

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 675 942**

51 Int. Cl.:

A61K 31/716 (2006.01)

A61P 11/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.09.2008** **E 16165948 (7)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **09.05.2018** **EP 3072518**

54 Título: **Tratamiento con B-glucano de síntomas de infección del tracto respiratorio superior y del bienestar psicológico**

30 Prioridad:

27.09.2007 US 975734 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:

13.07.2018

73 Titular/es:

BIOThERA, INC. (100.0%)
3388 Mike Collins Drive
Eagan, MN 55121, US

72 Inventor/es:

COX, DONALD y
TALBOT, STEVEN

74 Agente/Representante:

CARPINTERO LÓPEZ, Mario

ES 2 675 942 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Tratamiento con B-glucano de síntomas de infección del tracto respiratorio superior y del bienestar psicológico

Antecedentes de la invención

Esta solicitud reivindica el beneficio para los Estados Unidos n.º de Serie 60/975.734 titulada LA UTILIZACIÓN DEL β-GLUCANO EN LOS SÍNTOMAS DE LA INFECCIÓN DEL TRACTO RESPIRATORIO SUPERIOR Y EL BIENESTAR PSICOLÓGICO EN ATLETAS DE MARATÓN, presentada el 27 de septiembre de 2007.

La presente invención se refiere a composiciones, que incluyen al beta-glucano para el tratamiento de los síntomas de la infección del tracto respiratorio superior y el aumento del bienestar psicológico.

Los sucesos físicos y psicológicos provocan estrés al sistema inmunitario del ser humano (1). Existe evidencia significativa de que la actividad física excesiva como la que experimentan los atletas de élite conduce a un aumento de las infecciones del tracto respiratorio superior (ITRS) (1, 2). Después del sobreesfuerzo en el entrenamiento, incluso el ejercicio moderadamente intenso puede conducir a un aumento de las ITRS. Sin embargo, el ejercicio moderado frecuente ha demostrado reducir la incidencia de las ITRS (3, 4). Los estudios disponibles sugieren que el ejercicio moderado reduce el riesgo de ITRS, pero que el ejercicio intenso o el entrenamiento de élite aumentan este riesgo (5). Nieman (5) creó un modelo que respalda los beneficios del ejercicio moderado y el impacto negativo de las ITRS del ejercicio intenso. El estrés asociado con el ejercicio intenso es estrés físico que da como resultado un desafío inmunitario medible con reducciones de componentes clave del sistema inmunitario tales como neutrófilos, linfocitos citotóxicos naturales (linfocitos NK), linfocitos T y linfocitos B (6, 7, 8). El efecto neto de un desafío inmunitario en curso es un sistema inmunitario debilitado que a menudo da como resultado infecciones respiratorias superiores (ITRS).

El estrés psicológico desafía y puede debilitar el sistema inmunitario de la misma manera que el estrés físico (9, 10). El estrés psicológico puede conducir al aumento de las ITRS y de otras patologías (11). Numerosos autores han estudiado el impacto sobre la salud de las situaciones estresantes que incluyen estrés académico (12, 13, 14), la respuesta de un miembro de la familia a la enfermedad (15) y el impacto de una situación social (16). La medición del efecto del estrés psicológico sobre la salud del ser humano se ha realizado utilizando una diversidad de metodologías. Los estudios más recientes se han centrado en la reacción de los componentes del sistema inmunitario al estrés. Los estudios del estrés psicológico han demostrado que el estrés conduce a cambios similares en los indicadores del funcionamiento del sistema inmunitario, al igual que con el estrés físico. Se ha observado que las reducciones de las poblaciones de células inmunitarias, la producción de anticuerpos reducida y la respuesta de citocinas alterada se deben al estrés psicológico (17, 18). Dado que el estrés es una parte común e integral de la vida cotidiana, un objetivo clave del estudio del estrés psicológico y de la reacción inmunitaria es desarrollar una comprensión de cómo el estrés impacta en la salud del ser humano.

