRV is a psychophysiological phenomenon with broad implications (Dantas et al., 2018), including physiological, neuro-psychological, pathological, environmental and lifestyle factors (Ernst, 2017; Navarro-Lomas et al., 2020; Zulfiqar et al., 2010). Interestingly, previous studies have reported that decreased vagal-related HRV parameters [e.g., RMSSD (Square root of the mean squared differences between successive RR intervals)] during resting conditions are associated with a higher incidence of several chronic cardiometabolic diseases (e.g., obesity or type 2 diabetes), while the increase of these HRV parameters is related to a healthy status and reduced levels of stress (Navarro-Lomas et al., 2020; Tsuji et al., 1996). Hence, a reduced HRV during resting conditions is associated with an increased risk of a first cardiovascular event in populations without known cardiovascular disease (Hillebrand et al., 2013). Furthermore, a decrease in vagal-related HRV parameters has been related to ageing processes, especially from 40 to 60 years (Plaza-Florido et al., 2020).

Physical exercise is currently considered a promising strategy to improve HRV (i.e., increase vagal-related HRV parameters during resting) (Felber Dietrich et al., 2008; Wong & Figueroa, 2021). In addition, low levels of physical activity have been linked to a higher risk of cardiovascular disease, obesity and co-morbidities, and all-cause mortality (Alansare et al., 2018; Amaro-Gahete, De-la-O, Jurado-Fasoli, Martinez-Tellez, et al., 2019; Fiuza-Luces et al., 2018). Nonetheless, the majority of people in developed societies do not meet physical activity recommendations from the World Health Organization arguing the lack of time as the main reason (Choi et al., 2017; Gómez-López et al., 2010). In this context, less time-consuming training methodologies have recently emerged, such as

High-Intensity Interval Training (HIIT) or Whole Body Electromyostimulation training (EMS) (Amaro-Gahete, De-la-O, Jurado-Fasoli, Martinez-Tellez, et al., 2019) obtaining from them and its combination promising results on body composition, cardiometabolic risk factors (i.e., metabolic syndrome markers) and other health-related outcomes in sedentary, but healthy, middle-aged adults (Amaro-Gahete, De-La-O, et al., 2019; Amaro-Gahete, De-la-O, Jurado-Fasoli, Martinez-Tellez, et al., 2019; Amaro-Gahete, De-la-O, Jurado-Fasoli, Ruiz, et al., 2019).

A long-term aerobic exercise intervention has been proposed as an effective tool to increase vagal-related HRV parameters during resting conditions in adults (Albinet et al., 2010; Tulppo et al., 2003). Furthermore, a HIIT program seems to induce better adaptations in HRV compared with those obtained in response to a moderate-intensity continuous training in physically inactive adults aged between 20 to 40 years (Alansare et al., 2018). Interestingly, a 6-week EMS intervention did not promote additional benefits on HRV in addition to those observed from a similar exercise training alone in obese patients aged between 18 to 50 years after bariatric surgery (Ricci et al., 2020). Nevertheless, EMS effects over HRV parameters have not been previously studied in sedentary middle-aged adults (45–65 years old). Moreover, to the best of our knowledge, no previous studies compared the effects of 3 different exercise training modalities on HRV in sedentary middle-aged adults. Therefore, the present study aimed (i) to investigate the influence of different exercise training modalities [i.e., (a) concurrent training (aerobic + resistance training) based on physical activity recommendation from the World Health Organization (PAR), (b) HIIT, and (c) HIIT+EMS] on HRV in sedentary middle-aged adults, and (ii) to study whether changes in health-related outcomes (i.e., body composition and cardiometabolic risk) are associated with those hypothetical HRV changes in sedentary middle-aged adults. We hypothesized (i) that all exercise interventions will induce significant improvements in HRV, especially in HIIT and HIIT+EMS groups; and (ii) that exercise-related changes in HRV will be related to changes in body composition and cardiometabolic risk in sedentary, middle-aged adults.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Methods

Participants

A total of 66 middle-aged adults (45–65 years old; 50% women) were enrolled in the FIT-AGEING randomized controlled trial (clinicaltrial.gov: ID: CT03334357) (Amaro-Gahete, De-la-O, Jurado-Fasoli, et al., 2018). Participants were sedentary (i.e., <20 min of physical activity on <3 days/week during the last 3 months) and healthy individuals from the province of Granada (Spain). The inclusion criteria were (i) to have a stable body weight over the previous 3 months (i.e., changes <5 kg) and (ii) to have no chronic metabolic disease, cancer, or any health problem that could be aggravated by physical activity. Moreover, a medical examination was done before the intervention program.

Ethics statement

The study procedures were approved by the Human Research Ethics Committee of the “Junta de Andalucía” [0838- N-2017] and followed the principles of the last revised Declaration of Helsinki (7th revision of October 2013). All participants provided written informed consent.

Study design

We conducted a 12-week randomized controlled trial with a parallel-group design following the CONSORT (Consolidated Standards of Reporting Trials) guidelines (see Table 14). After completing the baseline (i.e., pre-exercise intervention) measurements (see Amaro-Gahete et al. (Amaro-Gahete, De-la-O, Jurado-Fasoli, et al., 2018) for detailed information), the participants were randomized into four different groups using a computer-generated simple randomization software: (a) control group (no exercise), (b) PAR group, (c) HIIT group, and (d) HIIT + EMS group. All participants were instructed to maintain their usual physical activity levels, lifestyle habits and not to be engaged in other structured exercise interventions outside of the assigned program. No dietary prescriptions or instructions to the participants in the control and exercise groups were provided. The participants were asked to maintain their dietary habits during the intervention period.

Table 14. CONSORT 2010 checklist of information to include when reporting a randomized trial



CONSORT 2010 checklist of information to include when reporting a randomised trial

Section/Topic	Item No	Checklist item
Title and abstract	1a	Identification as a randomised trial in the title
	1b	Structured summary of trial design, methods, results, and conclusions (for specific guidance see the CONSORT Statement)
Introduction		
Background and objectives	2a	Scientific background and explanation of rationale
	2b	Specific objectives or hypotheses
Methods		
Trial design	3a	Description of trial design (such as parallel, factorial) including allocation ratio
	3b	Important changes to methods after trial commencement (such as eligibility criteria), with reasons
Participants	4a	Eligibility criteria for participants
	4b	Settings and locations where the data were collected
Interventions	5	The interventions for each group with sufficient details to allow replication, including how and when they were administered
Outcomes	6a	Completely defined pre-specified primary and secondary outcome measures, including how and when they were assessed
	6b	Any changes to trial outcomes after the trial commenced, with reasons
Sample size	7a	How sample size was determined
	7b	When applicable, explanation of any interim analyses and stopping guidelines
Randomisation:		
Sequence generation	8a	Method used to generate the random allocation sequence
	8b	Type of randomisation; details of any restriction (such as blocking and block size)
Allocation concealment mechanism	9	Mechanism used to implement the random allocation sequence (such as sequentially numbered opaque envelopes); details on any steps taken to conceal the sequence until interventions were assigned
Implementation	10	Who generated the random allocation sequence, who enrolled participants, and who assigned participants to interventions
Blinding	11a	If done, who was blinded after assignment to interventions (for example, participants, care providers, investigators, those assessing outcomes) and how
	11b	If relevant, description of the similarity of interventions
Statistical methods	12a	Statistical methods used to compare groups for primary and secondary outcomes

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

	12b	Methods for additional analyses, such as subgroup analyses and adjusted analyses	9-10
Results			
Participant flow (a diagram is strongly recommended)	13a	For each group, the numbers of participants who were randomly assigned, received intended treatment, and were analysed for the primary outcome	12
	13b	For each group, losses and exclusions after randomisation, together with reasons	12
Recruitment	14a	Dates defining the periods of recruitment and follow-up	6
	14b	Why the trial ended or was stopped	Not applicable
Baseline data	15	A table showing baseline demographic and clinical characteristics for each group	12
Numbers analysed	16	For each group, number of participants (denominator) included in each analysis and whether the analysis was by original assigned groups	12
Outcomes and estimation	17a	For each primary and secondary outcome, results for each group, and the estimated effect size and its precision (such as 95% confidence interval)	12
	17b	For binary outcomes, presentation of both absolute and relative effect sizes is recommended	11-12
Ancillary analyses	18	Results of any other analyses performed, including subgroup analyses and adjusted analyses, distinguishing pre-specified from exploratory	11-12
Harms	19	All important harms or unintended effects in each group (for specific guidance see CONSORT for harms)	11-12
Discussion			
Limitations	20	Trial limitations, addressing sources of potential bias, imprecision, and, if relevant, multiplicity of analyses	13-15
Generalisability	21	Generalisability (external validity, applicability) of the trial findings	13-15
Interpretation	22	Interpretation consistent with results, balancing benefits and harms, and considering other relevant evidence	13-15
Other information			
Registration	23	Registration number and name of trial registry	6
Protocol	24	Where the full trial protocol can be accessed, if available	6
Funding	25	Sources of funding and other support (such as supply of drugs), role of funders	15

*We strongly recommend reading this statement in conjunction with the CONSORT 2010 Explanation and Elaboration for important clarifications on all the items. If relevant, we also recommend reading CONSORT extensions for cluster randomised trials, non-inferiority and equivalence trials, non-pharmacological treatments, herbal interventions, and pragmatic trials. Additional extensions are forthcoming: for those and for up to date references relevant to this checklist, see www.consort-statement.org.

Training modalities

We have previously reported a detailed description of each training modality in a methodological manuscript (Amaro-Gahete, De-la-O, Jurado-Fasoli, et al., 2018). In brief, each session started with a dynamic standardized warm-up and finished with an active global stretching cooling-down protocol in all intervention groups. To be included in the per protocol analysis, an attendance of at least 90% of sessions was required.

PAR group completed three concurrent training (i.e., combination of endurance and resistance training) sessions per week for 12 weeks with at least 48 h of recovery between sessions. Endurance training consisted of 150 min/week (organized in 10 min bouts) at 60–65% of their heart rate reserve. Resistance training was performed at 40–50% of one-repetition maximum. Different ergometers (i.e., treadmill, cycle-ergometer, and elliptical ergometer) were selected to conduct the endurance training, and weight-bearing and guided pneumatic machines were selected to conduct the resistance training (i.e., squat, bench press, dead lift, and lateral pull-down). Also, compensatory exercises (e.g., flexibility or core stability) were realized to minimize the risk of injuries.

HIIT group performed an intervention program characterized by short and intermittent efforts of high intensity, interspersed with rest periods at passive or low-intensity exercises. The participants performed a total of 2 sessions/week for 12 weeks following 2 different complementary protocols: (i) high-intensity interval training with long intervals (type A session), and (ii) high-intensity interval training with short intervals (type B session). The training volume was 40–65 min/week at >95% of the maximum oxygen uptake ($VO_2\text{max}$) in type A sessions, and >120% of the $VO_2\text{max}$ in type B sessions. Type A sessions had a maximal duration of 24 min/session, where participants completed 6–10 sets of 4 or 5 min (2- or 3- min work/2 min rest). Type B sessions had a maximal duration of 37 min/session, where participants performed 2 or 3 sets (8–12.5 min of duration) of 16 exercises (15–30 s work/15–30 s rest) with an active rest of 5 min at 60% between sets. The exercise program for type A sessions was based on walking on a treadmill with a personalized slope, and type B sessions

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

included a circuit workout with 8 weight-bearing exercises (i.e., squat, dead lift, high knees up, high heels up, push up, horizontal row, lateral plank, and frontal plank).

HIIT + EMS group completed a training program that followed the same structure that HIIT in terms of the type of exercise, training intensity, training frequency and training volume including EMS to check whether this additional stimulus induces an extra effect on HRV parameters. Bipolar, symmetrical, and rectangular electric pulse was applied with: (a) a frequency of 15-20 hertz in type A sessions, and 35-75 hertz in type B sessions, (b) an intensity of 100 milliamps in type A sessions, and 80 milliamps in type B sessions, (c) an impulse breadth of 200-400 μ s (thigh zone = 400 μ s, glute zone = 350 μ s, abdominal zone = 300 μ s, dorsal zone = 250 μ s, cervical zone = 200 μ s, chest zone = 200 μ s, and arm zone = 200 μ s), and (d) a duty cycle (ratio of on-time to the total cycle time: % duty cycle = 100/ [total time/ on-time]) of 99% in type A sessions, and 50%-63% in type B sessions. A whole-body electromyostimulation device manufactured by Wiemspro® (Malaga, Spain) was used.

HRV

Participants came to our laboratory, by motorized vehicle and avoiding any physical activity since they woke up, between 8.00 and 10.00 a.m. following specific study pre-conditions: (i) fasting conditions, (ii) not altered sleep pattern the night before, (iii) to be abstained from alcohol intake and drugs or stimulant consumption, including coffee and other stimulants 24 h before, and (iv) to avoid moderate-intensity physical activity (24 hours) and vigorous-intensity physical activity (48 hours) before the test. The environmental conditions were standardized (room temperature = 22–23 °C).

The assessment of the R-R signal was carried out with the participant lying on a stretcher in the supine position. To obtain a repeatable HRV measure, R-R signal recording lasted 15 minutes (after 10 minutes of acclimation) (Schroeder et al., 2004). We used the Polar RS800CX (Polar Electro, Kempele, Finland) to record the R-R signal. In previous studies, polar RS800CX has been showed as a reliable (intraclass correlation coefficients for test-retest reliability ranges

from 0.29 to 0.61) (Vasconcellos et al., 2015) and valid (Pearson correlation coefficient < 0.97 compared with high quality electrocardiogram) (Gamelin et al., 2008) tool for HRV assessment. Participants were instructed not to talk or to move, and to relax as much as possible but being awake. R-R recordings were downloaded by the Polar Pro Trainer 5[®] software (Polar Electro, Finland) and were analyzed with the Kubios HRV Standard[®], free version 2.2 software (University of Eastern Finland, Kuopio, Finland) (Tarvainen et al., 2014), following the methodology described in previous studies and applying the medium filter provided by the Kubios HRV Standard[®] (Plaza-Florido et al., 2021; Shaffer & Ginsberg, 2017). The smoothness prior approach with a Lambda value of 500, and a cubic interpolation at the default rate of 4 Hz, was used to remove not valid low-frequency baseline trend components. Considering the findings obtained in a previous study that analyzed the quantification of the inter-researcher (Intraclass Correlation Coefficient ranges from 0.850 to 0.987, Coefficient of Variation lower than 21.1%) and intra-researcher (Intraclass Correlation Coefficient ranges from 0.951 to 0.995, Coefficient of Variation lower than 13.7%) differences in HRV of the present cohort, HRV analyses were conducted by the same trained researcher to obtain reproducible and valid data (Plaza-Florido et al., 2020).

HRV parameters in Time-Domain [i.e., SDNN (Standard Deviation of RR intervals) and RMSSD] and non-linear analyses (i.e., Poincare Plot) were derived by the HRV Kubios software following standard procedures (Task force of the European Society of Cardiology and the North American Society for Pacing and Electrophysiology, 1996). SDNN is an indicator of global autonomic modulation (Shaffer & Ginsberg, 2017), while RMSSD is a contrasted marker of vagal modulation (Shaffer & Ginsberg, 2017). Poincare Plot analysis is considered an indicator of heart rate complexity (Tayel & AlSaba, 2015). SD1 (standard deviation of Poincare plot orthogonal to the line-of-identity) and SD2 (standard deviation of Poincare plot along the line-of-identity) were obtained from Poincare Plot analysis. SD1 has been positioned as vagal activity indicator, while SD2 is inversely related to sympathetic activity (Naranjo-Orellana, de La Cruz Torres, et al., 2015; Navarro-Lomas et al., 2020). Stress Score (SS), calculated as

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1000*1/SD2, and S/PS Ratio (S/PS Ratio), computed as SS/SD1, were also determined (Naranjo-Orellana, de La Cruz Torres, et al., 2015; Navarro-Lomas et al., 2020). SS has been associated with sympathetic activity (Naranjo-Orellana, de La Cruz Torres, et al., 2015; Navarro-Lomas et al., 2020), whereas S/PS Ratio is considered an indicator of autonomic balance (Naranjo-Orellana, de La Cruz Torres, et al., 2015; Navarro-Lomas et al., 2020). Also, we included in Figure 13 other HRV parameters, in Time-Domain [i.e., PNN50 (percentage of successive intervals that differ more than 50 ms; a vagal-related HRV parameter)] and Frequency-Domain [i.e., high frequency (0.15-0.40 Hz; a measure of vagal activity (Shaffer & Ginsberg, 2017)), low frequency (0.04 – 0.15 Hz; a measure of baroreflex activity (Shaffer & Ginsberg, 2017)) and low/high frequency ratio (traditionally used to estimate sympathovagal balance, although its interpretation depends on specific measurement conditions (Shaffer & Ginsberg, 2017))].

To remove the HRV dependence on heart rate, we calculated corrected HRV parameters (Plaza-Florido et al., 2021) (see Figure 14). For that purpose, three assumptions were considered: (i) if HRV parameters were negatively correlated with heart rate, the correction procedure consisted in calculating ratios between HRV parameters and different powers of the mean R-R interval; (ii) if HRV parameters were positively correlated with heart rate, the correction procedure was performed by multiplying HRV parameters by the adequate powers of mean R-R interval; and (iii) pre and post values of the different HRV parameters were normalized with the same powers of mean R-R intervals to calculate post-pre differences: Corrected SDNN = $SDNN/MeanRR^{1.6}$, Corrected RMSSD = $RMSSD/MeanRR^{2.7}$, Corrected SS = $SS*MeanRR^{1.1}$ and Corrected S/PS Ratio = $S/PS\ Ratio*MeanRR$.

Anthropometry and body composition

We measured height and weight using an electronic scale (model 799, Electronic Column Scale, Hamburg, Germany). Waist circumference was assessed twice at the midpoint between the iliac crest and the bottom of the rib cage at the end of a normal expiration. Fat mass, lean mass and visceral adipose tissue volume (VAT) were assessed by dual-energy X-ray absorptiometry (Discovery Wi,

Hologic, Inc., Bedford, MA, USA). We also calculated 3 height-normalized body composition indices: body mass index (BMI), as body weight/height²; lean mass index (LMI), as lean mass/height²; and fat mass index (FMI), as fat mass/height².

Blood pressure

Blood pressure was measured in the right arm with participants resting in a sitting position using a HEM 705 CP automatic monitor (Omron Healthcare Co., Kyoto, Japan) following the guidelines of the European Heart Society (Carey et al., 2018). Readings were taken twice and the mean was subsequently recorded. Mean blood pressure was defined as systolic blood pressure minus 1/3 of the diastolic blood pressure (Carey et al., 2018).

Blood parameters

All samples were collected between 8:30 and 10 am after an overnight fast (12 hours) and a 10 min rest in the supine position. We obtained blood samples from the antecubital vein. Samples were collected in prechilled ethylene diamine tetra-acetic acid-containing tubes (Vacutainer SST, Becton Dickinson, Plymouth, UK), and immediately centrifuged (i.e., 15 minutes at 3,000 rpm), aliquoted and stored at -80°C until analysis. Glucose, high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C) and triglycerides were assessed using a spectrophotometer (model AU5800, Beckman Coulter, Brea, CA, USA). HRV and blood parameters were measured on different days.