Puede ser posible hacer frente al estrés físico y psicológico utilizando una diversidad de técnicas de intervención (19). Una de tales intervenciones es con la complementación selectiva de la dieta con compuestos moduladores inmunitarios (19, 20). El presente estudio comunica el efecto de la utilización de un compuesto potenciador inmunitario, el beta-glucano, sobre el bienestar físico y psicológico de corredores de maratón que participaron en la Maratón de Carlsbad de 2007. El beta-glucano es un producto inmunosanitario que se ha investigado bien y tiene un mecanismo de acciones progresivas (21). El estudio comunicado en el presente documento empleó una serie de cuestionarios de auto evaluación del sujeto que abordaban la salud física (énfasis en el estado de salud en conjunto y los síntomas de ITRS). Además de la evaluación de la salud física de los sujetos, se realizó una evaluación psicológica conocida como Perfil de Estados de Ánimo (POMS: sigla del inglés *Profile of Mood States*) para evaluar cómo los sujetos respondían al estrés y a la intervención con el beta-glucano para respaldar la salud inmunitaria. Un objetivo clave de estos estudios fue explorar cómo el beta-glucano afectaba diversos estados anímicos y sensaciones asociados con la salud en su conjunto. El Perfil de Estados de Ánimo es una prueba psicométrica validada que emplea un criterio de 65 adjetivos que se clasifican en 6 estados de ánimo principales. El procedimiento de perfil POMS se ha empleado en más de 2900 estudios sanitarios (22, 23).

Sumario de la invención

La administración de beta-glucano a sujetos moderada a altamente estresados dio como resultado la disminución de los síntomas de las infecciones del tracto respiratorio superior y el aumento del bienestar psicológico. El efecto es visto en sujetos estresados física y psicológicamente.

Breve descripción de los dibujos

La FIG. 1 es un gráfico que muestra el número total de sujetos que comunican alguno de los síntomas de infección del tracto respiratorio superior preseleccionados.

La FIG. 2 es un gráfico que representa las puntuaciones de la respuesta de los sujetos a una pregunta sobre la eficacia del complemento de 2 y 4 semanas.

La FIG. 3 es un gráfico que representa las puntuaciones de la respuesta de los sujetos a una pregunta sobre el estado de salud de 2 y 4 semanas.

La FIG. 4 es un gráfico que representa los datos analizados para factores del POMS específicos calculados a partir de Pliego del Puntuación del POMS.

La FIG. 5 es un gráfico que representa el Estado de Ánimo Global.

La FIG. 6 son gráficos que representan los datos analizados para los factores del POMS específicos calculados a partir del Pliego del Puntuación del POMS.

La FIG. 7 es un gráfico que representa el Estado de Ánimo Global.

Descripción detallada de la invención

Estos estudios se llevaron a cabo con WELLMUNE WGP, el cual es un $\beta(1,3/1,6)$ -glucano obtenido de levadura.

En este estudio, en el primer estudio participaron setenta y cinco corredores de maratón. Se incorporaron en este estudio hombres (35) y mujeres (40) sanos de edades que variaban de 18-53 (la edad media fue de 36 ± 9 años). La incorporación tuvo lugar en la inscripción para la Maratón de Carlsbad el 20 de enero de 2007, instalando una mesa de incorporación en la zona de inscripción de corredores. La carrera de maratón tuvo lugar el 21 de enero de 2007. Los criterios de inclusión incluyeron adultos asintomáticos sanos participantes de la maratón y un formulario de consentimiento con total conocimiento de causa cumplimentado. Los criterios de exclusión incluían aquellos con síntomas de ITRS en ese momento, lesión, incapacidad para completar todos los cuestionarios y el uso en ese momento de antibióticos o de otros productos de respaldo "inmunitario".

Para el presente estudio se empleó un diseño controlado por placebo, con doble ocultación. Cada sujeto se evaluó por los criterios de inclusión y exclusión y se incluyó en el estudio de satisfacía los criterios apropiados. El día 1, los sujetos se asignaron de forma aleatoria a cualquiera de los grupos de beta-glucano (250, 500 mg) o a uno de placebo, inmediatamente después de incorporarse al estudio. Las cápsulas de placebo fueron de 250 mg de harina de arroz, las cápsulas de beta-glucano fueron de 250 mg de beta 1,3/1,6 glucano aislado a partir de la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. El primer día del estudio los participantes completaron un POMS de medida inicial y un cuestionario de registro sanitario. La dosificación fue de placebo, 250 mg de beta-glucano por día o 500 mg de beta-glucano por día durante cuatro semanas. Se instruyó a los sujetos para auto administrarse la dosis asignada una vez al día por la mañana por lo menos $\frac{1}{2}$ antes del desayuno durante un periodo de cuatro semanas. Después del periodo de administración de 2 y 4 semanas del tratamiento, los sujetos rellenaron la prueba POMS psicométrica y un cuestionario de registro de estilo de salud.

Se empleó el cuestionario del Perfil de Estados de Ánimo para medir seis factores psicológicos principales. El perfil POMS utiliza escalas de intensidad basadas en 65 adjetivos que miden los seis factores de estados anímicos tensión, depresión, cólera, fatiga, cólera y confusión (23). Las respuestas y puntuaciones de adjetivos se puntuaron en una escala de 0-4 (0 = en absoluto, 4 = de forma extrema). Las 65 respuestas se categorizan por factor de estado anímico, se tabulan, se puntúan y se analizan. El resultado del cuestionario del POMS es una evaluación de los estados anímicos positivos y negativos de cada sujeto en el intervalo inicial, de 2 semanas y de 4 semanas del estudio. Combinando las puntuaciones de los seis factores de estados anímicos creó un Estado de Ánimo Global. El dato se comunica para cada estado anímico y el Estado de Ánimo Global.

Los sujetos completaron un cuestionario de salud física en el periodo de evaluación inicial, de 2 semanas y de 4 semanas. El registro sanitario contenía preguntas relacionadas con el estado de salud en su conjunto, un registro sanitario diario y síntomas de ITRS específicos. Los síntomas relacionados con las ITRS medidos incluían congestión nasal, rinorrea, dolor de garganta, estornudos, tos, fatiga, cefalea, malestar general y dolores corporales. Se pidió a los sujetos que puntuasen su salud durante la complementación utilizando una escala hedónica típica (1=peor, 10=mejor), y el estado de salud en su conjunto utilizando una escala similar.

Todos los cuestionarios se enviaron por correo a un único centro y se transfirieron a una base de datos central. Los datos se identificaron mediante un número de sujeto. Se examinó la exactitud y la completitud de los datos. Utilizando pruebas estadísticas paramétricas convencionales (pruebas t para muestras relacionadas) se analizaron los datos tabulados. Se evaluó la significación con un nivel alfa de dos colas ajustado a 0,05.

La carrera de maratón indujo un estrés físico que desafió al sistema inmunitario de los sujetos y un resultado del diseño del estudio fue la evaluación satisfactoria de esta forma de desafío de la salud como un estudio de un caso de la vida real, que se cuantificó utilizando el diseño de cuestionario. Durante el transcurso del periodo de comunicación de cuatro semanas del presente estudio, los sujetos en los grupos de tratamiento (250 y 500 mg de beta-glucano por día) comunicaron menos síntomas de ITRS, mejor salud en conjunto y una evaluación psicológica más positiva a base de la encuesta POMS.

El estudio tenía un total de 75 sujetos (35 hombres, 40 mujeres; edad media 36 años, intervalo 18-53 años) que completaron y devolvieron todos los cuestionarios. Los corredores de maratón en los dos grupos de tratamiento tenían mejoras estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en las mediciones de salud física que incluyen los síntomas de ITRS comunicados y el estado de salud en conjunto. La Figura 1 muestra los datos para los sujetos que comunicaron los síntomas de ITRS a las dos y cuatro semanas. Hubo una disminución significativa ($p < 0,05$) de los síntomas de ITRS en los grupos de tratamiento con beta-glucano. En el intervalo de dos semanas el 68 % de los sujetos en el grupo de placebo comunicaron síntomas asociados con ITRF, pero solo el 32 % en el grupo de

tratamiento con beta-glucano 250 mg y el 24 % en el grupo de 500 mg de beta-glucano comunicaron síntomas similares de ITRS. Solo el 8 % de sujetos en ambos grupos de tratamiento comunicó infecciones del tracto respiratorio superior en la semana 4 contra el 24 % de sujetos con placebo. Hubo once síntomas de ITRS evaluados utilizando un formato de casilla de verificación con evaluación de la frecuencia (variando desde sin síntomas a múltiples síntomas por día). Los síntomas de ITRS más comunes comunicados por los sujetos fueron dolor de garganta, congestión o rinorrea y tos. Otros síntomas no se comunicaron con frecuencia o no se comunicaron en absoluto. Además del formulario de casilla de verificación de síntomas, se pidió a los sujetos que registraran diversos códigos de salud en un registro diario utilizando un sistema numérico que variaba desde sin problemas de salud hasta síntomas específicos y que calificaba la gravedad de los síntomas (A= leve, B= moderado y C=grave).

En general, los sujetos completaron el formulario de casilla de verificación de síntomas de ITRS, pero hubo un mal cumplimiento para cumplimentar el registro sanitario diario. Por lo tanto, se analizaron los datos de los síntomas de ITRS en conjunto, pero no hubo un análisis de las puntuaciones de síntomas individuales.