Cardiometabolic risk

A sex-specific cardiometabolic risk score was calculated based on the clinical variables suggested by the International Diabetes Federation and the Adult Treatment Panel III for defining metabolic syndrome (i.e., waist circumference, mean blood pressure, plasma glucose, HDL-C and triglycerides) (Carracher et al., 2017). Each variable was represented in a standardized mode as (value-mean)/standard deviation. The standardized HDL-C values were multiplied by -1 to indicate greater risk with increasing values. The cardiometabolic risk score was calculated as the sum of these 5 standardized values divided by 5, obtaining a mean of 0 and a standard deviation of 1 by definition. Therefore, lower values represent a better cardiometabolic risk profile (Carracher et al., 2017).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Statistical analysis

To verify the distribution of all variables we used the Shapiro-Wilk test, Q-Q plots and visual check of histograms. The descriptive parameters are reported as mean (standard deviation), excepting SDNN, RMSSD, SS and S/PS ratio, that were presented as median and interquartile range since they do not exhibit a normal distribution. Thereafter, these HRV parameters were normalized using Napierian logarithm transformation. Before the intervention program, we performed an analysis of variance (ANOVA) to study baseline differences in heart rate, HRV parameters, body composition, and cardiometabolic risk between intervention groups. Analysis of covariance (ANCOVA) was employed to study the effect of the different intervention groups on HRV parameters controlling for the HRV baseline values. All group-related changes were additionally adjusted by sex and age. Bonferroni post-hoc tests with adjustment for multiple comparisons were performed to determine differences between all exercise modality groups. F (analysis of variance), P (level of significance, η^2 (partial eta squared) and 95% confidence interval were reported from these analyses. To examine the relationship of changes in HRV parameters with changes in body composition variables and cardiometabolic risk, we conducted a multiple linear regression analysis based on the post-pre differences, adjusting by sex and age. β (standardized regression coefficient), R^2 (adjusted determination coefficient) and p (level of significance) were obtained from these linear regression analyses. P values of less than 0.05 were accepted to indicate statistical significance. All analyses were performed using the Statistical Package for Social Sciences (SPSS, v. 24.0, IBM SPSS Statistics, IBM Corporation). The figures were created using GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

Results

Figure 11 shows the flowchart of the FIT-AGEING study. A total of 66 participants (n=13 in control, n=16, in PAR, n=18 in HIIT and n=19 in HIIT+EMS) were included in the per protocol analyses.

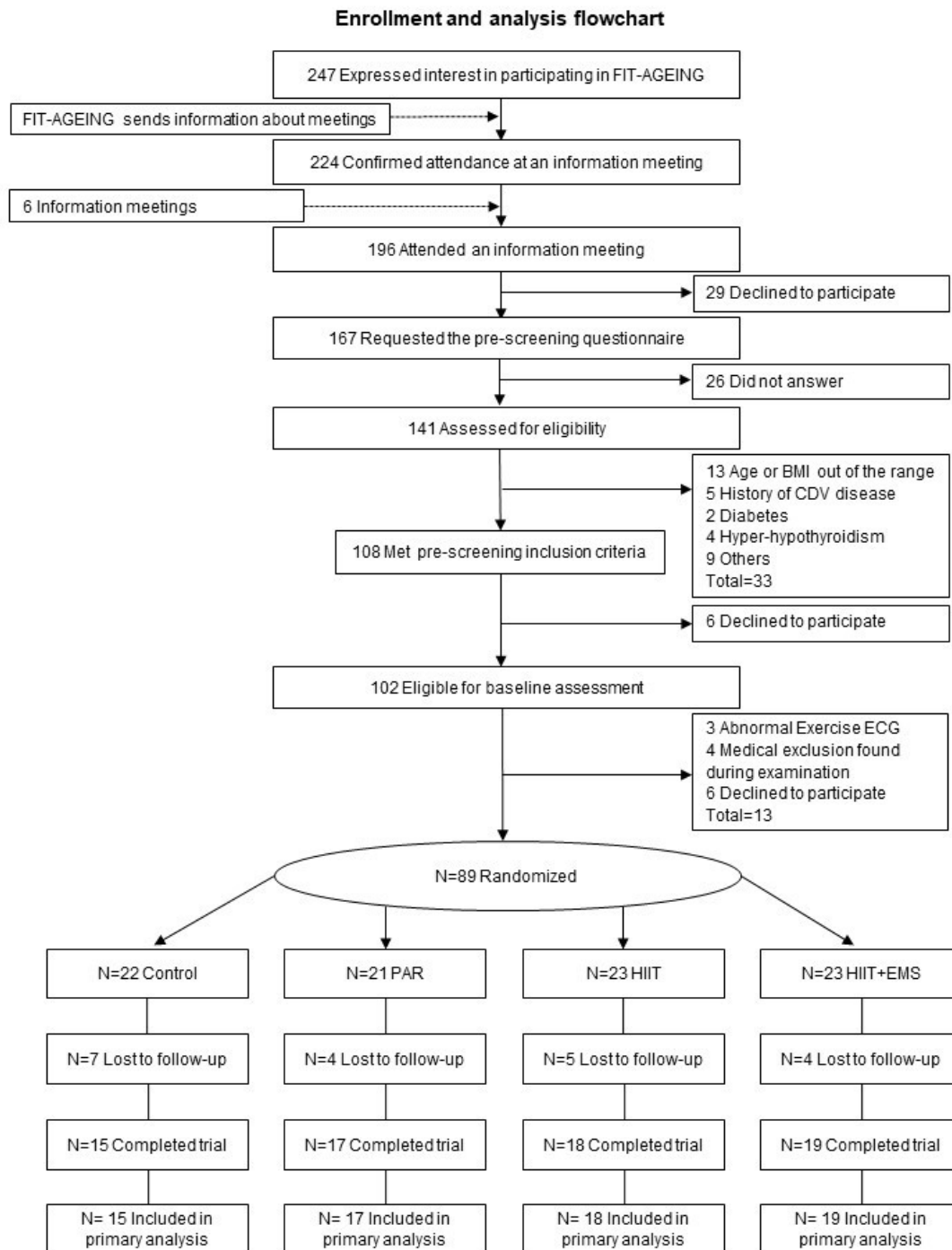


Figure 11. Enrolment and analysis flow-chart in the FIT-AGEING study. *Abbreviations:* BMI - Body Mass Index; CDV—cardiovascular disease; ECG—electrocardiogram; PAR - physical activity recommendation from the World Health Organization group; HIIT - High Intensity Interval Training group; HIIT+EMS - HIIT plus whole-body electromyostimulation group

The baseline characteristics of all participants are described in Table 15. No differences were observed in the baseline values among groups.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Table 15. Descriptive values by intervention group in baseline in the FIT-AGEING study.

	All (n = 69)	Control (n=15)	PAR (n=17)	HIIT (n=18)	HIIT + EMS (n=19)	p Value
Age (years)	53.4 (5.0)	51.7 (4.1)	53.9 (4.5)	53.1 (5.6)	53.5 (5.2)	0.326
Sex (%)						
Men	33 (47.8)	6 (40)	8 (47)	9 (50)	10 (53)	
Women	36 (52.2)	9 (60)	9 (53)	9 (50)	9 (47)	
HR and HRV						
Heart Rate (bpm)	63.3 (8.3)	63.8 (6.7)	59.9 (7.6)	64.5 (7.6)	64.5 (10.3)	0.317
SDNN (ms)	27.3 (18.6)	31.0 (24.5)	23.4 (16.6)	29.8 (18.5)	24.4 (16.8)	0.291
RMSSD (ms)	26.4 (20.7)	33.4 (18.1)	23.8 (20.5)	29.1 (17.0)	24.6 (36.3)	0.959
SS (ms)	30.6 (20.7)	26.5 (20.3)	35.2 (18.6)	27.3 (15.7)	35.7 (32.2)	0.174
S/PS Ratio	1.53 (2.62)	1.12 (2.13)	2.13 (2.35)	1.32 (2.45)	1.83 (6.68)	0.128
Anthropometry and Body Composition						
Weight (Kg)	76.3 (8.7)	74.1 (13.8)	72.6 (11.3)	78.2 (17.7)	80.2 (15.9)	0.412
Waist circumference (cm)	95.2 (12.0)	92.8 (10.5)	90.4 (11.0)	97.5 (10.9)	99.3 (13.7)	0.101
Body Mass Index (Kg/m ²)	26.84 (3.83)	26.73 (3.89)	25.41 (2.86)	26.43 (3.15)	28.60 (14.64)	0.083
Lean Mass Index (Kg/m ²)	1.10 (0.10)	15.85 (3.11)	15.16 (2.48)	14.90 (2.88)	15.80 (2.88)	0.694
Fat Mass Index (Kg/m ²)	15.42 (2.81)	10.09 (2.68)	9.60 (2.73)	10.79 (2.67)	11.96 (3.78)	0.115
VAT (cm ³)	849.7 (427.2)	744.9 (288.8)	714.9 (283.9)	879.6 (488.9)	1024.6 (517.3)	0.116
Cardiometabolic Risk Score						
Mean Blood Pressure (mmHg)	104.2 (12.4)	105.4 (13.4)	105.3 (13.8)	103.6 (13.8)	102.9 (12.1)	0.927
Plasma Glucose (mg/dL)	93.9 (11.4)	94.9 (10.7)	93.4 (11.6)	90.1 (5.6)	96.9 (14.8)	0.332
Plasma Insulin (UI/mL)	8.06 (5.75)	7.03 (5.28)	7.52 (3.97)	7.09 (4.51)	10.21 (7.88)	0.289
HDL-C (mg/dL)	58.7 (12.3)	61.2 (12.1)	55.2 (12.0)	57.8 (10.8)	60.6 (14.0)	0.477
Triglycerides (mg/dL)	130.8 (65.2)	131.2 (72.3)	130.9 (70.0)	134.1 (61.5)	127.6 (63.3)	0.994
Cardiometabolic Risk Score	0.002 (0.58)	-0.040 (0.68)	-0.008 (0.52)	-0.030 (0.47)	0.073 (0.68)	0.940

Data are shown as means (standard deviation). Median (IQR: interquartile range) are presented for HRV parameters because these variables presented non-normal distribution. Abbreviations: bpm; beats per minute, dL; deciliters, cm; centimeters, cm²; centimeters square, cm³; cubic centimeters, HIIT; high intensity interval training group; HIIT+EMS; HIIT plus whole-body electromyostimulation group, HR; Heart Rate, HRV; Heart Rate Variability, mg; milligrams, mmHG; millimeters of mercury, ms; milliseconds, p Value; one-way ANOVA (to detect between-group differences at baseline), PAR; physical activity recommendation from the World Health Organization group, pg; picograms, RMSSD; Square root of the mean squared differences between successive RR intervals, SDNN; Standard Deviation of RR intervals, VAT; Visceral Adipose Tissue.

Figure 12 shows changes in HRV parameters after the intervention study in the four groups. We found a significant difference in SDNN (Figure 12B; $F=8.223$, $p<0.001$, $\eta^2=0.298$), RMSSD (Figure 12C; $F=6.428$, $p=0.001$, $\eta^2=0.250$), SS (Figure 12D; $F=7.791$, $p<0.001$, $\eta^2=0.287$) and S/PS ratio (Figure 12E; $F=8.489$, $P<0.001$, $\eta^2=0.305$) among groups, while no differences were noted in heart rate (Figure 12A; $F=2.511$, $P=0.068$, $\eta^2=0.115$). Compared with the control group, the SDNN levels (Figure 12B) were increased in PAR [mean difference (95% confidence interval): 0.454 (0.068, 0.840), $P=0.013$], HIIT [0.480 (0.104, 0.857), $P=0.006$] and HIIT+EMS [0.688 (0.315, 1.060), $P<0.001$]; while the RMSSD levels (Figure 12C) were also improved in HIIT [0.443 (0.038, 0.847), $P=0.024$], and HIIT+EMS [0.667 (0.266, 1.066), $P<0.001$]. Compared with the control group, the SS levels (Figure 12D) were reduced in PAR [-0.457 (-0.822, -0.092), $P=0.007$], HIIT [-0.469 (-0.826, -0.113), $P=0.004$], and HIIT+EMS [-0.623 (-0.976, -0.271), $P<0.001$], while the S/PS levels (Figure 12E) were also reduced in PAR [-0.864 (-1.570, -0.158), $P=0.009$], HIIT [-0.913 (-1.601, -0.225), $P=0.004$] and HIIT+EMS [-1.291 (-1.971, -0.610), $P<0.001$]. The results persisted after including sex and age in the model.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

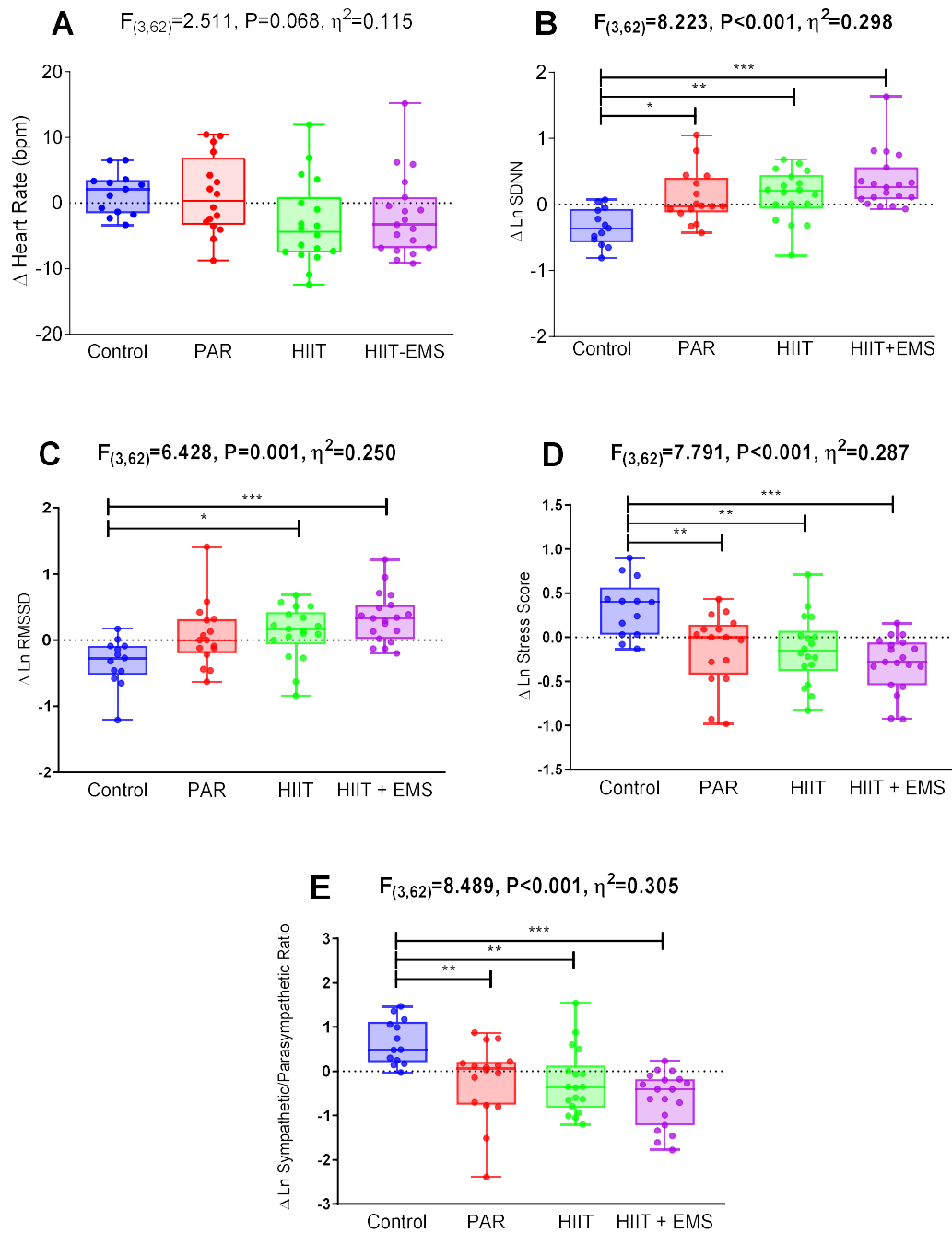


Figure 12. Changes in heart rate and heart rate variability parameters after the intervention study in the four groups in the FIT-AGEING study. Analysis of covariance adjusting for baseline values, with post hoc Bonferroni-corrected t-test. F , p and η^2 of analysis of variance, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. *Abbreviations.* Δ Differences between post and pretest, bpm; beats per minute, HIIT; high intensity interval training group; HIIT+EMS; HIIT plus whole-body electromyostimulation group, Ln; Napierian logarithm, PAR; physical activity recommendation from the World Health Organization group, RMSSD; Square root of the mean squared differences between successive RR intervals, SDNN; Standard Deviation of RR intervals.

The raw changes (i.e., without Napierian logarithm transformation) in heart rate and heart rate variability parameters [i.e., SDNN, RMSSD, PNN50, high frequency, low frequency, low/high frequency ratio, SS and S/PS ratio] after the intervention study in the four groups are shown in Figure 13.

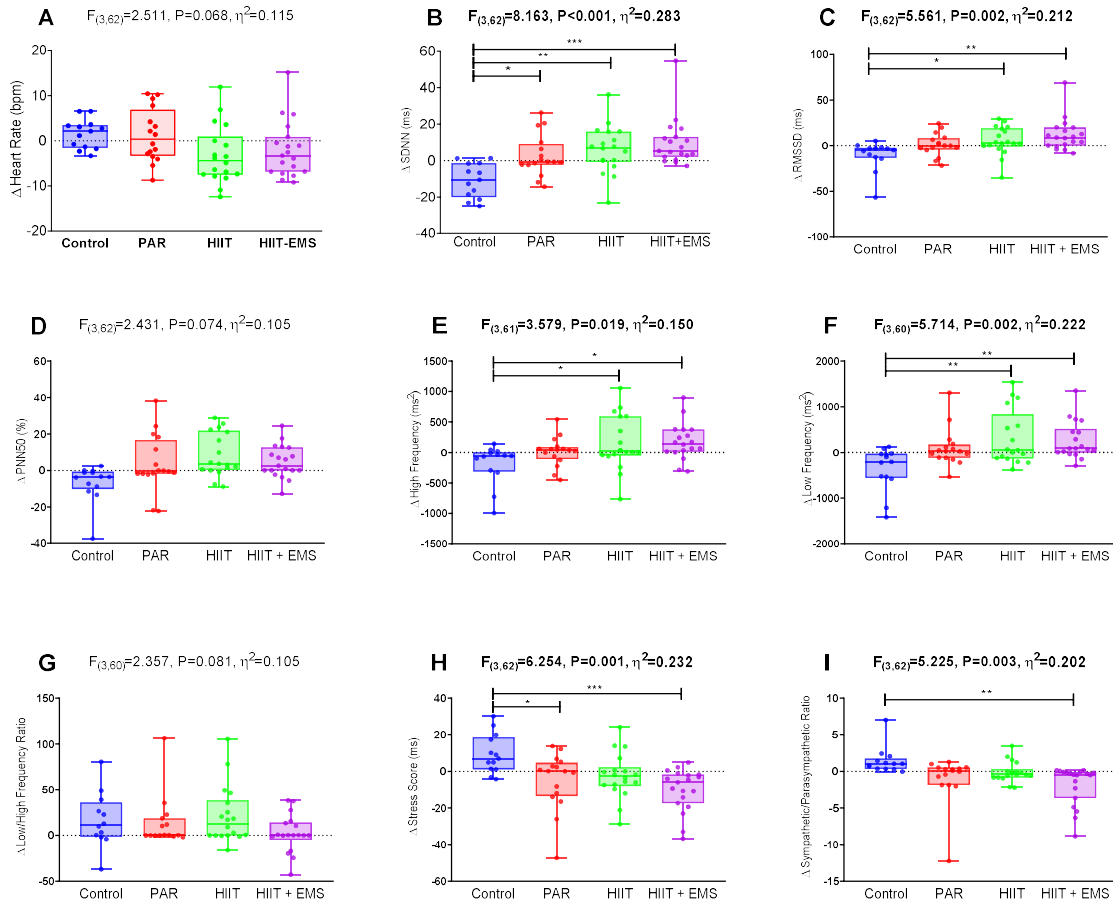


Figure 13. Raw changes in heart rate and heart rate variability parameters after the intervention study in the four groups. Analysis of covariance adjusting for baseline values, with post hoc Bonferroni-corrected t-test. F , p and η^2 of analysis of variance, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. Abbreviations: Δ Differences between post and pretest, %; percentage, bpm; beats per minute, HIIT; High-Intensity Interval Training group; HIIT+EMS; HIIT plus whole-body electromyostimulation group, Ln; Napierian logarithm, ms; milliseconds, ms^2 ; milliseconds square, PAR; physical activity recommendation from the World Health Organization group, PNN50; percentage of successive RR interval pairs that differ more than 50 ms, RMSSD; Square root of the mean squared differences between successive RR intervals, SDNN; Standard Deviation of RR intervals.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Figure 14 show the raw changes in corrected HRV parameters after the intervention. Corrected SDNN (Figure 14A; $F=7.626$, $p<0.001$, $\eta^2=0.273$) and Corrected SS (Figure 14C; $F=3.826$, $p=0.014$, $\eta^2=0.161$) maintained significant changes in post-pre differences ($p<0.05$), while a tendency of changes was observed for corrected RMSSD (Figure 14B; $F=2.511$, $p=0.067$, $\eta^2=0.112$). In contrast, Corrected S/PS Ratio did not change after the intervention (Figure 14D; $F=0.620$, $p=0.605$, $\eta^2=0.032$)