Durante el transcurso del régimen de complemento se pidió a los sujetos que completasen un Registro de Percepción de Salud. Se pidió a los sujetos que calificaran cómo el complemento (beta-glucano o placebo) afectaba a su salud y se les pidió que comparasen su estado de salud en ese momento con su historia clínica típica. Cuando se les preguntó cómo estaba afectando su salud el régimen de complemento, los sujetos que tomaban 250 mg de beta-glucano comunicaron el 38 % de puntuaciones más altas en la encuesta de evaluación de la salud; los sujetos a los que se les administraba 500 mg de beta-glucano comunicaron el 58 % de puntuaciones de salud más altas contra el placebo. Al final de cada período de dos semanas (2 y 4 semanas, respectivamente), los sujetos del estudio puntuaron su salud en conjunto en comparación con su estado de salud histórico. Los participantes que tomaban 250 mg de beta-glucano calificaron su salud el 15 % más alto contra el placebo; los sujetos que tomaban 500 mg de beta-glucano por día calificaron su salud el 44 % más alto en comparación a lo normal. Además de las preguntas graduadas, había preguntas que evaluaban el número anual de episodios de enfermedad (por ejemplo en Comparación con hace un Año, ¿usted cree que en general tiene episodios de resfriado común o de gripe? Las opciones eran: menos, aproximadamente los mismos o un mayor número), pero el cumplimiento de estas preguntas fue malo y los datos obtenidos no fueron significativos.

La evaluación POMS de salud psicológica respaldó y reflejó fuertemente la evaluación de la salud física. El análisis de los datos incluyó una evaluación del Estado de Ánimo en la medida inicial (día 0), 2 semanas después de que los sujetos comenzaran a auto administrarse el producto de estudio (placebo 250 mg y 500 mg de beta-glucano) y después de cuatro semanas de la administración del producto de estudio. Como se describe, la encuesta POMS consiste en varias graduaciones basadas en adjetivos. Los Factores de Estado de Ánimo Individuales se evaluaron utilizando escalas de adjetivos específicos. Por ejemplo, el Factor de Tensión se conformó utilizando las respuestas a las escalas de adjetivos 2, 10, 16, 20, 22, 26, 27, 34 y 41 junto con el análisis especificado. Otros Factores del Estado de Ánimo utilizaron las respuestas a otros adjetivos que incluían Depresión (15 adjetivos), Cólera (12 adjetivos), Cólera (8 adjetivos), Fatiga (7 adjetivos) y Confusión (7 adjetivos). Se observaron respuestas de Estado de Ánimo significativas para Confusión (reducida), Fatiga (reducida), Cólera (aumentado) y Tensión (reducida) (Figura 4). Los Factores de Estado de Ánimo no relacionados con la salud física (Depresión y Cólera) en general no eran estadísticamente relevantes. Sin embargo, hubo un período de tiempo del Factor Cólera (después de dos semanas en 500 mg de beta-glucano) que generó una reducción estadísticamente significativa en la Cólera.

Se consideraron relevantes para los corredores de maratón en los grupos de tratamiento las respuestas estadísticamente significativas de cuatro de los seis Estados de Ánimo individuales. Las mejoras observadas incluyeron una reducción en la fatiga del 48 % para la dosis de 250 mg contra el placebo y del 59 % para las dosis diarias de 500 mg de beta-glucano contra el placebo). A lo largo del periodo de estudio de cuatro semanas se observó un aumento del vigor del 22 % (250 mg contra el placebo) y del 30 % (500 mg contra el placebo). Los sujetos comunicaron que se observó una reducción en la tensión del 38 % (250 mg contra el placebo) y del 47 % (500 mg contra el placebo) a lo largo del periodo de estudio de cuatro semanas. Para finalizar, los sujetos comunicaron una reducción de la confusión relacionada con el estrés del 38 % (250 mg contra el placebo) y del 45 % (500 mg contra el placebo) a lo largo del periodo de estudio de cuatro semanas. Las medidas comunes de la alteración del estado anímico que se utilizan en la evaluación POMS (depresión y cólera) no se alteraron mediante la complementación con beta-glucano. El Estado de Ánimo Global, una combinación de los seis factores principales, mejoró en los grupos de tratamiento de 250 y 500 mg/día contra el placebo (Figura 5). El Estado de Ánimo Global mejoró en el 11 % para los sujetos que tomaban la dosis de 250 mg por día contra el placebo y el 13 % para los sujetos que tomaban 500 mg por día contra el placebo.