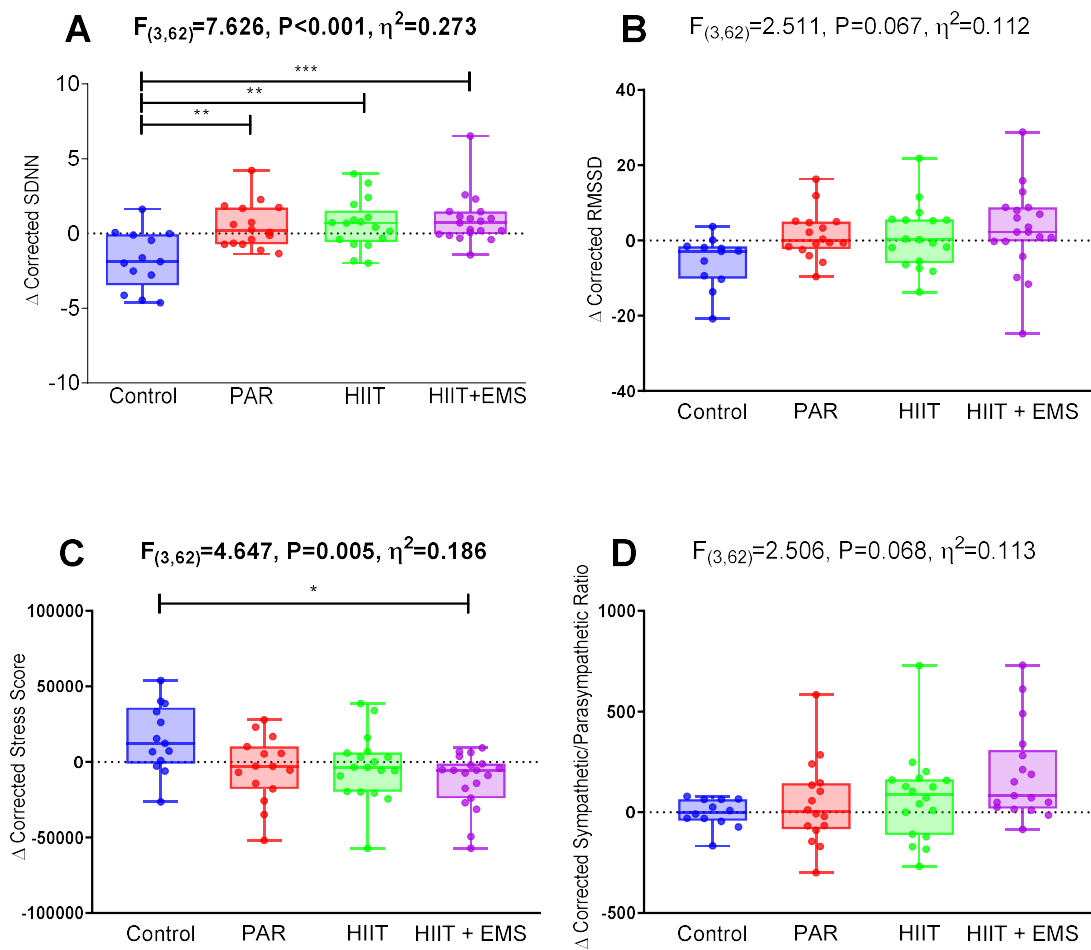


Figure 14. Raw changes in heart rate variability parameters corrected by medium R-R interval after the intervention study in the four groups. Analysis of covariance adjusting for baseline values, with post hoc Bonferroni-corrected t-test. F , p and η^2 of analysis of variance, * $p < 0.05$, ** $p < 0.01$, *** $p < 0.001$. Abbreviations: Δ Differences between post and pretest, %; percentage, bpm; beats per minute, HIIT; High-Intensity Interval Training group; HIIT+EMS; HIIT plus whole-body electromyostimulation group, ms; milliseconds, PAR; physical activity recommendation from the World Health Organization group, PNN50; percentage of successive RR interval pairs that differ more than 50 ms, RMSSD; Square root of the mean squared differences between successive RR intervals, SDNN; Standard Deviation of RR intervals

Table 16 shows the multiple linear regression analysis of exercise-related changes in body composition and cardiometabolic risk with exercise-related changes in HRV parameters. A significant association (β ranges from -0.414 to 0.387; R^2 ranges from 0.072 to 0.193; all $p < 0.05$) was noted of changes in body composition (i.e., increments in LMI and reductions in FMI and VAT) with changes in HRV parameters (i.e., increments in SDNN and RMSSD and reductions in SS and S/PS Ratio). Also, we found a significant relation (β ranges from -0.380 to 0.330; R^2 ranges from 0.072 to 0.131; all $p < 0.05$) between decrements in Cardiometabolic Risk Score with changes in HRV parameters (i.e., increments in SDNN and reductions in SS and S/PS Ratio). No significant relationship was observed between changes in BMI and changes in SDNN, RMSSD, SS and S/PS Ratio (all $p > 0.05$). The results persisted after including sex and age in the model.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Table 16. Simple linear regression analysis between changes in heart rate variability outcomes and changes in, body composition variables and cardiometabolic risk score

	Δ Heart Rate (bpm)			Δ Ln SDNN (ms)			Δ Ln RMSSD (ms)			Δ Ln SS (ms)			Δ Ln S/PS Ratio		
	β	R ²	p	β	R ²	p	β	R ²	p	β	R ²	p	β	R ²	p
Δ BMI (Kg/m ²)	-0.025	<0.001	0.844	-0.006	<0.001	0.961	0.101	<0.001	0.419	0.051	<0.001	0.686	-0.030	<0.001	0.809
Δ LMI (Kg/m ²)	-0.182	0.017	0.153	0.387	0.150	0.001	0.439	0.193	<0.001	-0.326	0.107	0.009	-0.414	0.172	<0.001
Δ FMI (Kg/m ²)	0.157	0.009	0.220	-0.347	0.121	0.005	-0.370	0.137	0.003	0.299	0.090	0.017	0.362	0.072	0.003
Δ VAT Volume (cm ³)	0.142	0.004	0.269	-0.293	0.086	0.019	-0.295	0.082	0.023	0.267	0.072	0.034	0.299	0.090	0.017
Δ Cardiometabolic Risk Score	-0.114	<0.001	0.362	-0.330	0.095	0.007	-0.176	0.016	0.158	0.380	0.131	0.002	0.293	0.072	0.017

Abbreviations. Δ Differences between post and pretest, β; standardized regression coefficient, BMI; Body Mass Index, bpm, beats per minute, cm; centimeters, FMI; Fat Mass Index, kg; kilograms, LMI; Lean Mass Index, Ln; Napierian logarithm, m; meters, p; level of significance, R²; adjusted determination coefficient, RMSSD; Square root of the mean squared differences between successive RR intervals, SDNN; Standard Deviation of RR intervals, S/PS; sympathetic/parasympathetic Ratio, VAT; Visceral Adipose Tissue.

Discussion

This study shows that different exercise training interventions (i.e., PAR, HIIT and HIIT + EMS) similarly improved HRV parameters (i.e., increments of SDNN and RMSSD and decrements of SS and S/PS Ratio) during resting conditions in sedentary middle-aged adults. In addition, these exercise-related changes in HRV parameters were associated with exercise-related changes in body composition and cardiometabolic risk. These findings have important clinical implications since we demonstrate that a well-designed 12-week exercise intervention – independently of its modality – could be an adequate stimulus to improve cardiac autonomic modulation during resting conditions (i.e., increase of the vagal modulation), which is related to a lower risk of cardiovascular disease and mortality in sedentary, healthy middle-aged adults (Lahiri et al., 2008).

Physical exercise has been postulated as an effective strategy to improve cardiac autonomic function (Felber Dietrich et al., 2008; Wong & Figueroa, 2021). We do not observe significant changes in resting heart rate after the intervention, although a tendency toward a reduction in resting heart rate (i.e., bradycardia) was observed in all training groups compared with the control group (~4%). In this sense, physical exercise (including high-intensity training) has been related to bradycardia (Cornelissen et al., 2010), thus improving cardiac function through a lower intrinsic heart rate (Bahrainy et al., 2016). Concerning HRV parameters, a 12-weeks PAR training at moderate intensity induces health-related changes in different HRV parameters (i.e., increases in SDNN and RMSSD; decreases in SS; and reductions with a dependence of heart rate in S/PS ratio) in sedentary middle-aged adults. Previous studies reported similar changes in HRV parameters after a 6-month moderate-intensity training program in sedentary postmenopausal women (Earnest et al., 2008) and after a 6-month aerobic training program performed at moderate-vigorous intensity in sedentary healthy older and young men (Levy et al., 1998). In contrast, another study reported no effect on HRV parameters in response to a 2-week HIIT intervention and after a 2-week moderate-intensity aerobic training program in physically inactive adults (Alansare et al., 2018). These controversies could be explained by

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

the different training programs' duration (2-weeks vs 12-weeks) and also by the relatively small sample size ($n=13$) of the study conducted by Alansare et al. (Alansare et al., 2018), which can be underpowered to identify changes in HRV between groups (Earnest et al., 2008). A further explanation for these discrepancies between studies could be the obvious differences in the exercise interventions designs since we included resistance training sessions in both PAR and HIIT groups once and twice a week, respectively, and this training modality could not affect HRV in sedentary middle-aged adults according to a review article (Kingsley & Figueroa, 2016). Also, age groups (young adults vs middle-aged adults) and methodological considerations (Plaza-Florido et al., 2021) during the HRV assessment and processing could justify these differences. Our study shows that a 12-weeks HIIT intervention increased SDNN (i.e., an indicator of global autonomic modulation) and RMSSD (i.e., an indicator of vagal modulation), decreased the SS (i.e., an indicator of sympathetic activity), and reduced, with a dependence of heart rate, the S/PS Ratio (i.e., an indicator of autonomic balance) (Navarro-Lomas et al., 2020). Overall, these findings suggest a higher vagal tone during resting conditions after a 12-week exercise intervention based on HIIT. Similar results were reported after a 12-week (Ramírez-Vélez et al., 2020) and a 2-week (Alansare et al., 2018) training programs in physically inactive adults. Moreover, a 6-month HIIT program improves HRV parameters, including SDNN and RMSSD, in middle-aged adults after a coronary intervention (Munk et al., 2010). Interestingly, we identified similar effects of PAR and HIIT exercise interventions in HRV parameters.

Our results also show similar changes in HRV parameters after a 12-weeks HIIT+EMS program, which could be explained by an enhancement of the sympathovagal balance as a consequence of the HIIT+EMS program (Ricci et al., 2020). The effects of EMS training on HRV have been recently investigated in obese patients after bariatric surgery, observing no significant differences compared with a control group (Ricci et al., 2020). Our results show that a HIIT+EMS intervention did not promote additional improvements in HRV, apart from those obtained by a HIIT intervention alone, which concur with those obtained by the above-mentioned study (Ricci et al., 2020). Therefore, a HIIT+EMS

training intervention seems to be a non-effective strategy to improve HRV (RMSSD, SDNN) in sedentary middle-aged adults.

Physical exercise is a well-recognized tool to improve several health-related outcomes (e.g., body composition (Amaro-Gahete, De-la-O, Jurado-Fasoli, Ruiz, et al., 2019) or cardiometabolic risk (Amaro-Gahete, De-la-O, Jurado-Fasoli, Martinez-Tellez, et al., 2019), among others). Understanding the influence of physical exercise on these components and its interaction with exercise-related changes in HRV is of clinical interest. We observed a significant association between changes in HRV parameters (i.e., increases in SDNN and RMSSD; and decreases in SS and S/PS ratio) and changes in body composition (i.e., FMI, VAT and LMI, but not BMI) after the intervention. Similar findings have been previously reported by Tian et al. (Tian et al., 2015) who found an inverse association between HRV parameters and fat mass after a training program in adults with overweight/obesity, which could be explained by adiposity influences over autonomic function (Plaza-Florido, Migueles, Mora-Gonzalez, et al., 2019; Tian et al., 2015). Also, improvements in lean mass have been related to increments in vagal tone (Andrew et al., 2013). The autocrine, paracrine, and endocrine actions of myokines over cardiometabolic health (i.e., lipolysis, insulin sensitivity or general metabolism) (Barbalho et al., 2020) could justify this association. Interestingly, we do not observe associations between exercise-induced changes in HRV parameters with exercise-induced changes in BMI. Although vagal-related HRV parameters have been negatively related to BMI (Koenig et al., 2014), similar BMI values could account for different fat and lean mass data (Felber Dietrich et al., 2008). Hence, to analyze changes in body composition after different training programs, FMI, VAT and LMI seem to be more appropriate parameters than BMI as direct indicators of total fat mass, visceral fat and lean mass, whose associations with cardiac autonomic function have been previously discussed. Furthermore, we found an association between exercise-related changes in HRV (i.e., increments in SDNN and reductions in SS and S/PS) and a decrease in cardiometabolic risk. To the best of our knowledge, this association has not been directly tested but a recent narrative review suggests that increased vagal-related HRV parameters could be related to a

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

decreased cardiometabolic risk after an exercise intervention (Thayer et al., 2010) which is in line with the present findings. Future studies are needed to well-understand this relationship.

The present study had some limitations. The present analyses have an exploratory nature and further studies are needed to investigate whether changes in HRV in response to different training modalities have the same magnitude or not. Moreover, our results should not be extrapolated to other populations since we only included sedentary middle-aged adults (i.e., 45–65 years old). In addition, although $\approx 75\%$ of the women participants were post-menopausal, we did not assess ovarian hormones in the present study, a fact that could be a potential confounder (Bai et al., 2009; Martins et al., 2001). Finally, although the influence of different types of breathing over HRV is not clear (Wessel et al., 2009), some studies have found that paced vs. spontaneous breathing can differently affect HRV parameters (Hill et al., 2009; Plaza-Florido et al., 2021). To facilitate the resting status of the participants, we decided not to control their breathing. Further studies are needed to check whether the present findings apply to studies that control participants' breathing during HRV assessment.

Conclusion

Our study suggests that different exercise interventions modalities (i.e., PAR, HIIT and HIIT+EMS) induced an enhancement of HRV parameters (i.e., SDNN, RMSSD, SS and S/PS Ratio) in sedentary middle-aged adults. Furthermore, we showed that exercise-related changes in HRV parameters (i.e., SDNN, RMSSD, SS and S/PS Ratio) were associated with changes in body composition (i.e., LMI, FMI and VAT) and cardiometabolic risk after the intervention program.

-Influence of moderate alcohol consumption on Heart Rate Variability in response to a 10-week high-intensity interval training program in healthy young adults: The BEER-HIIT study

Ginés Navarro-Lomas ¹, Manuel Dote-Montero ^{1,2}, Abel Plaza-Florido ², Manuel J. Castillo ¹, Francisco J. Amaro-Gahete ^{1,2}

1: EFFECTS-262 Research Group, Department of Physiology, Faculty of Medicine, University of Granada, Avda. de la Investigación 11, 18016 Granada, Spain

2: PROmoting FITness and Health Through Physical Activity Research Group (PROFITH), Sport and Health University Research Institute (iMUDS), Department of Physical and Sports Education, Faculty of Sport Sciences, University of Granada, Camino de Alfacar s/n, Granada, 18071, Spain

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Abstract

Objective: This study aimed to investigate: (i) the effects of a High-Intensity Interval Training (HIIT), on Heart Rate Variability (HRV) parameters in healthy young adults; and (ii) the potential influence of daily alcohol consumption on changes in HRV parameters induced by exercise intervention.

Methods: 72 healthy young adults (18–40 years old; 51.4 % women) participated in the BEER-HIIT study. We conducted a 10-week (2 days/week) controlled trial based on HIIT. The participants were randomized to 5 groups [i.e., a non-training group (N-T Group) and 4 HIIT groups]. Participants in training groups chose whether they preferred to consume alcohol or not. Those choosing alcohol were randomly allocated for receiving beer (5.4%; T-Beer group) or the equivalent amount of alcohol (vodka; T- Ethanol group) in sparkling water. Those choosing no-alcohol were randomly allocated for receiving alcohol-free beer (0.0%; T-0.0 Beer group) or sparkling water (T-Water group). The HIIT program was based on eight weight-bearing exercises in circuit form. HRV parameters were measured before and after the intervention program.

Results: We did not observe changes in HRV parameters related to HIIT or moderate alcohol consumption (all $P > 0.05$) after the intervention program.

Conclusion: Our study suggests that: (i) a 10-week HIIT based on weight-bearing exercises did not impact HRV parameters; and (ii) a moderate alcohol intake during a 10-week HIIT program did not affect HRV parameters in healthy young adults.

Introduction

Heart rate variability (HRV) analyses the differences between successive R-R intervals (Task force of the European Society of Cardiology and the North American Society for Pacing and Electrophysiology, 1996) and is considered a non-invasive biomarker to assess the modulation of the autonomic nervous system on heart function (Navarro-Lomas et al., 2020). HRV is a psychophysiological phenomenon affected by several factors and especially by lifestyle (Ernst, 2017; Navarro-Lomas et al., 2020). Increased vagal-related HRV parameters during resting conditions have been associated with reduced stress levels and a lower risk of developing cardiometabolic diseases (Hillebrand et al., 2013; Navarro-Lomas et al., 2020; Tsuji et al., 1996).

Physical exercise is an integral component of a healthy lifestyle (Molina-Hidalgo et al., 2019), able to improve cardiac autonomic function via increasing vagal-related HRV parameters (Buchheit et al., 2005; Felber Dietrich et al., 2008). In this line, the World Health Organization (WHO) describes international physical activity guidelines for health promotion, where adults should undertake 150-300 min of moderate-intensity, or 75-150 min of vigorous-intensity physical activity, or some equivalent combination of moderate-intensity and vigorous-intensity aerobic physical activity, including regular muscle-strengthening activity per week (Bull et al., 2020). Nonetheless, many people in developed societies do not meet these physical activity recommendations from the WHO, principally due to the lack of free time (Choi et al., 2017). In this context, novel and more time-efficient training methodologies have emerged as an alternative to traditional exercise recommendations such as High-Intensity Interval Training (HIIT) (Amaro-Gahete, De-La-O, et al., 2019).

HIIT describes physical exercise characterized by short and intermittent efforts of vigorous activity, interspersed with rest periods at passive or low-intensity exercises (Amaro-Gahete, De-la-O, Jurado-Fasoli, et al., 2018). Some HIIT training protocols have been demonstrated to improve health-related parameters, including vagal-related HRV parameters in healthy adults, according to a recent systematic review (Abreu et al., 2019). It is well-known the existence of many HIIT methodologies, being their derived physiological

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

adaptations specific to the exercise characteristics selected (e.g., type of exercise, intensity, duration or the number of intervals performed) (Amaro-Gahete, De-la-O, Jurado-Fasoli, et al., 2018). Interestingly, to the best of our knowledge, no data are available related to the influence of a HIIT program based on weight-bearing exercises in circuit form on HRV in young adults.

One common post-exercise social practice is the consumption of beer which can be deleterious due to its alcohol content (Molina-Hidalgo et al., 2020). The influence of a high alcohol intake on human' health after an acute bout of exercise has been previously studied, showing unequivocal findings related to lower health status (e.g., increased heart rate, decreased muscle function, hypertension, sleep fragmentation and other biochemical processes) (Barnes, 2014). However, the intake of a moderate amount of beer after a bout of exercise (Jiménez-Pavón et al., 2015) or the daily intake while training in young healthy individuals does not seem to exert deleterious effects (Molina-Hidalgo et al., 2019, 2020).