Se ha demostrado de forma previa que los corredores de maratón y otros atletas cuyas actividades atléticas provocan estrés respiratorio significativo son más susceptibles a las infecciones del tracto respiratorio superior (2, 4, 24). La complementación nutricional es una técnica de intervención que puede modular el estado de salud de estos atletas de alto rendimiento (19). Este estudio demostró que la complementación con beta-glucano, un ingrediente complemento alimenticio disponible de forma comercial, redujo la frecuencia de los síntomas de ITRS y tuvo un impacto psicológico positivo según se definió mediante la evaluación del Perfil de Estados de Ánimo de los sujetos (23). En este estudio se utilizaron cuestionarios de auto evaluación de manera que los sujetos pudieron comunicar de forma eficaz los sucesos relacionados con la salud. Los sujetos del grupo de tratamiento comunicaron menos síntomas de ITRS y un mejor estado de salud en su conjunto. Los síntomas de ITRS que comunicaron los sujetos son los síntomas típicos del resfriado y de gripe y análogos a los síntomas comunicados en otros estudios (4, 9, 24).

En el estudio actual, el sujeto sumó los síntomas de ITRS y no se hizo un intento de cotejar la puntuación de los síntomas.

La utilización de los síntomas de ITRS es una medida objetiva que los sujetos pueden comunicar. Las preguntas del estado de salud emplearon una escala hedónica de 0-10 con 0 = peor y 10 = mejor, para permitir que los sujetos puntuaran su estado de salud. Los resultados del estudio se evaluaron utilizando los datos de ITRS objetivos y comparando el resultado con las preguntas de estado de salud más subjetivas. El análisis y la interpretación de los datos válidos dependen de la validez de los procedimientos utilizados. Durante el transcurso del presente estudio, se emplearon técnicas bien establecidas y clínicamente válidas (encuesta POMS, Síntomas de ITRS) mientras se exploraban técnicas más subjetivas tales como las preguntas del estado de salud.

La enfermedad y el estrés impactan en el sistema inmunitario de modo físico y psicológico (24). Las evaluaciones físicas son comunes y se miden y verifican de forma fácil (3, 4, 6, 24). Debido a que es difícil medir de forma objetiva los estados anímicos y las sensaciones, es necesario utilizar un instrumento de encuesta tal como el POMS que explica diversos factores psicológicos. La metodología POMS se ha utilizado en más de 2.900 estudios (22); por lo tanto, su validez está bien establecida. El instrumento de encuesta emplea escalas basadas en 65 adjetivos que los sujetos puntúan sin conocimiento de cómo se analizará la puntuación de la escala. El instrumento de encuesta POMS evalúa el estado de ánimo global total de los sujetos y proporciona información sobre estados anímicos y sensaciones específicos tales como tensión, depresión, fatiga, vigor, confusión y cólera. El presente estudio evaluó los factores físicos y psicológicos de sujetos sometidos a situaciones estresantes que se había comunicado que conducen a una mayor incidencia de las ITRS (4, 24, 25). En todos los casos, los sujetos con beta-glucano experimentaron una mejor salud física y un estado psicológico mejorado de forma significativa, que incluía sensaciones más positivas, que aquellos en el grupo de placebo.

Los resultados de la encuesta POMS sugieren que los sujetos que ese auto administraban dosis de tratamiento de beta-glucano (250 y 500 mg por día) tenían fatiga reducida en los intervalos de 2 y 4 semanas para los sujetos de la dosis de 500 mg por día; mientras que los sujetos con la dosis de 250 mg por día mostraron una respuesta estadísticamente significativa en el intervalo de 4 semanas. Se observaron resultados análogos para el factor tensión. Esto puede indicar que una mayor dosis del modulador inmunitario potencia rápidamente la salud inmunitaria. Sin embargo, los factores Vigor y Confusión del POMS no siguieron esta tendencia. El vigor aumentó en el intervalo de cuatro semanas para ambos grupos de tratamiento. El factor confusión fue significativo para ambos grupos de tratamiento en los intervalos de 2 y 4 semanas. Por el contrario, los factores cólera y depresión no mostraron significación estadística en el período de comunicación de cuatro semanas (el factor cólera tenía significación en 2 semanas y dosis de 500 mg). La interpretación de los datos es poco complicada cuando se compara con la evaluación de salud física. Es una especulación lógica que los sujetos que experimentaban síntomas de ITRS se "sentían" peor que los sujetos que continuaban sanos. A la inversa, utilizando las técnicas de evaluación física y psicológica, los sujetos que tomaban beta-glucano comunicaron que se "sentían" mejor.