Regarding specifically the effect of alcohol on HRV, it has been reported negative effects on vagal-related HRV parameters when a high alcohol intake is a chronic habit (Ralevski et al., 2019), through effects on the autonomic modulation of sinoatrial discharge and altered neurotransmitters influences on the sinoatrial responsiveness, affecting the central neural outflow rhythmicity (Spaak et al., 2010). By contrast, it has been reported, in a young adult's cohort, increased vagal-related HRV parameters in habitual drinkers compared with non-habitual drinkers, and this has been attributed to a reduction in inflammatory processes derived from the moderate alcohol intake (Quintana et al., 2013). However, it is unknown whether daily alcohol consumption influence the potential effects of training on HRV parameters. Therefore, the present work aimed (i) to investigate the influence of a HIIT based on weight-bearing exercises on HRV parameters in healthy young adults; and (ii) to analyze the potential influence of moderate daily alcohol consumption during the above-mentioned training intervention on vagal-related HRV parameters.

Methods

Participants

A total of 72 healthy young adults (18–40 years old; 51.4 % women) were enrolled in the BEER-HIIT registered controlled trial (ClinicalTrials.gov ID: NCT03660579). The participants were recruited from the province of Granada (Spain), using social networks, local media, and posters. The inclusion criteria were: (i) body mass index (BMI) between 18.5 to 30 kg/m²; (ii) not to be engaged in a training program; (iii) to have a stable body mass during the last 5 months (body mass changes <3 kg); (iv) to be free of disease, pregnant or lactating women; (iv) not taking any medication for chronic diseases; and (v) no recent lesions or other problems preventing strenuous physical activity. The study followed the latest revision of the Helsinki Declaration and was approved by the Ethics Committee on Human Research at the University of Granada (CEI-Granada; 321-CEIH-2017). Before the study, all participants completed a medical exam and signed an informed consent form.

Study design

All the baseline and follow-up tests were performed from February to May 2018, at the same setting [Instituto Mixto Universitario Deporte y Salud (IMUDS) at the University of Granada]. After completing the baseline measurements, participants chose whether they preferred to be included in a non-training (N-T), or one of the four training (T) groups. Those going for training then chose whether they preferred to be included in a group ingesting an ethanol-containing beverage (5.4% alcohol content) or an alcohol-free beverage group. Participants choosing ethanol were randomly allocated either to beer (T-Beer) or sparkling water with added vodka ethanol (T-Ethanol). Those choosing non-alcohol were randomly allocated either to alcohol-free beer (T-0.0Beer) or sparkling water (T-Water). Each group was composed of 8 men and 8 women. This type of non-random (based on individual preference) and random allocation of the participants was conducted following ethical considerations and advice made by the ethical committee (321-CEIH-2017). The participants' randomization assignment was blinded to the assessment staff.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Training protocol

A 10-week controlled trial based on HIIT was conducted. Training sessions took place 2 days/week in the late afternoon or early evening from Monday to Friday. Rest periods were, at least, 48 h between training sessions. 80% of attendance was required to be included in the final analysis. Following the methodology described by previous studies (Molina-Hidalgo et al., 2020), the training volume was 40–65 min/week.

Training intensity was programmed considering the updated scientific evidence related to HIIT (Gibala, Little, Macdonald, Hawley, et al., 2012; Hwang et al., 2016). In all cases, the intensity was >8 Rating of Perceived Exertion (0–10 RPE scale) (Borg, 1982). Training sessions started with a dynamic standardized warm-up composed of several muscle activations exercises: child's pose breathing, pelvis bridge, cat camel, upper back rotation, front and side planks, arms Ts, arms Ys, toe walks, high knee walks, walking lunges, side lunges, monster walk, sumo walk and anti-rotational stability press. Participants performed eight weight-bearing exercises in a circuit form twice per set (i.e., frontal plank, high knees up, TRX horizontal row, battle rope, squat, dead lift, push up, and burpees). Training sessions ended with a cooling-down protocol (i.e., active global stretching), including anterior and posterior chain exercises (i.e., pigeon pose, lying twist, figure four stretch, lunging hip flexor stretch, biceps stretch, and trapezius neck stretch).

The trial was divided into two phases, starting with a familiarization phase (Amaro-Gahete, De-la-O, Jurado-Fasoli, et al., 2018). The familiarization phase lasted 4 weeks. Each session consisted of 2 sets (i.e., a total of 8–9.5 minutes) of 16 exercises, with 15–20 seconds of work (training intensity was between 8 and 9 RPE), intersected with 15–20 seconds of passive rest. Phase I consisted of 4 weeks with 2 sets (i.e., 8–12.5 minutes) of 16 exercises, with 15–30 seconds of work (training intensity was 10 RPE) and 15–30 seconds of passive rest. Finally, phase II lasted 2 weeks, with 3 sets (i.e., 8–12.5 minutes) of 16 exercises, with 15–20 seconds of work (training intensity was 10 RPE) and 15–20 seconds of passive

rest. Between sets, participants realized an active rest of 5 minutes (intensity of 6 RPE) in familiarization phase, phase I and phase II.

Beverage intake

Beverages were daily ingested from Monday to Friday. Volumes of fluid ingested were the same in all groups (660 mL for men and 330 mL for women). Men ingested 330 mL with lunch and 330 mL with dinner, while women ingested 330 mL with dinner: (i) T-Ber group ingested regular Lager Beer (5.4% alcohol-Alhambra Especial®, Granada, Spain); (ii) T-0.0Beer group ingested alcohol-free beer (0.0% alcohol-Cruzcampo®, Sevilla, Spain); (iii) T-Water group ingested sparkling water (Eliqua 2®, Font Salem, Spain); (iv) T-Ethanol group ingested sparkling water with the same amount of distilled alcohol added. The distilled alcoholic beverage used in our study was branded vodka because of the purity of its composition (i.e., 37.5% ethanol and 62.5% water). This decision was based on scientific evidence which defines a moderate amount of alcohol intake as two or three drinks/day or 24–36 g of ethanol/day for men and one to two drinks/day or 12–24 g of ethanol/day for women (Poli, Marangoni, Avogaro, Barba, Bellentani, Bucci, Cambieri, Catapano, Costanzo, Cricelli, de Gaetano, Di Castelnuovo, et al., 2013). At the beginning of each week, beverages were coded and provided by a staff member of our laboratory. Investigators who did the evaluations were not aware of the group assignment of the participant. Participants in alcohol groups were strictly instructed to drink a moderate amount of alcohol during the weekend (i.e., 660 mL/day for men and 330 mL/day for women). Participants in non-alcohol groups were requested to refrain from alcohol also during the weekend.

HRV

Participants came to our laboratory in a motorized vehicle and avoided any physical activity since they woke up following specific study pre-conditions: (i) fasting conditions for more than 3 hours, (ii) to abstain from alcohol intake and drugs or stimulant consumption 24 h before, and (iii) to avoid moderate-intensity (24 hours) and vigorous-intensity physical activity (48 hours) before the test. The environmental conditions were standardized (room temperature = 22–23 °C).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

The assessment of the R-R signal was carried out with the participant lying on a stretcher in the supine position. R-R signal recording lasted 15 minutes (after 10 minutes of acclimation before the assessment). To record the R-R signal, we used the Polar RS800CX (Polar Electro, Kempele, Finland). Participants were instructed not to talk or to move, and to relax as much as possible but to be awake. To download the R-R recordings, we used the Polar Pro Trainer 5[®] software (Polar Electro, Finland). R-R recordings were analyzed with the Kubios HRV Standard[®], free version 2.2 software (University of Eastern Finland, Kuopio, Finland) (Tarvainen et al., 2014), applying the medium filter provided by the Kubios HRV Standard[®] and following the methodology described in previous studies (Alcántara et al., 2020; Plaza-Florido et al., 2021). We selected a 5 minutes interval, setting the smoothness prior approach with a Lambda value of 500, and a cubic interpolation at the default rate of 4 Hz, was used to remove not valid low-frequency baseline trend components. To obtain reproducible and valid data, HRV analyses were performed by the same trained researcher (Plaza-Florido et al., 2020).

Following standard procedures, we obtained HRV parameters in Time-Domain [i.e., SDNN (standard deviation of RR intervals) and RMSSD (root mean square of successive RR interval differences)] and the Poincare Plot analysis using the HRV Kubios software (Task force of the European Society of Cardiology and the North American Society for Pacing and Electrophysiology, 1996). SDNN is an index of global autonomic modulation (Shaffer & Ginsberg, 2017), although resting short-term SDNN is related to vagal-activity (Shaffer & Ginsberg, 2017). RMSSD is an indicator of vagal activity (Shaffer & Ginsberg, 2017). From Poincare Plot, we obtained SD1 (standard deviation of Poincare plot orthogonal to the line-of-identity) and SD2 (standard deviation of Poincare plot along the line-of-identity). SD1 is related to vagal activity, while SD2 is inversely related to sympathetic tone (Naranjo-Orellana, de La Cruz Torres, et al., 2015; Navarro-Lomas et al., 2020). SS was computed as $1000 \cdot 1/SD2$; and the S/PS was calculated as $SS/SD1$ (Naranjo-Orellana, de La Cruz Torres, et al., 2015; Navarro-Lomas et al., 2020). SS is related to sympathetic activity (Naranjo-Orellana, de La Cruz Torres, et al., 2015; Navarro-Lomas et al., 2020). S/PS Ratio has been proved as an indicator

of autonomic balance (Naranjo-Orellana, de La Cruz Torres, et al., 2015; Navarro-Lomas et al., 2020). Also, in Figure 17 were included raw changes (i.e., without Napierian logarithm transformation) in other HRV parameters, in Time-Domain [i.e., PNN50 (percentage of successive intervals that differ more than 50 ms; related to vagal activity)] and Frequency-Domain [i.e., high frequency (0.15-0.40 Hz; an indicator of vagal activity (Shaffer & Ginsberg, 2017)), low frequency (0.04 – 0.15 Hz; a measure of baroreflex activity (Shaffer & Ginsberg, 2017)) and low/high frequency ratio (traditionally related to sympathovagal balance, although its interpretation is not clear (Shaffer & Ginsberg, 2017))].

To remove the HRV dependence on heart rate, we calculated corrected HRV parameters (Plaza-Florido et al., 2021; Plaza-Florido, Migueles, Sacha, et al., 2019) (see Figure 18), based on three assumptions: (i) if HRV parameters were negatively correlated with heart rate, the correction procedure consisted in calculating ratios between HRV parameters and different powers of the mean R-R interval; (ii) if HRV parameters were positively correlated with heart rate, the correction procedure was performed by multiplying HRV parameters by the adequate powers of mean R-R interval; and (iii) pre and post values of the different HRV parameters were normalized with the same powers of mean R-R intervals to calculate post-pre differences. We performed the next calculations: Corrected SDNN = $SDNN/MeanRR^{1.2}$, Corrected RMSSD = $RMSSD/MeanRR^{1.9}$, Corrected SS = $SS*MeanRR^1$, Corrected S/PS Ratio = $S/PS\ Ratio*MeanRR^{2.9}$.

Anthropometric and body composition measures

The weight and height were measured using an electronic scale (model 799, Electronic Column Scale, Hamburg, Germany). Lean mass and fat mass were evaluated by dual-energy X-ray absorptiometry (Discovery Wi, Hologic, Inc., Bedford, MA, USA) following the manufacturer's recommendations. We also calculated three indices of height-normalized body composition: BMI as body weight/height²; lean mass index (LMI), as lean mass/height²; and fat mass index (FMI), as fat mass/height². BMI, LMI, and FMI were expressed in kg/m².

Statistical analysis

We used the Shapiro-Wilk test, visual check of histograms, and Q-Q plots to verify the distribution of all variables. The descriptive parameters were reported as mean (standard deviation), except in non-normal variables (i.e., SS and S/PS ratio) where median (interquartile range) were detailed. Non-normal variables (i.e., SS and S/PS) were normalized using Napierian logarithm transformation. Before the intervention program, we performed an analysis of variance (ANOVA) to study baseline differences in heart rate, HRV parameters (i.e., SDNN, RMSSD, SS and S/PS Ratio) and body composition variables (i.e., BMI, LMI, FMI) between intervention groups. Analysis of covariance (ANCOVA) was employed to study the effect of the different interventions on HRV parameters (i.e., SDNN, RMSSD, SS and S/PS Ratio) controlling for the HRV parameters baseline values. In supplementary material are shown the raw (i.e., not normalized using Napierian logarithm) changes in HRV parameters, including SDNN, RMSSD, PNN50, high frequency, low frequency, low/high frequency ratio, SS and S/PS ratio (figure 17); and also, the raw changes of corrected HRV parameters (SDNN, RMSSD, SS and S/PS ratio; figure 18). F (level of variance), p (level of significance) and η^2 (partial eta squared) were obtained from these analyses. All group-related changes were additionally adjusted by sex and age. P values of less than 0.05 were accepted to indicate statistical significance. All analyses were performed using the Statistical Package for Social Sciences (SPSS, v. 24.0, IBM SPSS Statistics, IBM Corporation). The graphical presentations were prepared using GraphPad Prism 7 (GraphPad Software, San Diego, CA, USA).

Results

Figure 14 shows the flowchart of the BEER-HIIT study. A total of 72 participants (n=14 in N-T, n=15 in T-Water, n=15 in T-0.0Beer, n=13 in T-Ber and n=14 in T-Ethanol) were included in the final analysis.

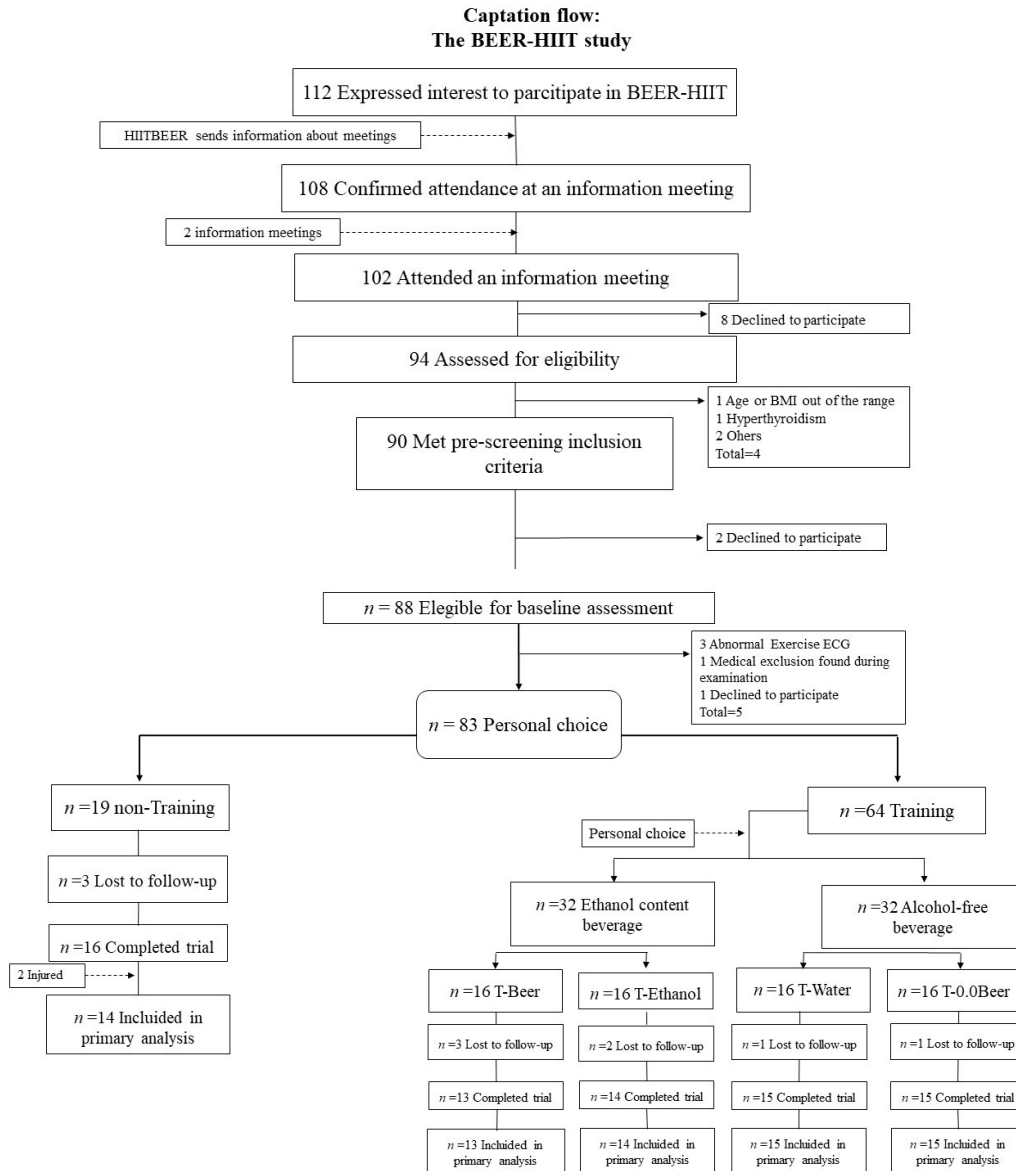


Figure 14. Flow-chart diagram in the BEER-HIIT study. *Abbreviations:* BMI, body mass index; ECG, electrocardiogram; N-T, non-training group; T-Ber, group that performed High-Intensity Interval Training (HIIT) and consumed alcohol beer; T-0.0Beer, group that performed HIIT and consumed non-alcoholic beer; T-Water, group that performed HIIT and consumed sparkling water; T-Ethanol, group that performed HIIT and consumed sparkling water with alcohol added.

The baseline characteristics of all participants are described in Table 17. No differences were observed in the baseline values among groups (all $p > 0.079$).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Table 17. Descriptive values segmented by intervention group in the BEER-HIIT study.

	All (<i>n</i> = 72)	Non training (<i>n</i> =15)	T-Water (<i>n</i> =15)	T-0.0 Beer (<i>n</i> =15)	T-Beer (<i>n</i> =13)	T-Ethanol (<i>n</i> =14)	<i>p</i> Value
Age (years)	24.5 (6.2)	20.7 (3.0)	24.7 (6.6)	25.0 (6.5)	25.9 (6.1)	26.7 (6.97)	0.079
Sex (%)							
Men	35 (48.6)	8 (53.3)	8 (53.3)	6 (40)	6 (46.1)	7 (50)	
Women	37 (51.4)	7 (46.7)	7 (46.7)	9 (60)	7 (53.9)	7 (50)	
<i>Anthropometry and Body Composition</i>							
Weight (Kg)	68.6 (13.4)	62.7 (9.2)	69.4 (10.5)	71.5 (16.8)	70.0 (15.3)	69.7 (13.9)	0.431
Height (cm)	168.8 (8.4)	169.9 (9.6)	167.9 (7.4)	168.3 (10.7)	170.5 (5.6)	167.6 (8.1)	0.861
Body Mass Index (Kg/m ²)	24.0 (3.7)	21.7 (2.0)	24.62 (3.3)	24.99 (3.7)	23.93 (4.2)	24.74 (4.2)	0.080
Lean Mass (Kg)	44.6 (9.7)	43.4 (7.7)	43.9 (8.0)	45.4 (11.9)	45.4 (11.3)	45.3 (10.4)	0.970
Lean Mass Index (Kg/m ²)	15.2 (2.0)	14.9 (1.6)	15.49 (2.0)	15.79 (2.6)	15.49 (3.1)	15.97 (2.5)	0.802
Fat Mass Percentage (%)	30.0 (7.7)	26.1 (8.1)	31.9 (7.8)	32.2 (5.4)	29.8 (8.1)	30.1 (8.3)	0.198
Fat Mass Index (Kg/m ²)	7.2 (3.3)	5.6 (2.1)	7.79 (2.6)	7.89 (1.8)	7.01 (2.5)	7.43 (2.8)	0.085
<i>HR and HRV parameters</i>							
Heart Rate (bpm)	69.0 (10.6)	69.7 (11.5)	69.7 (11.6)	68.5 (10.4)	69.1 (10.2)	67.9 (10.46)	0.990
SDNN (ms)	52.0 (22.9)	57.9 (24.4)	47.0 (27.9)	48.2 (18.9)	53.9 (16.6)	53.2 (25.81)	0.707
RMSSD (ms)	54.7 (29.8)	60.8 (30.9)	50.4 (34.0)	51.9 (24.9)	53.6 (19.9)	56.8 (38.12)	0.892
SS (ms)	17.5 (10.9)	15.1 (11.1)	22.6 (24.1)	17.8 (10.1)	17.0 (7.0)	17.1 (16.5)	0.169
S/PS Ratio	0.49 (0.79)	0.31 (0.78)	0.84 (1.81)	0.48 (0.91)	0.55 (0.45)	0.52 (1.18)	0.125

Data are shown as means (standard deviation). Median (IQR: interquartile range) are presented for SS and S/PS Ratio because these variables presented non-normal distribution. *Abbreviations:* %; percentage, HR; Heart Rate, HRV; Heart Rate Variability, bpm; beats per minute, SDNN; Standard Deviation of RR intervals, ms; milliseconds, RMSSD; Square root of the mean squared differences between successive RR intervals, *p* Value, one-way ANOVA (to detect between-group differences at baseline).

Figure 15 shows changes in HRV parameters after the intervention study in the five groups. No significant differences of changes in heart rate ($F=0.239$, $p=0.915$, $\eta^2=0.014$), SDNN ($F=0.749$, $p=0.562$, $\eta^2=0.043$), RMSSD ($F=1.067$, $p=0.380$, $\eta^2=0.060$), Napierian logarithm of SS ($F=0.704$, $p=0.592$, $\eta^2=0.040$) and Napierian logarithm of S/PS Ratio ($F=0.620$, $p=0.650$, $\eta^2=0.036$) were found after the intervention program. The results persisted after including sex and age in the model.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

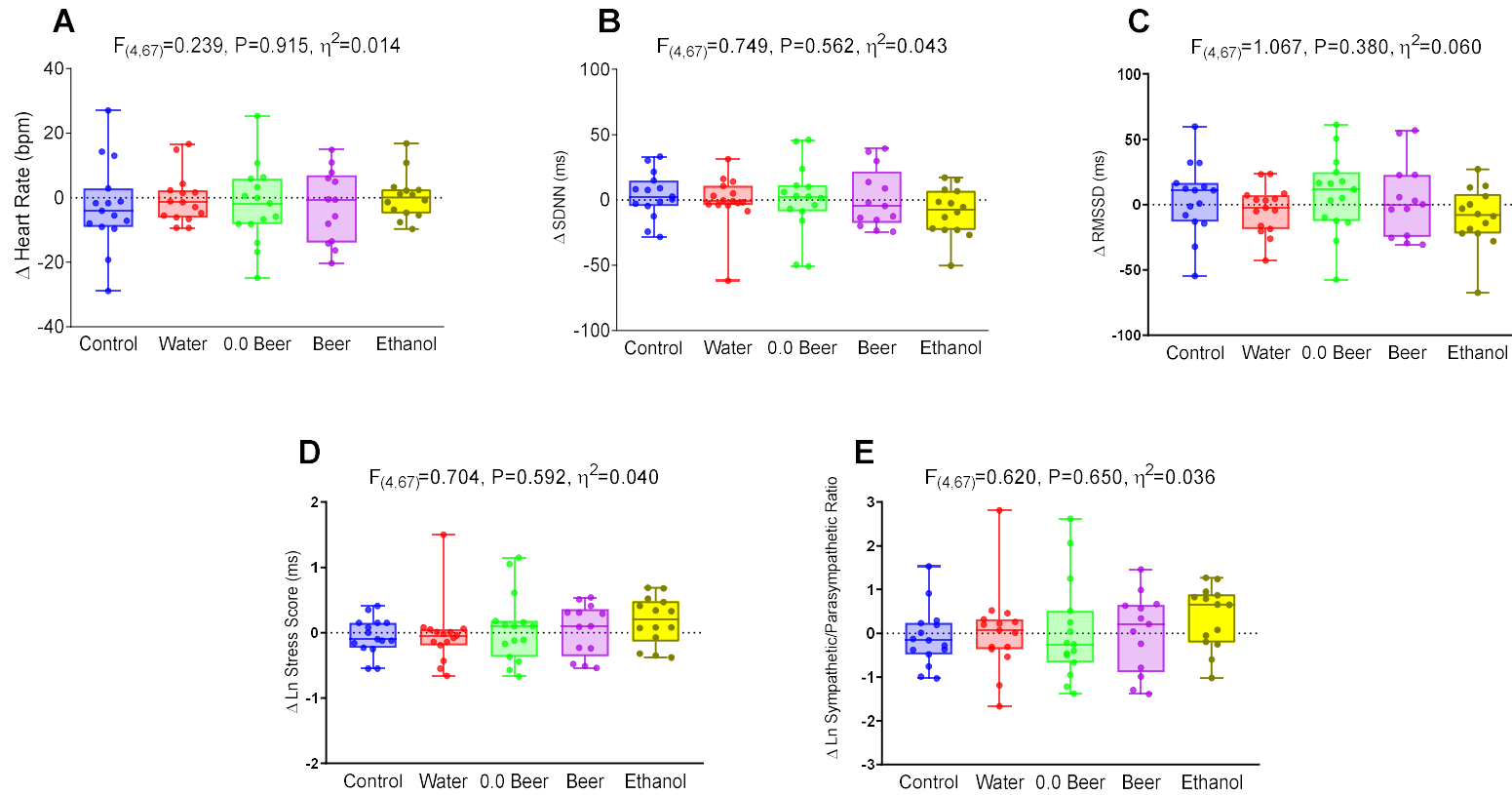


Figure 15. Changes in heart rate and heart rate variability parameters after the intervention study in the five groups in the BEER-HIIT study. Analysis of covariance adjusting for baseline values, with post hoc Bonferroni-corrected t-test. *Abbreviations:* Δ differences between post and pretest, bpm; beats per minute, SDNN; Standard Deviation of RR intervals, ms; milliseconds, RMSSD; Square root of the mean squared differences between successive RR intervals, F , p and η^2 of analysis of variance.

Raw changes (i.e., not normalized using Napierian logarithm) in heart rate and HRV parameters after the intervention study in the five groups can be shown in Figure 17 (F ranges between 0.239 and 1.905; p ranges between 0.120 and 0.915; and η^2 ranges between 0.014 and 0.105).

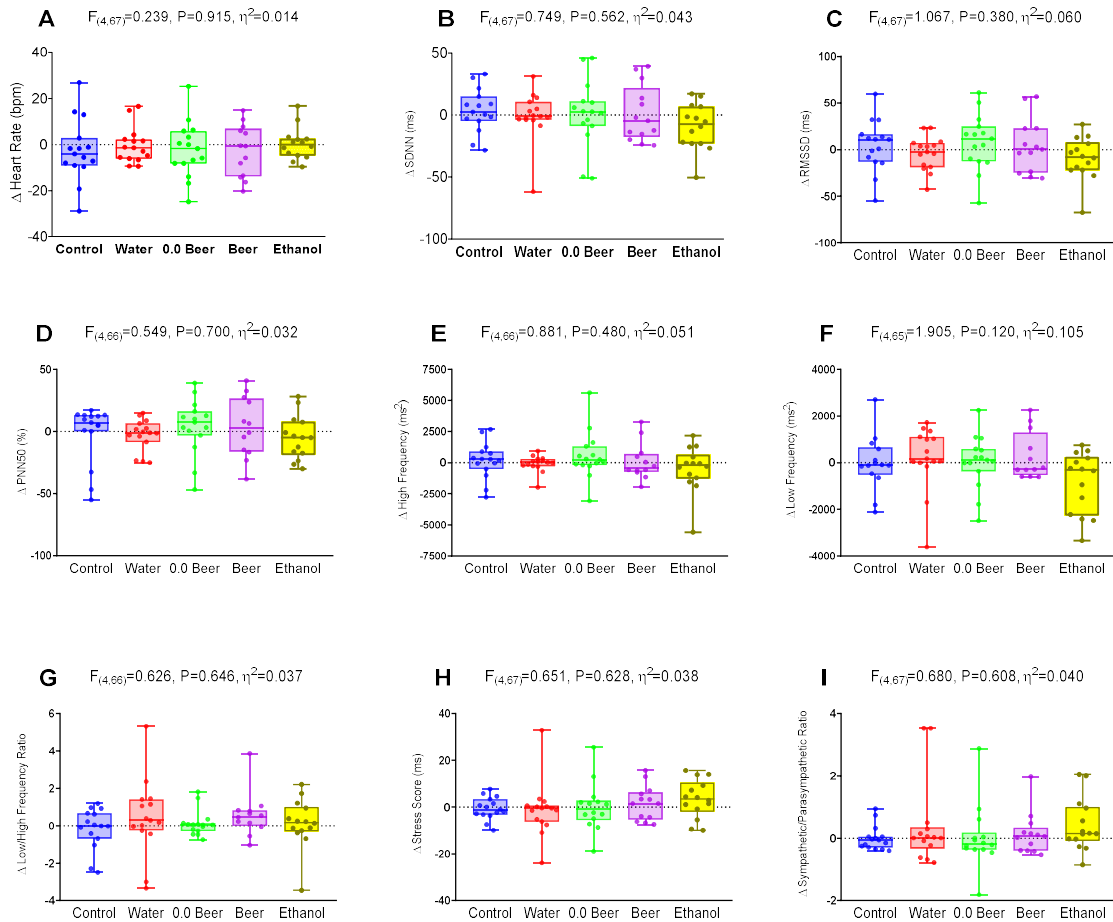


Figure 16. Raw changes in heart rate (Panel A) and heart rate variability parameters (Panel B, C, D, E, F, G, H and I) after the intervention study in the five groups. Analysis of covariance adjusting for baseline values, with post hoc Bonferroni-corrected t-test. F , p and η^2 of analysis of variance, Abbreviations: Δ ; differences between post and pretest, %; percentage, bpm; beats per minute, ms; milliseconds, ms^2 ; milliseconds square, PNN50; percentage of successive RR interval pairs that differ more than 50 ms, RMSSD; Square root of the mean squared differences between successive RR intervals, SDNN; Standard Deviation of RR intervals.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Also, in Figure 18, are presented the changes in corrected HRV parameters, with no significant changes in HRV parameters in the different groups (F ranges between 0.588 and 2.383; p ranges between 0.061 and 0.673; and η^2 ranges between 0.034 and 0.130).

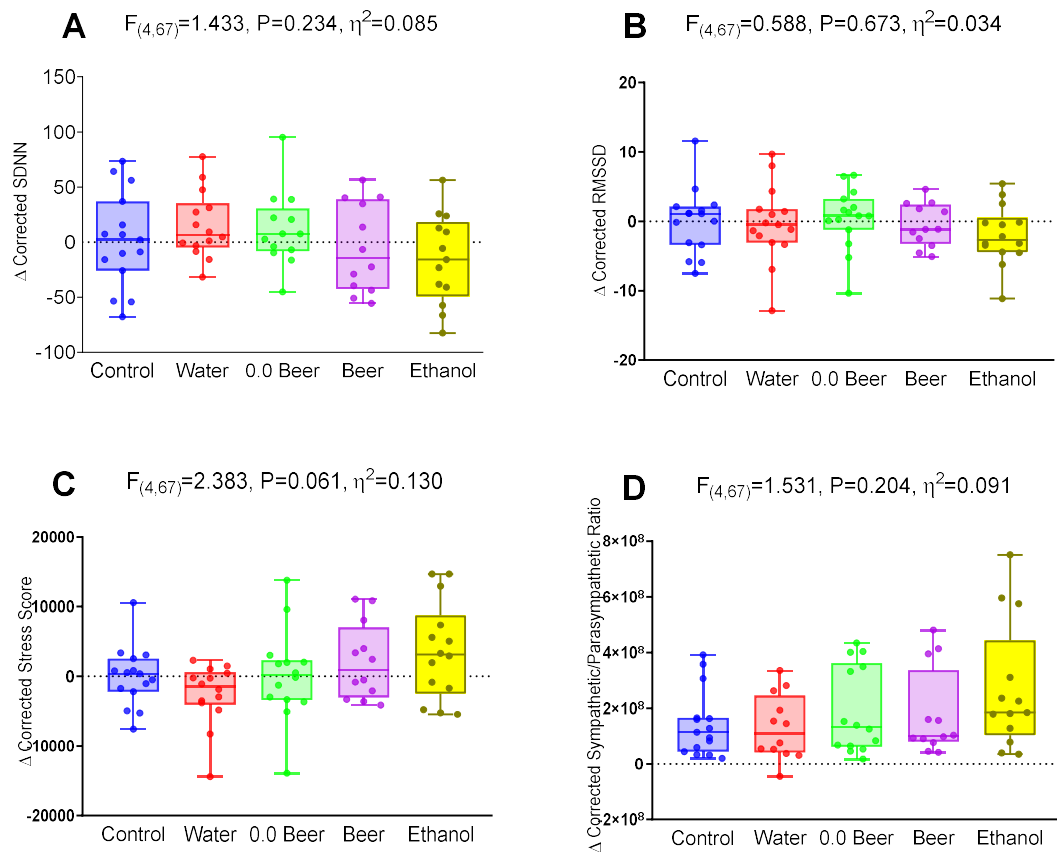


Figure 17. Raw changes in corrected heart rate variability parameters (Panel A, B, C and D) after the intervention study in the five groups. Analysis of covariance adjusting for baseline values, with post hoc Bonferroni-corrected t-test. F , p and η^2 of analysis of variance. Abbreviations: Δ Differences between post and pretest, %; percentage, bpm; beats per minute, ms; milliseconds, ms^2 ; milliseconds square, RMSSD; Square root of the mean squared differences between successive RR intervals, SDNN; Standard Deviation of RR intervals.

Discussion

This study shows that a 10-week HIIT did not affect HRV parameters in healthy young adults. In addition, HRV parameters were not affected by the concurrent daily intake of beer or ethanol in moderate amounts. Therefore, our findings suggest that the type of HIIT performed could not be an adequate stimulus to improve cardiac autonomic function at least in young healthy individuals. Furthermore, a moderate and daily alcohol consumption, accompanying meals, appears not to be an issue of concern affecting HRV parameters after a HIIT program in healthy young adults.

We did not find any influence of a 10-week HIIT training program on HRV parameters (i.e., SDNN, RMSSD, SS and S/PS Ratio). Methodological factors, including HIIT modality or training frequency, may explain these results. While endurance training seems to be an adequate stimulus to improve resting HRV parameters (Abreu et al., 2019; Boutcher et al., 2013; Grässler et al., 2021; Heydari et al., 2013), it has been reported that resistance training methodologies did not affect resting HRV parameters in healthy young adults (Bhati et al., 2019; Kingsley & Figueroa, 2016). We implemented a circuit based on eight weight-bearing exercises. Hence, although this type of HIIT is a promising tool to improve other health-related parameters (i.e., body composition and physical fitness) (Molina-Hidalgo et al., 2019, 2020), it may not be an adequate stimulus to affect cardiac autonomic function in young adults (Bhati et al., 2019; Kingsley & Figueroa, 2016). Moreover, training frequency (i.e., 2 days/week) could not be enough to affect HRV parameters in young adults. In this sense, a recent systematic review (Grässler et al., 2021) propose that higher training frequencies are more likely to improve HRV parameters in healthy young adults. Lastly, as indicated in this systematic review, the most important reason may lay on the fact that HIIT would not influence HRV parameters in a population who already has a normal cardiac autonomic function, such as our study participants (i.e., young adults without cardiometabolic diseases and a normal cardiac autonomic function).

Our study suggests that HRV parameters are not altered by a moderate alcohol intake during a 10-week HIIT intervention. In contrast a moderate alcohol intake

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

has been related to negative effects on vagal-related HRV parameters when a high alcohol intake is a chronic habit (Ralevski et al., 2019), but it has also been reported increased vagal-related HRV parameters (i.e., high frequency) in young habitual-drinkers' adults (Quintana et al., 2013). These results, going in opposite directions, neither concur with our findings, since vagal-related HRV parameters (i.e., SDNN, RMSSD, pNN50 High Frequency) are not altered by alcohol consumption during the exercise intervention. This discrepancy could be related to the design of the studies (cross-sectional vs. a 10-weeks controlled trial), in which we controlled the type and the amount of alcohol consumption. Moreover, as we reported previously, healthy young adults usually show a normal cardiac autonomic function (Kingsley & Figueroa, 2016), which may protect HRV parameters of changes derived from alcohol intake particularly when taken in moderate amounts as is the case in our study. Nevertheless, although we do not find effects of moderate alcohol consumption on HRV parameters during the training program, the use of alcohol should be carefully managed and not recommended (Molina-Hidalgo et al., 2020).

The present study had some limitations. Firstly, the sample size could have been insufficient to detect significant changes in HRV parameters among groups because HRV was a secondary outcome in the BEER-HIIT controlled trial. Secondly, our results should not be extrapolated to other populations since we only included healthy young adults (i.e., 18–40 years old). Thirdly, Polar RS800CX is not a gold standard for HRV assessment but has been proved as valid and valid (Gamelin et al., 2008) and reliable (Vasconcellos et al., 2015) for HRV measurement in adults (Williams et al., 2017). Also, we did not control participants' breathing to facilitate their resting status. Some studies reported differences between paced and spontaneous breathing over HRV parameters (Hill et al., 2009); however, a narrative review suggest that respiration frequency minimally impact vagal-related HRV parameters (Plaza-Flórida et al., 2021). Finally, participants were not purely randomized (basically due to ethical considerations), and given the organoleptic characteristics of the different types of beverages, a double-blind design placebo-controlled for alcohol, was not possible.

Conclusion

Our study suggests that a 10-week HIIT, based on weight-bearing exercises in circuit form, does not have an impact on HRV parameters in healthy young adults. Also, these HRV parameters are not altered by beer or alcohol consumption, in moderate amounts, during the HIIT program. Although we did not find negative effects of moderate alcohol consumption in HRV parameters, alcohol intake should be managed carefully and not advised. Future studies of the alcohol effects on exercise interventions that affect HRV parameters are required to elucidate their association.

LIMITACIONES Y FORTALEZAS

Limitaciones y Fortalezas

Limitaciones

Pese a los prometedores resultados obtenidos en la presente Tesis Doctoral, se deben mencionar algunas limitaciones para su adecuada interpretación:

1. HRV no era la variable dependiente principal de ninguno de los estudios empleados en esta tesis doctoral, no calculándose el tamaño de muestra en función de esta variable. Por tanto, el estudio del efecto de los diferentes programas de entrenamiento sobre HRV tiene una naturaleza exploratoria, requiriendo futuros estudios que confirmen o no la magnitud de los resultados.
2. Los resultados no se deben extrapolar a otras poblaciones, ya que únicamente se incluyen adultos jóvenes (18-65 años de edad), y adultos sedentarios de mediana edad (45-65 años).
3. Los proyectos FIT-AGEING y BEER-HIIT fueron desarrollados en dos periodos temporales diferentes (otoño vs. invierno). Kristal-Boneh y cols. (2000) señala un coeficiente de variación menor del 3% en SDNN, RMSSD y PNN50 entre diferentes momentos del año (invierno vs. verano). Sin embargo, hasta donde alcanza nuestro conocimiento, no hay estudios que investiguen la variación de SD1, SD2, SS y Ratio S/PS en diferentes estaciones del año en población de adultos sedentarios sanos.
4. Aunque aproximadamente un 75% de las mujeres participantes en el estudio de intervención FIT-AGEING eran postmenopáusicas, en este estudio no se determinaron hormonas relacionadas con el ciclo menstrual. Igualmente, no se controló este apartado en el estudio BEER-HIIT, lo que podría ser una variable con influencia en los resultados de ambos estudios (Martins y cols. 2001; Bai y cols. 2009).
5. Pese a que el efecto de diferentes tipos de respiración sobre HRV no está clara científicamente hablando, algunos estudios han sugerido que los parámetros de HRV pueden verse afectados por una respiración controlada frente a una respiración espontánea (Hill y cols. 2009; Plaza-Florido y cols. 2021). Para facilitar el estatus de descanso de los

participantes, se decidió no controlar su respiración. Futuros estudios son necesarios por tanto para comprobar si nuestros resultados se replican con el control de la respiración en la determinación de HRV.