Numerosos estudios publicados y no publicados respaldan las propiedades inmunoestimulantes del beta-glucano administrado por vía oral. La investigación de Vetvicka y col. (26) demostró que el beta-glucano ayudó a prevenir la infección y la muerte por carbunco en ratones infectados con una bacteria de carbunco "armificada". Estudios adicionales apoyan propiedades antibacterianas (27) y antitumorales (28) adicionales. En este estudio, se demostró que el beta-glucano mejora de forma significativa la salud física y los estados anímicos y las sensaciones de los sujetos cuando se los compara con el placebo. Las posibles implicaciones en la atención sanitaria son numerosas y sugieren que el beta-glucano podría complementarse de manera regular. El estrés físico y psicológico y las situaciones estresantes son crecientemente comunes en todos los grupos demográficos en los Estados Unidos; en consecuencia, un entorno físico y de salud mental negativos desafía a las personas de forma diaria. El refuerzo del sistema inmunitario a través del beta-glucano puede tener un efecto apreciable sobre el mantenimiento de la salud y una actitud mental fuerte y positiva. En la investigación comunicada en el presente documento, la complementación diaria con beta-glucano redujo la incidencia de los síntomas asociados con las infecciones del tracto respiratorio superior y mejoró el bienestar psicológico de los participantes.

Además, se está investigando una versión mutada de la cepa de levadura original utilizada para obtener beta-glucano. Esta nueva cepa, en conjunto, tiene un contenido de β -glucano más alto (baja en grasas y proteínas). Se conoce a la cepa de levadura original como cepa n.º 5, y se conoce a la nueva cepa n.º 7. Las investigaciones preliminares indican que la administración de β -glucano purificado a partir de la nueva cepa puede tener eficacia aumentada. Por ejemplo, la gravedad de los síntomas de las ITRS puede reducirse aún más en los sujetos a los que se proporciona beta-glucano obtenido de la nueva cepa sobre los sujetos a los que se les proporciona beta-glucano obtenida de la cepa antigua.

Referencias

1. Nieman, D. C., J. C. Ahle, D. A. Henson, y col. 1995. Indomethacin does not alter the natural killer cell response to 2,5 hours of running. *J. Appl. Physiol.* 79: 748-755.
2. Nieman, D. C. 2003. Current perspectives on exercise immunology. *Curr. Sports Med. Rep.* 2:239-242.
3. Matthews, C. E., 1. S. Ockene, P. S. Freedson, M. C. Rosal, P.A. Merriam y J. R. Hebert. 2002. Moderate to vigorous activity and risk of upper-respiratory tract infection. *Med. And Sci. in Sports and Exercise.* 34:1242-1248.