6. Para el registro de HRV se utilizó un Polar RS800CX (Polar Electro, Kempele, Finland) que, aunque no es una herramienta considerada como “gold-standard” en la determinación de HRV, se puede considerar una herramienta válida y fidedigna para determinar HRV en adultos (Williams et al., 2017).
7. En el estudio BEER-HIIT, los participantes no fueron aleatorizados de forma total debido a consideraciones éticas. Además, dadas las características organolépticas de los diferentes tipos de bebidas, no fue posible desarrollar un diseño doble ciego con control de placebo para el alcohol.

LIMITACIONES Y FORTALEZAS

Fortalezas

Pese a las anteriormente mencionadas limitaciones, esta Tesis Doctoral también posee fortalezas importantes:

1. Se valida, por primera vez, un indicador directo relacionado con la actividad del SNS (SS) y una medida de la relación entre la actividad del SNS y el SNP (ratio S/PS) en adultos sedentarios sanos, mostrando también la fiabilidad de ambas medidas.
2. Se establecen valores de referencia para SS y ratio S/PS para una población de adultos sedentarios de entre 18 y 65 años de edad, empleando para ello un método de inferencia estadística adecuado a tal función (intervalos de aceptación).
3. Esta tesis doctoral se desarrolla comparando, por primera vez, el efecto de 3 metodologías de entrenamiento sobre parámetros de HRV en adultos sedentarios sin patologías.
4. Las sesiones de entrenamiento son planificadas, desarrolladas y supervisadas por profesionales cualificados (licenciatura o grado) en Ciencias de la Actividad Física y el Deporte, generando además una gran adherencia y participación en los diferentes grupos de intervención.
5. La metodología de análisis de HRV sigue las indicaciones establecidas para tal función en la literatura científica, realizando el análisis por un solo investigador entrenado para esta tarea (obteniendo valores de coeficiente de correlación intraclases y coeficientes de variación menores que si dicha tarea la afrontan dos investigadores diferentes), obteniendo así valores de HRV válidos fiables y replicables. El citado estudio, además, se realiza empleando datos obtenidos en el estudio FIT-AGEING y utilizados en la presente Tesis Doctoral.

CONCLUSIÓN Y PERSPECTIVAS FUTURAS

CONCLUSIÓN Y PERSPECTIVAS FUTURAS

Conclusión y Perspectivas Futuras

Conclusión

La presente tesis doctoral pone de manifiesto la importancia del ejercicio físico en la mejora de HRV en adultos de mediana edad, una mejora que a su vez se relaciona directamente con otros biomarcadores de salud tales como la composición corporal y el riesgo cardiometabólico. Sin embargo, la realización de un programa de entrenamiento HIIT basado en ejercicios con autocargas no generó cambios en HRV en adultos jóvenes.

Perspectivas futuras

1. SS y Ratio S/PS son variables estudiadas, por el momento, en adultos sedentarios sanos jóvenes y de mediana edad y en futbolistas profesionales. Futuros estudios son necesarios para evaluar si estas variables son adecuadas para el estudio de la actividad del SNS y SNP a través de HRV en otras poblaciones.
2. Se deben establecer valores de referencia para SS y Ratio S/PS en otras poblaciones, así como promover la determinación de dichos valores de referencia en estas y otras variables empleando para ello los intervalos de aceptación utilizados en esta Tesis Doctoral
3. Se requieren futuras investigaciones similares a las que conforman esta tesis doctoral con un tamaño de muestra calculado en base a los parámetros de HRV, buscando confirmar los hallazgos obtenidos en esta Tesis Doctoral. Del mismo modo, sería de interés científico y clínico investigar si la implementación de otros programas de ejercicio físico produce adaptaciones similares o incluso superiores en términos de HRV.

REFERENCIAS

Referencias

- Abreu, R. M. de, Rehder-Santos, P., Simões, R. P., & Catai, A. M. (2019). Can high-intensity interval training change cardiac autonomic control? A systematic review. In *Brazilian Journal of Physical Therapy* (Vol. 23, Issue 4, pp. 279–289). Revista Brasileira de Fisioterapia. <https://doi.org/10.1016/j.bjpt.2018.09.010>
- Ahrén, B., Taborsky, G. J., & Porte, D. (1986). Neuropeptidergic versus cholinergic and adrenergic regulation of islet hormone secretion. *Diabetologia* 1986 29:12, 29(12), 827–836. <https://doi.org/10.1007/BF00870137>
- Alansare, A., Alford, K., Lee, S., Church, T., & Jung, H. C. (2018). The effects of high-intensity interval training vs. Moderate-intensity continuous training on heart rate variability in physically inactive adults. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 15(7), 1508. <https://doi.org/10.3390/ijerph15071508>
- Albinet, C. T., Boucard, G., Bouquet, C. A., & Audiffren, M. (2010). Increased heart rate variability and executive performance after aerobic training in the elderly. *European Journal of Applied Physiology*, 109(4), 617–624. <https://doi.org/10.1007/s00421-010-1393-y>
- Alcántara, J., Plaza-Florido, A., Amaro-Gahete, F., Acosta, F., Migueles, J., Molina-García, P., Sacha, J., Sanchez-Delgado, G., & Martínez-Tellez, B. (2020). Impact of Using Different Levels of Threshold-Based Artefact Correction on the Quantification of Heart Rate Variability in Three Independent Human Cohorts. *Journal of Clinical Medicine*, 9(2). <https://doi.org/10.3390/JCM9020325>
- Almeida-Santos, M. A., Barreto-Filho, J. A., Oliveira, J. L. M., Reis, F. P., da Cunha Oliveira, C. C., & Sousa, A. C. S. (2016). Aging, heart rate variability and patterns of autonomic regulation of the heart. *Archives of Gerontology and Geriatrics*, 63, 1–8. <https://doi.org/10.1016/j.archger.2015.11.011>
- Amaro-Gahete, F. J., De-La-O, A., Jurado-Fasoli, L., Dote-Montero, M., Gutiérrez, A., Ruiz, J. R., & Castillo, M. J. (2019). Changes in physical fitness after 12 weeks of structured concurrent exercise training, high intensity interval training, or whole-body electromyostimulation training in sedentary middle-aged adults: A randomized controlled trial. *Frontiers in Physiology*, 10(APR), 451. <https://doi.org/10.3389/fphys.2019.00451>
- Amaro-Gahete, F. J., De-la-O, A., Jurado-Fasoli, L., Espuch-Oliver, A., de Haro, T., Gutierrez, A., Ruiz, J. R., & Castillo, M. J. (2019). Exercise training increases the S-Klotho plasma levels in sedentary middle-aged adults: A randomised controlled trial. The FIT-AGEING study. *Journal of Sports Sciences*, 37(19), 2175–2183. <https://doi.org/10.1080/02640414.2019.1626048>
- Amaro-Gahete, F. J., De-la-O, A., Jurado-Fasoli, L., Espuch-Oliver, A., Robles-Gonzalez, L., Navarro-Lomas, G., de Haro, T., Femia, P., Castillo, M. J., & Gutierrez, A. (2018). Exercise training as S-Klotho protein stimulator in sedentary healthy adults: Rationale, design, and methodology. *Contemporary Clinical Trials Communications*, 11, 10–19. <https://doi.org/10.1016/j.conctc.2018.05.013>
- Amaro-Gahete, F. J., De-la-O, A., Jurado-Fasoli, L., Martínez-Tellez, B., R. Ruiz, J., & Castillo, M. J. (2019). Exercise Training as a Treatment for

- Cardiometabolic Risk in Sedentary Adults: Are Physical Activity Guidelines the Best Way to Improve Cardiometabolic Health? The FIT-AGEING Randomized Controlled Trial. *Journal of Clinical Medicine*, 8(12), 2097. <https://doi.org/10.3390/jcm8122097>
- Amaro-Gahete, F. J., De-la-O, A., Jurado-Fasoli, L., Ruiz, J. R., Castillo, M. J., & Gutiérrez, Á. (2019). Effects of different exercise training programs on body composition: A randomized control trial. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*, 29(7), 968–979. <https://doi.org/10.1111/sms.13414>
- Amaro-Gahete, F. J., De-la-O, A., Sanchez-Delgado, G., Robles-Gonzalez, L., Jurado-Fasoli, L., Ruiz, J. R., & Gutiérrez, A. (2018). Functional exercise training and undulating periodization enhances the effect of whole-body electromyostimulation training on running performance. *Frontiers in Physiology*, 9(JUN), 720. <https://doi.org/10.3389/FPHYS.2018.00720/BIBTEX>
- Andres, M., & del Castillo, A. (1998). *Bioestadística para las Ciencias de la Salud* (Norma).
- Andrew, M. E., Shengqiao, L., Wactawski-Wende, J., Dorn, J. P., Mnatsakanova, A., Charles, L. E., Fekedulegn, D., Miller, D. B., Violanti, J. M., Burchfiel, C. M., & Sharp, D. S. (2013). Adiposity, muscle, and physical activity: Predictors of perturbations in heart rate variability. *American Journal of Human Biology*, 25(3), 370–377. <https://doi.org/10.1002/AJHB.22379>
- Armour, J. A. (2008). Potential clinical relevance of the “little brain” on the mammalian heart. *Experimental Physiology*, 93(2), 165–176. <https://doi.org/10.1113/EXPPHYSIOL.2007.041178>
- Bahrainy, S., Levy, W. C., Busey, J. M., Caldwell, J. H., & Stratton, J. R. (2016). Exercise training bradycardia is largely explained by reduced intrinsic heart rate. *International Journal of Cardiology*, 222, 213. <https://doi.org/10.1016/J.IJCARD.2016.07.203>
- Bai, X., Li, J., Zhou, L., & Li, X. (2009). Influence of the menstrual cycle on nonlinear properties of heart rate variability in young women. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 297(2), 765–774. <https://doi.org/10.1152/AJPHEART.01283.2008/ASSET/IMAGES/LARGE/ZH40080989320004.JPEG>
- Barbalho, S. M., Flato, U. A. P., Tofano, R. J., Goulart, R. de A., Guiguer, E. L., Detregiachi, C. R. P., Buchaim, D. V., Araújo, A. C., Buchain, R. L., Reina, F. T. R., Biteli, P., Reina, D. O. B. R., & Bechara, M. D. (2020). Physical Exercise and Myokines: Relationships with Sarcopenia and Cardiovascular Complications. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(10). <https://doi.org/10.3390/IJMS21103607>
- Barnes, M. J. (2014). Alcohol: Impact on sports performance and recovery in male athletes. In *Sports Medicine* (Vol. 44, Issue 7, pp. 909–919). Springer International Publishing. <https://doi.org/10.1007/s40279-014-0192-8>
- Benichou, T., Pereira, B., Mermillod, M., Tauveron, I., Pfabigan, D., Maqdasy, S., & Dutheil, F. (2018). Heart rate variability in type 2 diabetes mellitus: A systematic review and meta-analysis. *PLoS ONE*, 13(4). <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0195166>

REFERENCIAS

- Bergfeldt, L., & Haga, Y. (2003). Power spectral and Poincaré plot characteristics in sinus node dysfunction. *Journal of Applied Physiology*, *94*(6), 2217–2224. <https://doi.org/10.1152/JAPPLPHYSIOL.01037.2002>
- Bhati, P., Moiz, J. A., Menon, G. R., & Hussain, M. E. (2019). Does resistance training modulate cardiac autonomic control? A systematic review and meta-analysis. *Clinical Autonomic Research*, *29*(1), 75–103. <https://doi.org/10.1007/S10286-018-0558-3>
- Billman, G. E. (2011). Heart Rate Variability – A Historical Perspective. *Frontiers in Physiology*, *2*. <https://doi.org/10.3389/FPHYS.2011.00086>
- Billman, G. E. (2013). The LF/HF ratio does not accurately measure cardiac sympatho-vagal balance. *Frontiers in Physiology*, *4*. <https://doi.org/10.3389/fphys.2013.00026>
- Billman, G. E., Huikuri, H. v., Sacha, J., & Trimmel, K. (2015). An introduction to heart rate variability: Methodological considerations and clinical applications. *Frontiers in Physiology*, *6*(FEB), 55. <https://doi.org/10.3389/FPHYS.2015.00055/BIBTEX>
- Borg, G. A. V. (1982). Psychophysical bases of perceived exertion. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, *14*(5), 377–381. <https://doi.org/10.1249/00005768-198205000-00012>
- Boutcher, S. H., Park, Y., Dunn, S. L., & Boutcher, Y. N. (2013). The relationship between cardiac autonomic function and maximal oxygen uptake response to high-intensity intermittent-exercise training. *Journal of Sports Sciences*, *31*(9), 1024–1029. <https://doi.org/10.1080/02640414.2012.762984>
- Brennan, M., Palaniswami, M., & Kamen, P. (2001). Do existing measures of Poincare plot geometry reflect nonlinear features of heart rate variability? *IEEE Transactions on Biomedical Engineering*, *48*(11), 1342–1347. <https://doi.org/10.1109/10.959330>
- Brown, T. E., Beightol, L. A., Koh, J., & Eckberg, D. L. (1993). Important influence of respiration on human R-R interval power spectra is largely ignored. *Journal of Applied Physiology (Bethesda, Md. : 1985)*, *75*(5), 2310–2317. <https://doi.org/10.1152/JAPPL.1993.75.5.2310>
- Buchheit, M., & Laursen, P. B. (2013). High-intensity interval training, solutions to the programming puzzle: Part I: Cardiopulmonary emphasis. In *Sports Medicine* (Vol. 43, Issue 5, pp. 313–338). <https://doi.org/10.1007/s40279-013-0029-x>
- Buchheit, M., Simon, C., Charloux, A., Phane Doutreleau, S., Ois Piquard, F., & Brandenberger, G. (2005). Heart Rate Variability and Intensity of Habitual Physical Activity in Middle-Aged Persons. *Med. Sci. Sports Exerc*, *37*(9), 1530–1534. <https://doi.org/10.1249/01.mss.0000177556.05081.77>
- Bull, F. C., Al-Ansari, S. S., Biddle, S., Borodulin, K., Buman, M. P., Cardon, G., Carty, C., Chaput, J. P., Chastin, S., Chou, R., Dempsey, P. C., Dipietro, L., Ekelund, U., Firth, J., Friedenreich, C. M., Garcia, L., Gichu, M., Jago, R., Katzmarzyk, P. T., ... Willumsen, J. F. (2020). World Health Organization 2020 guidelines on physical activity and sedentary behaviour. *British Journal of Sports Medicine*, *54*(24), 1451–1462. <https://doi.org/10.1136/BJSPORTS-2020-102955>
- Cannon, W. B. (1992). Bodily changes in pain, hunger, fear and rage: An account of recent researches into the function of emotional excitement. *D.*

- Appleton*.
https://scholar.google.com/scholar_lookup?title=Bodily+Changes+in+Pain,+Hunger,+Fear,+and+Rage&author=W.+Cannon&publication_year=1915
- Carey, R. M., Whelton, P. K., Aronow, W. S., Casey, D. E., Collins, K. J., Himmelfarb, C. D., DePalma, S. M., Gidding, S., Jamerson, K. A., Jones, D. W., McLaughlin, E. J., Muntner, P., Ovbiagele, B., Smith, S. C., Spencer, C. C., Stafford, R. S., Taler, S. J., Thomas, R. J., Williams, K. A., ... Wright, J. T. (2018). Prevention, detection, evaluation, and management of high blood pressure in adults: Synopsis of the 2017 American College of Cardiology/American Heart Association Hypertension Guideline. In *Annals of Internal Medicine* (Vol. 168, Issue 5, pp. 351–358). American College of Physicians. <https://doi.org/10.7326/M17-3203>
- Carnethon, M. R., Yan, L., Greenland, P., Garside, D. B., Dyer, A. R., Metzger, B., & Daviglius, M. L. (2008). Resting Heart Rate in Middle Age and Diabetes Development in Older Age. *Diabetes Care*, *31*(2), 335–339. <https://doi.org/10.2337/DC07-0874>
- Carracher, A., Marathe, P., & Close, K. (2017). International diabetes federation. *Journal of Diabetes*, *10*(5), 353–356. <https://doi.org/10.1111/1753-0407.12644>
- Choi, J., Lee, M., Lee, J. K., Kang, D., & Choi, J. Y. (2017). Correlates associated with participation in physical activity among adults: A systematic review of reviews and update. In *BMC Public Health* (Vol. 17, Issue 1, p. 356). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12889-017-4255-2>
- Cooper, T. M., McKinley, P. S., Seeman, T. E., Choo, T. H., Lee, S., & Sloan, R. P. (2015). Heart rate variability predicts levels of inflammatory markers: Evidence for the vagal anti-inflammatory pathway. *Brain, Behavior, and Immunity*, *49*, 94–100. <https://doi.org/10.1016/J.BBI.2014.12.017>
- Cornelissen, V. A., Verheyden, B., Aubert, A. E., & Fagard, R. H. (2010). Effects of aerobic training intensity on resting, exercise and post-exercise blood pressure, heart rate and heart-rate variability. *Journal of Human Hypertension*, *24*(3), 175–182. <https://doi.org/10.1038/JHH.2009.51>
- Dantas, E. M., Kemp, A. H., Andreão, R. V., da Silva, V. J. D., Brunoni, A. R., Hoshi, R. A., Bensenor, I. M., Lotufo, P. A., Ribeiro, A. L. P., & Mill, J. G. (2018). Reference values for short-term resting-state heart rate variability in healthy adults: Results from the Brazilian Longitudinal Study of Adult Health-ELSA-Brasil study. *Psychophysiology*, *55*(6), e13052. <https://doi.org/10.1111/psyp.13052>
- de Gaetano, G., Costanzo, S., di Castelnuovo, A., Badimon, L., Bejko, D., Alkerwi, A., Chiva-Blanch, G., Estruch, R., la Vecchia, C., Panico, S., Pounis, G., Sofi, F., Stranges, S., Trevisan, M., Ursini, F., Cerletti, C., Donati, M. B., & Iacoviello, L. (2016a). Effects of moderate beer consumption on health and disease: A consensus document. In *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* (Vol. 26, Issue 6, pp. 443–467). Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2016.03.007>
- de Gaetano, G., Costanzo, S., di Castelnuovo, A., Badimon, L., Bejko, D., Alkerwi, A., Chiva-Blanch, G., Estruch, R., la Vecchia, C., Panico, S., Pounis, G., Sofi, F., Stranges, S., Trevisan, M., Ursini, F., Cerletti, C., Donati, M. B., & Iacoviello, L. (2016b). Effects of moderate beer consumption on health and