4. Strasner, A, C. E. Barlow, J. B. Kampert y A. L. Dunn. 2001. Impact of physical activity on URTI symptoms in Project PRIME participants. *Med and Sci. in Sports and Exercise*. 31 (Supl.).S304.
5. Nieman, D. C. 1997. Exercise immunology: practical applications. *Intl. J. of Sports Med*. 18 (supl 1):S91-S100.
6. Shinkai, S. Y. Kurokawa, S. Hino, y col. 1993. Triathlon competition induced a transient immunosuppressive change in the peripheral blood of athletes. *J. of Sports Med. And Phys. Fitness*. 33:70-78.
7. Mackinnon, L. T. y S. L. Hooper. 1994. Mucosal (secretory) immune system responses to exercise of varying intensity and during overtraining. *Intl. J. of Sports Med*. 15:S179-S183.
8. Nieman, D. C., S. Simandle, D. A. Henson y col. 1995. Lymphocyte proliferation response to 2,5 hours of running. *Intl. J. of Sports Med*. 16:40G-410.
9. Cohen, S. 1995. Psychological stress and susceptibility to the common cold. *N. Eng. J. Med*. 325:606-612.
10. Cohen, S., W. J. Doyle, D. P. Skoner y col. 1998. Types of stressors that increase susceptibility to the common cold in healthy adults. *Health Psychol*. 17:214-223.
11. Miller, G. E., S. Cohen, S. Pressman y col. 2004. Psychological stress and antibody response to influenza vaccination: when is the critical period for stress, and how does it get inside the body? *Psychosomatic Medicine*. 66:215-223.
12. Uchakin, P. N., B. Tobin, M. Cabbage, G. Marshall Jr., y C. Sams. 2001. Immune responsiveness following academic stress in first-year medical students. *J. of Interferon and Cytokine Res*. 21:687-694.
13. Deinzer, R., C. Kleinedam, R. Stiller-Winkler, H. Idel y D. Bachg. 2000. Prolonged reduction in salivary immunoglobulin A (sIgA) after a major academic exam. *Intl. J. of Psychophysiology*. 37:219-232.
14. Kang, D. H. y C. Fox. 2001. Th1 and Th2 cytokine responses to academic stress. *Res. En Nursing and Health*.
15. Miller, G. E., S. Cohen y A. K. Ritchey. 2002. Chronic psychological stress and the reduction of pro-inflammatory cytokines: A glucocorticoid-resistance model. *Health Psychol*. 21:531-541.
16. Pressman, S. D., S. Cohen, G. E. Miller, A. Barkin, B. S. Rabin y J. J. Treanor. 2005. Loneliness, social network size, and immune response to influenza vaccination in college freshman. 2005. *Health Psychol*. 24:297-306.
17. Ader R, D. L. Felton y N. Cohen. 1991. *Psycho-neuroimmunology*. San Diego, CA: Academic Press.
18. Glaser R. y J. K. Kiecolt-Glaser. 1994. *Handbook of human stress and immunity*. New York: Academic Press.
19. Nieman, D. C., Bishop, N. C. 2006. Nutritional strategies to counter stress to the immune system in athletes, with special reference to football. *J. Sports Sci*. 24:763-772.
20. Langkamp-Henken, B. y col. 2004. Nutritional formula enhanced immune function and reduced days of symptoms of upper respiratory tract infection. *J. Am. Geriatr. Soc*. 52:3-12.
21. Hong, F., Yun, J. Baran J.T., Allendorf, D.J., Hansen, R. D. Ostroff, G.R., Xing, P.X., Cheung, N. V. y Ross, G. D. 2004. Mechanism by which orally administered β -1,3 glucans enhance the tumoricidal activity of antitumor monoclonal antibodies in murine tumor models. *J. Immunol*. 173:797-806.
22. McNair, D. M., J. W. P. Heuchert y E. Shilony. 2003. *Profile of Mood States: Bibliography 1964-2002*. Toronto, Canada: Mult-Health Systems, Inc.
23. McNair, D. M., Lorr, M., y Droppleman, L. F. (1971). *Manual for the Profile of Mood States*. San Diego, CA: Educational and Industrial Testing Services.
24. Konig D., D. Grathwohl, C. Weinstock, H. Northoff y A. Berg. 2000. Upper respiratory tract infection in athletes: influence of lifestyle, type of sport, training effort and immunostimulant intake. *Exercise Immunology Reviews*. 6:102-120.
25. Cohen S., W. J. Doyle y D. P. Skoner. 1999. Psychological Stress, Cytokine Production, and Severity of Upper Respiratory Illness. *Psychosomatic Medicine*. 61:175-180.
26. Vetvicka, V., Terayma, K., Mandeville, R., Brousseau, P., Kournakakis, B. y Ostroff, G. 2002. Pilot study: Orally-administered yeast beta 1-3-glucan prophylactically protects against anthrax infection and cancer in mice. *JANA* 5:1-5.
27. Kernodle, D. S., H. Gates y A. B. Kaiser. 1998. Prophylactic anti-Infective activity of poly-[1-6]-D-glucopyranosyl-[1-3]-D glucopyranose glucan in a guinea pig model of Staphylococcal wound infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 42:545-549.
28. Yan J., Vetvicka, V., Xia, Y., Coxon, A., Carroll, M. C., Mayadas, T. N., y Ross, G. D. 1999. β -glucan, a "specific" biological response modifier that uses antibodies to target tumors for cytotoxic recognition by leukocyte complement receptor type 3 (CD11b/CD18). *J. Immunol*. 163:3045-3052.

Este segundo estudio se realizó en conformidad con la Declaración de Helsinki como se revisó en 1983, para la investigación clínica que implica a seres humanos. Se informó de manera adecuada a todos los sujetos acerca de todos los detalles de ese estudio, y firmaron un documento de consentimiento con total conocimiento de causa. Participaron en el presente estudio ciento cincuenta sujetos. Un criterio de inclusión clave utilizado para seleccionar a los sujetos fue una encuesta de exploración de estrés que se utilizó para seleccionar sujetos que informaban niveles de estrés percibido "moderados" a "altos". Para identificar individuos con altos niveles de estrés percibido se utilizó una encuesta de exploración que se ha utilizado en estudios pasados de estrés/POMS. A pesar de que esta encuesta de exploración no se ha validado de forma clínica en una gran población, se ha utilizado de forma satisfactoria en dos estudios de entrenamiento con ejercicios y en cuatro estudios de pérdida de peso para ordenar en niveles sujetos con respecto a los niveles de estrés percibido. En cada estudio, esta encuesta de estrés simple de 15 preguntas correlacionó de forma fuerte con el POMS y sirvió como una herramienta de exploración fiable para la incorporación de sujetos. Los sujetos que puntuaban 6 o más en esta encuesta de exploración eran elegibles para la