REFERENCIAS

- disease: A consensus document. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 26(6), 443–467. <https://doi.org/10.1016/J.NUMECD.2016.03.007>
- de la Cruz Torres, B., Lopez, C. L., & Naranjo-Orellana, J. (2008). Analysis of heart rate variability at rest and during aerobic exercise: a study in healthy people and cardiac patients. *British Journal of Sports Medicine*, 42(9), 715–720. <https://doi.org/10.1136/bjsm.2007.043646>
- De Vito, G., Galloway, S. D. R., Nimmo, M. A., Maas, P., & McMurray, J. J. V. (2002). Effects of central sympathetic inhibition on heart rate variability during steady-state exercise in healthy humans. *Clinical Physiology and Functional Imaging*, 22(1), 32–38.
- De-la-O, A., Jurado-Fasoli, L., Castillo, M. J., Gutiérrez, Á., & Amaro-Gahete, F. J. (2022). Effect of Exercise Training on 1,25(OH)₂D Levels: The FIT-AGEING Randomized Controlled Trial. *Sports Health*, 14(4), 518–526. <https://doi.org/10.1177/19417381211050033>
- Draghici, A. E., & Taylor, J. A. (2016). The physiological basis and measurement of heart rate variability in humans. *Journal of Physiological Anthropology*, 35(1). <https://doi.org/10.1186/S40101-016-0113-7>
- Earnest, C. P., Lavie, C. J., Blair, S. N., & Church, T. S. (2008). Heart rate variability characteristics in sedentary postmenopausal women following six months of exercise training: The DREW study. *PLoS ONE*, 3(6), e2288. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002288>
- Ernst, G. (2017). Heart-Rate Variability—More than Heart Beats? *Frontiers in Public Health*, 5. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2017.00240>
- Fatissou, J., Oswald, V., & Lalonde, F. (2016). Influence Diagram of Physiological and Environmental Factors Affecting Heart Rate Variability: An Extended Literature Overview. *Heart International*, 11(1), heartint.500023. <https://doi.org/10.5301/heartint.5000232>
- Felber Dietrich, D., Ackermann-Liebrich, U., Schindler, C., Barthélémy, J. C., Brändli, O., Gold, D. R., Knöpfli, B., Probst-Hensch, N. M., Roche, F., Tschopp, J. M., Eckardstein, A., & Gaspoz, J. M. (2008). Effect of physical activity on heart rate variability in normal weight, overweight and obese subjects: Results from the SAPALDIA study. *European Journal of Applied Physiology*, 104(3), 557–565. <https://doi.org/10.1007/s00421-008-0800-0>
- Filipovi, A., Kleinode, H., Dorman, U., & Meste, J. (2011). Electromyostimulation--a systematic review of the influence of training regimens and stimulation parameters on effectiveness in electromyostimulation training of selected strength parameters. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 25(11), 3218–3238. <https://doi.org/10.1519/JSC.0B013E318212E3CE>
- Filipovic, A., Kleinöder, H., Plücker, D., Hollmann, W., Bloch, W., & Grau, M. (2015). Influence of whole-body electrostimulation on human red blood cell deformability. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 29(9), 2570–2578. <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000000916>
- Fiuza-Luces, C., Santos-Lozano, A., Joyner, M., Carrera-Bastos, P., Picazo, O., Zugaza, J. L., Izquierdo, M., Ruizlope, L. M., & Lucia, A. (2018). Exercise benefits in cardiovascular disease: beyond attenuation of traditional risk factors. In *Nature Reviews Cardiology* (Vol. 15, Issue 12, pp. 731–743). Nature Publishing Group. <https://doi.org/10.1038/s41569-018-0065-1>

- Gamelin, F. X., Baquet, G., Berthoin, S., & Bosquet, L. (2008). Validity of the polar S810 to measure R-R intervals in children. *International Journal of Sports Medicine*, *29*(2), 134–138. <https://doi.org/10.1055/S-2007-964995/ID/21>
- Germán-Salló, Z., & Germán-Salló, M. (2016). Non-linear Methods in HRV Analysis. *Procedia Technology*, *22*, 645–651.
- Gibala, M. J., Little, J. P., Macdonald, M. J., & Hawley, J. A. (2012). Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. *The Journal of Physiology*, *590*(5), 1077–1084. <https://doi.org/10.1113/JPHYSIOL.2011.224725>
- Gibala, M. J., Little, J. P., Macdonald, M. J., Hawley, J. A., & Gibala, M. J. (2012). Physiological adaptations to low-volume, high-intensity interval training in health and disease. *The Journal of Physiology*, *590*(5), 1077–1084. <https://doi.org/10.1113/jphysiol.2011.224725>
- Gillach, M. C., Sallis, J. F., Buono, M. J., Patterson, P., & Nader, P. R. (1989). The Relationship between Perceived Exertion and Heart Rate in Children and Adults. *Pediatric Exercise Science*, *1*(4), 360–368. <https://doi.org/10.1123/PES.1.4.360>
- Goldberger, A. L. (1991). Is the normal heartbeat chaotic or homeostatic? *News in Physiological Sciences: An International Journal of Physiology Produced Jointly by the International Union of Physiological Sciences and the American Physiological Society*, *6*, 87–91. <https://doi.org/10.1152/PHYSIOLOGYONLINE.1991.6.2.87>
- Gómez-López, M., ... A. G.-J. of sports science, & 2010, U. (2010). Perceived barriers by university students in the practice of physical activities. *Ncbi.Nlm.Nih.Gov*.
- Grässler, B., Thielmann, B., Böckelmann, I., & Hökelmann, A. (2021). Effects of Different Training Interventions on Heart Rate Variability and Cardiovascular Health and Risk Factors in Young and Middle-Aged Adults: A Systematic Review. *Frontiers in Physiology*, *12*, 657274. <https://doi.org/10.3389/FPHYS.2021.657274/FULL>
- Guzik, P., Piskorski, J., Krauze, T., Schneider, R., Wesseling, K. H., Wykretowicz, A., & Wysocki, H. (2007). Correlations between the Poincaré Plot and Conventional Heart Rate Variability Parameters Assessed during Paced Breathing. *The Journal of Physiological Sciences*, *57*(1), 63–71. <https://doi.org/10.2170/physiolsci.RP005506>
- Hayano, J., Yasuma, F., Okada, A., Mukai, S., & Fujinami, T. (1996). Respiratory sinus arrhythmia. A phenomenon improving pulmonary gas exchange and circulatory efficiency. *Circulation*, *94*(4), 842–847. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.94.4.842>
- Heydari, M., Butcher, Y. N., & Butcher, S. H. (2013). High-intensity intermittent exercise and cardiovascular and autonomic function. *Clinical Autonomic Research*, *23*(1), 57–65. <https://doi.org/10.1007/s10286-012-0179-1>
- Hill, L. K., Siebenbrock, A., Sollers Iii, J. J., & Thayer, J. F. (2009). Are All Measures Created Equal? Heart Rate Variability and Respiration. *Biomedical Sciences Instrumentation*, *45*, 71–76. <https://www.researchgate.net/publication/24280801>
- Hillebrand, S., Gast, K. B., de Mutsert, R., Swenne, C. A., Jukema, J. W., Middeldorp, S., Rosendaal, F. R., & OM, D. O. M. (2013). Heart rate variability

REFERENCIAS

- and first cardiovascular event in populations without known cardiovascular disease: meta-analysis and dose-response meta-regression. *Europace: European Pacing, Arrhythmias, and Cardiac Electrophysiology: Journal of the Working Groups on Cardiac Pacing, Arrhythmias, and Cardiac Cellular Electrophysiology of the European Society of Cardiology*, 15(5), 742–749.
<https://doi.org/10.1093/EUROPACE/EUS341>
- Hoshi, R. A., Pastre, C. M., Vanderlei, L. C. M., & Godoy, M. F. (2013). Poincaré plot indexes of heart rate variability: Relationships with other nonlinear variables. *Autonomic Neuroscience*, 177(2), 271–274.
<https://doi.org/10.1016/j.autneu.2013.05.004>
- Hwang, C. L., Yoo, J. K., Kim, H. K., Hwang, M. H., Handberg, E. M., Petersen, J. W., & Christou, D. D. (2016). Novel all-extremity high-intensity interval training improves aerobic fitness, cardiac function and insulin resistance in healthy older adults. *Experimental Gerontology*, 82, 112–119.
<https://doi.org/10.1016/j.exger.2016.06.009>
- Jiménez-Pavón, D., Cervantes-Borunda, M. S., Díaz, L. E., Marcos, A., & Castillo, M. J. (2015). Effects of a moderate intake of beer on markers of hydration after exercise in the heat: A crossover study. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 12(1). https://doi.org/10.1186/S12970-015-0088-5/SUPPL_FILE/RSSN_A_12129857_SM0001.DOC
- Jurado-Fasoli, L., Amaro-Gahete, F. J., De-la-O, A., & Castillo, M. J. (2020). Impact of different exercise training modalities on energy and nutrient intake and food consumption in sedentary middle-aged adults: a randomised controlled trial. *Journal of Human Nutrition and Dietetics*, 33(1), 86–97. <https://doi.org/10.1111/JHN.12673>
- Kahn, S. E., Hull, R. L., & Utzschneider, K. M. (2006). Mechanisms linking obesity to insulin resistance and type 2 diabetes. *Nature* 2006 444:7121, 444(7121), 840–846. <https://doi.org/10.1038/nature05482>
- Kemmler, W., Froehlich, M., von Stengel, S., & Kleinöder, H. (2016). Whole-body electromyostimulation – The need for common sense! rationale and guideline for a safe and effective training. *Deutsche Zeitschrift Fur Sportmedizin*, 67(9), 218–221. <https://doi.org/10.5960/DZSM.2016.246>
- Kemmler, W., Schliiffka, R., Mayhew, J. L., & von Stengel, S. (2010). Effects of whole-body electromyostimulation on resting metabolic rate, body composition, and maximum strength in postmenopausal women: The training and electrostimulation trial. *Journal of Strength and Conditioning Research*, 24(7), 1880–1887. <https://doi.org/10.1519/JSC.0B013E3181DDAEEE>
- Kemmler, W., Teschler, M., Weißenfels, A., Bebenek, M., Fröhlich, M., Kohl, M., & von Stengel, S. (2016). Effects of whole-body electromyostimulation versus high-intensity resistance exercise on body composition and strength: A randomized controlled study. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/9236809>
- Kingsley, J. D., & Figueroa, A. (2016). Acute and training effects of resistance exercise on heart rate variability. *Clinical Physiology and Functional Imaging*, 36(3), 179–187. <https://doi.org/10.1111/cpf.12223>
- Koenig, J., Jarczok, M. N., Warth, M., Ellis, R. J., Bach, C., Hillecke, T. K., & Thayer, J. F. (2014). Body mass index is related to autonomic nervous

- system activity as measured by heart rate variability — A replication using short term measurements. *The Journal of Nutrition, Health & Aging* 2014 18:3, 18(3), 300–302. <https://doi.org/10.1007/S12603-014-0022-6>
- Koenig, J., & Thayer, J. F. (2016). Sex differences in healthy human heart rate variability: A meta-analysis. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews*, 64, 288–310. <https://doi.org/10.1016/J.NEUBIOREV.2016.03.007>
- Laborde, S., Mosley, E., & Thayer, J. F. (2017). Heart rate variability and cardiac vagal tone in psychophysiological research - Recommendations for experiment planning, data analysis, and data reporting. *Frontiers in Psychology*, 8(FEB), 213. <https://doi.org/10.3389/FPSYG.2017.00213/BIBTEX>
- Lahiri, M. K., Kannankeril, P. J., & Goldberger, J. J. (2008). Assessment of Autonomic Function in Cardiovascular Disease. Physiological Basis and Prognostic Implications. *Journal of the American College of Cardiology*, 51(18), 1725–1733. <https://doi.org/10.1016/J.JACC.2008.01.038>
- Lamb, K. L. (1995). Children's Ratings of Effort during Cycle Ergometry: An Examination of the Validity of Two Effort Rating Scales. *Pediatric Exercise Science*, 7(4), 407–421. <https://doi.org/10.1123/PES.7.4.407>
- Lanfranchi, P. A., & Somers, V. K. (2002). Arterial baroreflex function and cardiovascular variability: interactions and implications. *American Journal of Physiology-Regulatory, Integrative and Comparative Physiology*, 283(4), R815–R826. <https://doi.org/10.1152/ajpregu.00051.2002>
- Levy, W. C., Cerqueira, M. D., Harp, G. D., Johannessen, K. A., Abrass, I. B., Schwarte, R. S., & Stratton, J. R. (1998). Effect of endurance exercise training on heart rate variability at rest in healthy young and older men. *American Journal of Cardiology*, 82(10), 1236–1241. [https://doi.org/10.1016/S0002-9149\(98\)00611-0](https://doi.org/10.1016/S0002-9149(98)00611-0)
- Llácer, F. F. (2021). *La variabilidad de la frecuencia cardíaca como indicador de fatiga en el fútbol profesional*. https://108.128.142.30/bitstream/handle/20.500.12466/1432/Forner%20L%203%20A1cer%20C%20Francisco%20Javier_%20Tesis%20definitiva.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Lunt, H., Draper, N., Marshall, H. C., Logan, F. J., Hamlin, M. J., Shearman, J. P., Cotter, J. D., Kimber, N. E., Blackwell, G., & Frampton, C. M. A. (2014). High Intensity Interval Training in a Real World Setting: A Randomized Controlled Feasibility Study in Overweight Inactive Adults, Measuring Change in Maximal Oxygen Uptake. *PLOS ONE*, 9(1), e83256. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0083256>
- Malnick, S. D. H., Band, Y., Alin, P., & Maffiuletti, N. A. (2016). It's time to regulate the use of whole body electrical stimulation. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 352, i1693–i1693. <https://doi.org/10.1136/BMJ.11693>
- Malpas, S. C. (2002). Neural influences on cardiovascular variability: Possibilities and pitfalls. *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*, 282(1 51-1). <https://doi.org/10.1152/AJPHEART.2002.282.1.H6/ASSET/IMAGES/LARGE/H40121243004.JPEG>
- Marsland, A. L., Gianaros, P. J., Prather, A. A., Jennings, J. R., Neumann, S. A., & Manuck, S. B. (2007). Stimulated production of proinflammatory cytokines

REFERENCIAS

- covaries inversely with heart rate variability. *Psychosomatic Medicine*, 69(8), 709–716. <https://doi.org/10.1097/PSY.0B013E3181576118>
- Martins, D., Nelson, K., Pan, D., Tareen, N., & Norris, K. (2001). The effect of gender on age-related blood pressure changes and the prevalence of isolated systolic hypertension among older adults: data from NHANES III. *The Journal of Gender-Specific Medicine : JGSM : The Official Journal of the Partnership for Women's Health at Columbia*, 4(3), 10–13, 20. <https://europepmc.org/article/med/11605350>
- Medeiros, A. R., Michael, S., & Boulosa, D. A. (2018). Make it easier! Evaluation of the 'vagal-sympathetic effect' in different conditions with R–R intervals monitoring. *European Journal of Applied Physiology*, 118(6), 1287–1288. <https://doi.org/10.1007/s00421-018-3855-6>
- Michael, S., Graham, K. S., & Davis, G. M. (2017). Cardiac Autonomic Responses during Exercise and Post-exercise Recovery Using Heart Rate Variability and Systolic Time Intervals—A Review. *Frontiers in Physiology*, 8. <https://doi.org/10.3389/fphys.2017.00301>
- Molina Hidalgo, Cristina. (2021). *Effects of moderate alcohol consumption in response to a high-intensity interval training in healthy adults. The BEER-HIIT study*. [Universidad de Granada]. <https://digibug.ugr.es/handle/10481/69113>
- Molina-Hidalgo, C., De-La-O, A., Dote-Montero, M., Amaro-Gahete, F. J., & Castillo, M. J. (2020). Influence of daily beer or ethanol consumption on physical fitness in response to a high-intensity interval training program. The BEER-HIIT study. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 17–29. <https://doi.org/10.1186/s12970-020-00356-7>
- Molina-Hidalgo, C., De-Lao, A., Jurado-Fasoli, L., Amaro-Gahete, F. J., & Castillo, M. J. (2019). Beer or ethanol effects on the body composition response to high-intensity interval training. The BEER-HIIT study. *Nutrients*, 11(4), 909. <https://doi.org/10.3390/nu11040909>
- Montano, N., Ruscone, T. G., Porta, A., Lombardi, F., Pagani, M., & Malliani, A. (1994). Power spectrum analysis of heart rate variability to assess the changes in sympathovagal balance during graded orthostatic tilt. *Circulation*, 90(4), 1826–1831. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.90.4.1826>
- Munk, P. S., Butt, N., & Larsen, A. I. (2010). High-intensity interval exercise training improves heart rate variability in patients following percutaneous coronary intervention for angina pectoris. *International Journal of Cardiology*, 145(2), 312–314. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2009.11.015>
- Naranjo-Orellana, J., de La Cruz Torres, B., Cachadiña, E. S., de Hoyo, M., & Domínguez 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. <https://doi.org/10.1123/ijsp.2014-0235>
- Naranjo-Orellana, J., Torres, B. de la C., Cachadiña, E. S., de Hoyo, M., & Cobo, S. D. (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. <https://doi.org/10.1123/ijsp.2014-0235>
- Navarro-Lomas, G., Alejandro De-La-O, Jurado-Fasoli, L., Castillo, M. J., Femia, P., & Amaro-Gahete, F. J. (2020). Assessment of autonomous nerve

- system through non-linear heart rate variability outcomes in sedentary healthy adults. *PeerJ*, 8. <https://doi.org/10.7717/peerj.10178>
- Navarro-Lomas, G., Dote-Montero, M., Alcantara, J. M., Plaza-Florido, A., Castillo, M. J., & Amaro-Gahete, F. J. (2022). Different exercise training modalities similarly improve Heart Rate Variability in sedentary middle-aged adults: The FIT-AGEING randomized controlled trial. *European Journal of Applied Physiology*, *In press*.
- Pavlov, V. A., & Tracey, K. J. (2005). The cholinergic anti-inflammatory pathway. *Brain, Behavior, and Immunity*, 19(6), 493–499. <https://doi.org/10.1016/j.bbi.2005.03.015>
- Piskorski, J., & Guzik, P. (2005). Filtering Poincaré plots. *Computational Methods in Science and Technology*, 11(1), 39–48. <https://doi.org/10.12921/cmst.2005.11.01.39-48>
- Pittaras, A., & Kheirbek, R. E. (2013). Heart Rate at Rest, Exercise Capacity, and Mortality Risk in Veterans Obesity View project Exercise-Lipids View project. *The American Journal of Cardiology*, 112, 1605–1609. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2013.07.042>
- Plaza-Florido, A., Alcantara, J. M. A., Migueles, J. H., Amaro-Gahete, F. J., Acosta, F. M., Mora-Gonzalez, J., Sacha, J., & Ortega, F. B. (2020). Inter- and intra-researcher reproducibility of heart rate variability parameters in three human cohorts. *Scientific Reports*, 10(1). <https://doi.org/10.1038/S41598-020-68197-7>
- Plaza-Florido, A., Migueles, J. H., Mora-Gonzalez, J., Molina-Garcia, P., Rodriguez-Ayllon, M., Cadenas-Sanchez, C., Esteban-Cornejo, I., Navarrete, S., Maria Lozano, R., Michels, N., Sacha, J., & Ortega, F. B. (2019). The Role of Heart Rate on the Associations Between Body Composition and Heart Rate Variability in Children With Overweight/Obesity: The ActiveBrains Project. *Frontiers in Physiology*, 10(JUL). <https://doi.org/10.3389/FPHYS.2019.00895>
- Plaza-Florido, A., Migueles, J. H., Sacha, J., & Ortega, F. B. (2019). The role of heart rate in the assessment of cardiac autonomic modulation with heart rate variability. *Clinical Research in Cardiology: Official Journal of the German Cardiac Society*, 108(12), 1408–1409. <https://doi.org/10.1007/S00392-019-01486-Y>
- Plaza-Florido, A., Sacha, J., & Alcantara, J. M. (2021). Short-term heart rate variability in resting conditions: methodological considerations. *Kardiologia Polska (Polish Heart Journal)*, 79(7–8), 745–755. <https://doi.org/10.33963/KP.A2021.0054>
- Poli, A., Marangoni, F., Avogaro, A., Barba, G., Bellentani, S., Bucci, M., Cambieri, R., Catapano, A. L., Costanzo, S., Cricelli, C., de Gaetano, G., di Castelnuovo, A., Faggiano, P., Fattirolli, F., Fontana, L., Forlani, G., Frattini, S., Giacco, R., la Vecchia, C., ... Visioli, F. (2013). Moderate alcohol use and health: A consensus document. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 23(6), 487–504. <https://doi.org/10.1016/J.NUMECD.2013.02.007>
- Poli, A., Marangoni, F., Avogaro, A., Barba, G., Bellentani, S., Bucci, M., Cambieri, R., Catapano, A. L., Costanzo, S., Cricelli, C., de Gaetano, G., Di Castelnuovo, A., Faggiano, P., Fattirolli, F., Fontana, L., Forlani, G., Frattini, S., Giacco, R., La Vecchia, C., ... Visioli, F. (2013). Moderate alcohol use and health: A

REFERENCIAS

- consensus document. In *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases* (Vol. 23, Issue 6, pp. 487–504). Elsevier.
<https://doi.org/10.1016/j.numecd.2013.02.007>
- Pontiroli, A. E., Pizzocri, P., Koprivec, D., Vedani, P., Marchi, M., Arcelloni, C., Paroni, R., Esposito, K., & Giugliano, D. (2004). Body weight and glucose metabolism have a different effect on circulating levels of ICAM-1, E-selectin, and endothelin-1 in humans. *European Journal of Endocrinology*, *150*(2), 195–200. <https://doi.org/10.1530/EJE.0.1500195>
- Quintana, D. S., Guastella, A. J., Mcgregor, I. S., Hickie, I. B., & Kemp, A. H. (2013). Moderate alcohol intake is related to increased heart rate variability in young adults: Implications for health and well-being. *Psychophysiology*, *50*(12), 1202–1208. <https://doi.org/10.1111/psyp.12134>
- Ralevski, E., Petrakis, I., & Altemus, M. (2019). Heart rate variability in alcohol use: A review. In *Pharmacology Biochemistry and Behavior* (Vol. 176, pp. 83–92). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2018.12.003>
- Ramírez-Vélez, R., Tordecilla-Sanders, A., Téllez-T, L. A., Camelo-Prieto, D., Hernández-Quinonez, P. A., Correa-Bautista, J. E., Garcia-Hermoso, A., Ramírez-Campillo, R., & Izquierdo, M. (2020). Effect of Moderate- Versus High-Intensity Interval Exercise Training on Heart Rate Variability Parameters in Inactive Latin-American Adults: A Randomized Clinical Trial. *Journal of Strength and Conditioning Research*, *34*(12), 3403–3415. <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000001833>
- Ricci, P. A., di Thommazo-Luporini, L., Jürgensen, S. P., André, L. D., Haddad, G. F., Arena, R., & Borghi-Silva, A. (2020). Effects of Whole-Body Electromyostimulation Associated with Dynamic Exercise on Functional Capacity and Heart Rate Variability After Bariatric Surgery: a Randomized, Double-Blind, and Sham-Controlled Trial. *Obesity Surgery*, *30*(10), 3862–3871. <https://doi.org/10.1007/s11695-020-04724-9>
- Sanchez-Delgado, G., Martinez-Tellez, B., Olza, J., Aguilera, C. M., Labayen, I., Ortega, F. B., Chillón, P., Fernandez-Reguera, C., Alcantara, J. M. A., Martinez-Avila, W. D., Muñoz-Hernandez, V., Acosta, F. M., Prados-Ruiz, J., Amaro-Gahete, F. J., Hidalgo-Garcia, L., Rodriguez, L., Ruiz, Y. A. K., Ramirez-Navarro, A., Muros-de Fuentes, M. A., ... Ruiz, J. R. (2015). Activating brown adipose tissue through exercise (ACTIBATE) in young adults: Rationale, design and methodology. *Contemporary Clinical Trials*, *45*, 416–425. <https://doi.org/10.1016/J.CCT.2015.11.004>
- Schroeder, E. B., Whitsel, E. A., Evans, G. W., Prineas, R. J., Chambless, L. E., & Heiss, G. (2004). Repeatability of heart rate variability measures. *Journal of Electrocardiology*, *37*(3), 163–172. <https://doi.org/10.1016/J.JELECTROCARD.2004.04.004>
- Schulz, K. F., & Grimes, D. A. (2002). Generation of allocation sequences in randomised trials: chance, not choice. *The Lancet*, *359*(9305), 515–519. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(02\)07683-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(02)07683-3)
- Shaffer, F., & Ginsberg, J. P. (2017). An Overview of Heart Rate Variability Metrics and Norms. *Frontiers in Public Health*, *5*, 258. <https://doi.org/10.3389/fpubh.2017.00258>

- Shaffer, F., McCraty, R., & Zerr, C. L. (2014). A healthy heart is not a metronome: an integrative review of the heart's anatomy and heart rate variability. *Frontiers in Psychology, 5*. <https://doi.org/10.3389/FPSYG.2014.01040>
- Spaak, J., Tomlinson, G., McGowan, C. L., Soleas, G. J., Morris, B. L., Picton, P., Notarius, C. F., & Floras, J. S. (2010). Dose-related effects of red wine and alcohol on heart rate variability. *American Journal of Physiology. Heart and Circulatory Physiology, 298*(6). <https://doi.org/10.1152/AJPHEART.00700.2009>
- Stein, P. K., & Reddy, A. (2005). Non-Linear Heart Rate Variability and Risk Stratification in Cardiovascular Disease. *Indian Pacing and Electrophysiology Journal, 5*(3), 210. [/pmc/articles/PMC1431594/](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1431594/)
- Sullivan, G. M., & Feinn, R. (2012). Using Effect Size—or Why the P Value Is Not Enough. *Journal of Graduate Medical Education, 4*(3), 279–282. <https://doi.org/10.4300/JGME-D-12-00156.1>
- Sztajzel, J. (2004). Heart rate variability: a noninvasive electrocardiographic method to measure the autonomic nervous system. *Swiss Medical Weekly, 134*(35–36), 514–522. <https://doi.org/2004/35/smw-10321>
- Tarvainen, M. P., Niskanen, J. P., Lipponen, J. A., Ranta-aho, P. O., & Karjalainen, P. A. (2014). Kubios HRV - Heart rate variability analysis software. *Computer Methods and Programs in Biomedicine, 113*(1), 210–220. <https://doi.org/10.1016/j.cmpb.2013.07.024>
- Task force of the European Society of Cardiology and the North American Society for Pacing and Electrophysiology. (1996). Heart rate variability: standards of measurement, physiological interpretation and clinical use. *Circulation, 93*(5), 1043–1065. <https://air.unimi.it/handle/2434/188038>
- Tayel, M. B., & AlSaba, E. I. (2015). Poincaré plot for heart rate variability. *Journal of Biomedical and Biological Engineering, 9*(9), 708–711. <https://publications.waset.org/10002615/poincare-plot-for-heart-rate-variability>
- Thayer, J. F., Yamamoto, S. S., & Brosschot, J. F. (2010). The relationship of autonomic imbalance, heart rate variability and cardiovascular disease risk factors. *International Journal of Cardiology, 141*(2), 122–131. <https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2009.09.543>
- Tian, Y., Huang, C., He, Z., Hong, P., & Zhao, J. (2015). *Autonomic function responses to training: Correlation with body composition changes*. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2015.07.038>
- Tornberg, J., Ikäheimo, T. M., Kiviniemi, A., Pyky, R., Hautala, A., Mäntysaari, M., Jämsä, T., & Korpelainen, R. (2019). Physical activity is associated with cardiac autonomic function in adolescent men. *PLOS ONE, 14*(9), e0222121. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0222121>
- Tortora, G., & Derrickson, B. (2018). *Principles of anatomy and physiology*. John Wiley & Sons. [https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=aSaVDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR4&dq=Tortora,+G.+J.,+%26+Derrickson,+B.+H.+\(2018\).+Principles+of+anatomy+and+physiology.+John+Wiley+%26+Sons&ots=le4lVR3ztM&sig=vBlw4mfHjutPNN5U95XwY1YIKXs](https://books.google.com/books?hl=es&lr=&id=aSaVDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PR4&dq=Tortora,+G.+J.,+%26+Derrickson,+B.+H.+(2018).+Principles+of+anatomy+and+physiology.+John+Wiley+%26+Sons&ots=le4lVR3ztM&sig=vBlw4mfHjutPNN5U95XwY1YIKXs)
- Tsuji, H., Larson, M. G., Venditti, F. J., Manders, E. S., Evans, J. C., Feldman, C. L., & Levy, D. (1996). Impact of reduced heart rate variability on risk for

REFERENCIAS

- cardiac events: The Framingham Heart Study. *Circulation*, 94(11), 2850–2855. <https://doi.org/10.1161/01.CIR.94.11.2850>
- Tulppo, M. P., Hautala, A. J., Mäkikallio, T. H., Laukkanen, R. T., Nissilä, S., Hughson, R. L., & Huikuri, H. V. (2003). Effects of aerobic training on heart rate dynamics in sedentary subjects. *Journal of Applied Physiology*, 95(1), 364–372. <https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00751.2002>
- Tulppo, M. P., Mäkikallio, T. H., Takala, T. E., Seppanen, T., & Huikuri, H. V. (1996). Quantitative beat-to-beat analysis of heart rate dynamics during exercise. *American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology*, 271(1), H244–H252. <https://doi.org/10.1152/ajpheart.1996.271.1.H244>
- Ulbrich, A. Z., Angarten, V. G., Schmitt Netto, A., Sties, S. W., Bündchen, D. C., Mara, L. S. de, Cornelissen, V. A., & Carvalho, T. de. (2016). Comparative effects of high intensity interval training versus moderate intensity continuous training on quality of life in patients with heart failure: Study protocol for a randomized controlled trial. *Clinical Trials and Regulatory Science in Cardiology*, 13, 21–28. <https://doi.org/10.1016/J.CTRSC.2015.11.005>
- Valentini, M., & Parati, G. (2009). Variables Influencing Heart Rate. *Progress in Cardiovascular Diseases*, 52(1), 11–19. <https://doi.org/10.1016/j.pcad.2009.05.004>
- Vasconcellos, F. V. A., Seabra, A., Cunha, F. A., Montenegro, R. A., Bouskela, E., & Farinatti, P. (2015). Heart rate variability assessment with fingertip photoplethysmography and polar RS800cx as compared with electrocardiography in obese adolescents. *Blood Pressure Monitoring*, 20(6), 351–360. <https://doi.org/10.1097/MBP.0000000000000143>
- Wessel, N., Riedl, M., & Kurths, J. (2009). Is the normal heart rate “chaotic” due to respiration? *Chaos: An Interdisciplinary Journal of Nonlinear Science*, 19(2), 028508. <https://doi.org/10.1063/1.3133128>
- WHR. (2010). Global recommendations on physical activity for health. World Health Organization Publications: Geneva, Switzerland, 2010. In *Geneva: WHO Library Cataloguing-in-Publication*. World Health Organization Publications: Geneva, Switzerland. <http://scholar.google.com/scholar?hl=en&btnG=Search&q=intitle:Recomendaciones+Mundiales+sobre+actividad+Fisica+para+la+salud#4>
- Williams, D. W. P., Jarczok, M. N., Ellis, R. J., Hillecke, T. K., Thayer, J. F., & Koenig, J. (2017). Two-week test–retest reliability of the Polar® RS800CX™ to record heart rate variability. *Clinical Physiology and Functional Imaging*, 37(6), 776–781. <https://doi.org/10.1111/CPF.12321>
- Wong, A., & Figueroa, A. (2021). Effects of Acute Stretching Exercise and Training on Heart Rate Variability: A Review. In *Journal of strength and conditioning research* (Vol. 35, Issue 5, pp. 1459–1466). NLM (Medline). <https://doi.org/10.1519/JSC.0000000000003084>
- Woo, M. A., Stevenson, W. G., Moser, D. K., Trelease, R. B., & Harper, R. M. (1992). Patterns of beat-to-beat heart rate variability in advanced heart failure. *American Heart Journal*, 123(3), 704–710. [https://doi.org/10.1016/0002-8703\(92\)90510-3](https://doi.org/10.1016/0002-8703(92)90510-3)
- World Medical Association. (2013). Declaration of Helsinki: ethical principles for medical research involving human subjects. *Jamanetwork.Com*. <https://jamanetwork.com/journals/jama/article-abstract/1760318>

- World Medical Association Declaration of Helsinki. (2013). *JAMA*, *310*(20), 2191. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.281053>
- Zulfiqar, U., Jurivich, D. A., Gao, W., & Singer, D. H. (2010). Relation of High Heart Rate Variability to Healthy Longevity. *American Journal of Cardiology*, *105*(8), 1181–1185. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2009.12.022>

CURRICULUM VITAE

CURRÍCULUM VITAE

DATOS PERSONALES

Nombre	Ginés Navarro Lomas
DNI	45602364B
Fecha de nacimiento	19/12/1995
Correo electrónico	ginesnl1@gmail.com ;
Posición actual	Funcionario Interino. Técnico en Actividades Deportivas (Diputación de Almería)

FORMACIÓN ACADÉMICA

2013-2017	Grado en Ciencias de la Actividad Física y el Deporte. Universidad de Granada
2017-2018	Máster Universitario en Investigación en Actividad Física y del Deporte Universidad de Granada
2018-2019	Máster Universitario en Profesorado de Enseñanza Secundaria Obligatoria y Bachillerato, Formación Profesional y Enseñanzas de Idiomas Especialidad Educación Física Universidad de Granada
2020-Actualidad	Programa de Doctorado en Biomedicina. Universidad de Granada

FORMACIÓN INVESTIGADORA Y PROFESIONAL

Publicaciones científicas**Publicaciones incluidas en la tesis doctoral**

1. **Navarro-Lomas, G**, Jurado-Fasoli, L, Castillo, MJ, Femia, P, & Amaro-Gahete, FJ (2020). Assessment of autonomous nerve system through non-linear heart rate variability outcomes in sedentary healthy adults. PeerJ, 8, e10178. **Q2** (IF: 3.06).
2. **Navarro-Lomas, G**, Dote-Montero, M., Alcántara, JMA, Plaza-Florido, A., Castillo, M.J. & Amaro-Gahete, FJ (2022). Different exercise training modalities similarly improve Heart Rate Variability in sedentary middle-aged adults: The FIT-AGEING randomized controlled trial. European Journal of Applied Physiology. **Q2** (IF: 3.34).
3. **Navarro-Lomas, G**, Dote-Montero, M., Plaza-Florido, A., Castillo, M.J. & Amaro-Gahete, FJ (2022). Influence of moderate alcohol consumption on Heart Rate Variability in response to a 10-week high-intensity interval training program in healthy young adults: The BEER-HIIT study. **Bajo revisión**

Publicaciones científicas relacionadas, pero no incluidas en la tesis doctoral

1. Amaro-Gahete FJ, De-la-O A, Jurado-Fasoli L, Espuch-Oliver A, Robles-Gonzalez L, **Navarro-Lomas G**, de Haro T, Femia P, Castillo MJ, Gutierrez A. Exercise training as S-Klotho protein stimulator in sedentary healthy adults: Rationale, design, and methodology. Contemp. Clin. Trials Commun. 2018;11:10–19. **Q3** (IF: 2.261)

Publicaciones científicas pendientes de publicación y relacionadas con la tesis doctoral

1. **Navarro-Lomas, G**, Plaza-Florido, A., Castillo, M.J. & Amaro-Gahete, FJ (2022). Cross-sectional and longitudinal associations from S-Klotho

CURRÍCULUM VITAE

plasma levels with heart rate and heart rate variability in sedentary middle-aged adults: The FIT-AGEING Study. **Bajo revisión**

2. **Navarro-Lomas, G**, Plaza-Florido, A., Castillo, M.J. & Amaro-Gahete, FJ (2022). Fit-Fat Index is better associated with Heart Rate Variability compared to fitness and fatness alone as an indicator of human´ health. **Bajo revisión**

Contribuciones en congresos

1. *“Assessment of autonomous nerve system through non-linear heart rate variability outcomes in sedentary healthy adults”*. Póster. VI Simposio EXERNET. Pamplona. 2018.
2. *“La lacra del dopaje en el deporte y como combatirlo. El pasaporte biológico”*. IV Congreso de estudiantes de investigación Biosanitaria. Granada. 2018.
3. *“La lacra del dopaje en el deporte y como combatirlo. El pasaporte biológico”*. IV Congreso de estudiantes de investigación Biosanitaria. Granada. 2019.

Proyectos de investigación

1. Proyecto FIT-AGEING: Role of physical exercise on the S-Klotho protein regulation and other ageing biomarkers in healthy adults. IP: Manuel Castillo Garzón.
2. Proyecto BEER-HIIT: Beer or Ethanol Effects on the response to High Intensity Interval Training: A controlled study in healthy individuals. IP: Manuel Castillo Garzón.

Cursos de formación

1. Ciclo Indoor. I Edición. 20 horas. Fundación general Universidad de Granada – Empresa (2014).

2. Curso Universitario de Especialización en Nutrición Deportiva. 200 horas. Euroinnova Formación (2015).
3. Curso Universitario de Especialización en Quiromasaje. 200 horas. Euroinnova Formación (2016).
4. Curso de Postgrado Las Tabletas Digitales y los Smartphones como recurso educativo del aula. 150 horas. Universidad Nacional de Educación a Distancia (2019).
5. Curso de Postgrado Creación de Contenidos Digitales Educativos. 150 horas. Universidad Nacional de Educación a Distancia (2019).
6. Curso Psicopedagogía de la Inteligencia Emocional. 150 horas. Universidad Antonio de Nebrija (2019).
7. Curso Organización de Eventos y Actividades Deportivas. Herramientas de gestión y novedades legislativas. 18 horas. Diputación de Almería (2020).
8. Curso Experto en Planificación en Organizaciones Deportivas. 240 horas. Euroinnova formación (2020).
9. Curso Planificación de las Instalaciones Deportivas. 8 horas. Junta de Andalucía – Instituto Andaluz del Deporte (2021).
10. Curso Gestión Ejecutiva Deportiva. 72 horas. Junta de Andalucía – Instituto Andaluz del Deporte (2021).
11. Curso Planes de Mantenimiento y Seguridad en Instalaciones Deportivas. 18 horas. Diputación de Almería (2021).
12. Curso Accesibilidad Universal de las Instalaciones Deportivas. 10 horas. Junta de Andalucía – Instituto Andaluz del Deporte (2021).
13. Curso Novedades en la Publicidad Deportiva a través de las Redes Sociales. 2.5 horas. Junta de Andalucía – Instituto Andaluz del Deporte (2021).
14. Curso Colaboración Público – Privada en la Gestión Deportiva. 18 horas. Diputación de Almería (2021).
15. Curso El Reto de los Eventos Deportivos No Profesionales. 10 horas. Junta de Andalucía – Instituto Andaluz del Deporte (2022).

CURRÍCULUM VITAE

16. Curso El Impacto Socioeconómico de los Eventos Deportivos. 18 horas. Diputación de Almería (2022).
17. Curso Políticas Públicas de Deporte, Educación y Salud. 10 horas. Junta de Andalucía – Instituto Andaluz del Deporte (2022).

AGRADECIMIENTOS

AGRADECIMIENTOS

Llegando al final de esta tesis doctoral es obligatorio agradecer a todas las personas que directa, o indirectamente, han facilitado su desarrollo.

En primer lugar, al sistema educativo público español, desde las primeras etapas en mi pueblo, Vélez Rubio, hasta estos últimos años en la Universidad de Granada, permitiéndome completar todas las etapas formativas hasta llegar al día de hoy.

En todo ese proceso, es imprescindible agradecer a todas las personas que han supuesto un apoyo fundamental, tanto en el proceso formativo como en el resto de desafíos afrontados en estos años: amigos, colegas del mundo del deporte, compañeros ... pero, sobre todo, mi familia: Ginés, Yeye y David, por ser el mejor ejemplo de vida y superación que he podido tener; y Raquel, por el apoyo y sostén diario para seguir cumpliendo metas juntos.

Avanzando en este apartado, me gustaría, en primer lugar, hacer referencia a todos los participantes de los proyectos FIT-AGEING y BEER-HIIT, por su compromiso para con sus respectivos proyectos. Por otro lado, al grupo de investigación EFFECTS 262, incluyendo a Manuel Castillo, Ángel Gutiérrez, Alejandro de la O, Lucas Jurado, Sol Monchón, Manuel Dote, Cristina Molina... por su acogida desde el primer día y su labor y profesionalidad, fundamentales para el adecuado desarrollo de esta tesis doctoral; y en este sentido, además de a ellos, me gustaría agradecer al resto de colaboradores (Pedro Femia, Abel Plaza y Juanma Alcántara), por todas las aportaciones, ideas y conocimientos que hemos compartido y que han sido cruciales para conseguir la publicación de los estudios que conforman esta tesis doctoral.

Y finalmente, gracias a ti, Fran, porque nunca habría llegado a este lugar sin tu ayuda en los últimos 5 años. Gracias por tu trabajo, dedicación, consejos, disponibilidad y, sobre todo, por el tiempo que me has dedicado y que es lo más valioso que tenemos.

Gracias.