incorporación en el estudio de complementación. Una puntuación de 6-10 indica estrés moderado. Una puntuación >10 indica estrés alto. A base de la finalización de la POMS y el cumplimiento de los criterios de inclusión y de exclusión, se incorporaron en el presente estudio 150 sujetos sanos (45 hombres, 105 mujeres) con edades en el intervalo de 18-65 (la edad media fue de 39 ± 11 años). Los criterios de inclusión incluyeron adultos sanos, asintomáticos, explorados como con nivel de estrés moderado a alto y un formulario de consentimiento con total conocimiento de causa cumplimentado. Los criterios de exclusión incluyeron a aquellos con síntomas de ITRS en ese momento, lesión, incapacidad para completar todos los cuestionarios, indicación de niveles bajos de estrés y uso en ese momento de antibióticos u otros productos de respaldo "inmunitario".

Se empleó para el presente estudio un diseño controlado por placebo, de doble ocultación. Se evaluó a cada sujeto por los criterios de inclusión y exclusión y se le incluyó en el estudio si satisfacía los criterios apropiados. En el día 1, los sujetos se asignaron de forma aleatoria al grupo de 1,3/1,6-beta-glucano (250, 500 mg) o un grupo de placebo de forma inmediatamente posterior a su incorporación en el estudio. Las cápsulas de placebo fueron 250 mg de harina de arroz. Las cápsulas de beta-glucano fueron de 250 mg de 1,3/1,6-beta-glucano aislado a partir de la levadura *Saccharomyces cerevisiae* como la partícula de glucano completa (PGC). El primer día del estudio los participantes cumplimentaron un POMS de medida inicial y un cuestionario de registro sanitario. La dosificación fue placebo, 250 mg de PGC por día o 500 mg de PGC por día durante cuatro semanas. Se instruyó a los sujetos para auto administrarse la dosis asignada una vez al día por la mañana por lo menos $\frac{1}{2}$ antes del desayuno durante un periodo de cuatro semanas. Después del periodo de administración de dos y cuatro semanas de tratamiento, los sujetos rellenaron la prueba psicométrica POMS y un cuestionario de registro de estilo de salud.

Se empleó el cuestionario de Perfil de Estados de Ánimo para medir los seis factores psicológicos principales. El perfil POMS utiliza escalas de intensidad basadas en 65 adjetivos que miden los seis factores de estados anímicos: tensión, depresión, cólera, fatiga, vigor y confusión.¹ Las respuestas y las puntuaciones de adjetivos se puntuaron en una escala de 0-4 (0 = en absoluto, 4 = extremadamente). Las 65 respuestas se categorizan por factor de estado anímico, se tabulan, se puntúan y se analizan. El resultado del cuestionario POMS es una evaluación de los estados anímicos positivos y negativos de cada sujeto al comienzo, en el intervalo de 2 semanas y de 4 semanas del estudio. La combinación de las puntuaciones de los seis factores de estados de ánimo creó un Estado de Ánimo Global. Se comunican los datos para cada estado de ánimo y el Estado de Ánimo Global.

Los sujetos cumplimentaron un cuestionario de salud física en el periodo de evaluación inicial, de 2 semanas y 4 semanas. El registro sanitario contenía preguntas relacionadas con el estado de salud en su conjunto, con un registro sanitario diario y con síntomas de ITRS específicos. Los síntomas relacionados con las ITRS medidos incluían congestión nasal, rinorrea, dolor de garganta, estornudos, tos, fatiga, cefalea, malestar general y dolores corporales. Se pidió a los sujetos que puntuaran su salud durante la complementación utilizando una escala hedónica típica (1=peor, 10=mejor) y el estado de salud en su conjunto utilizando una escala similar.

Todos los cuestionarios se enviaron por correo a un único centro y se transcribieron a una base de datos central. Los datos de las respuestas se identificaron mediante un número de sujeto. Se examinó la precisión y la completitud de los datos. Se analizaron los datos tabulados utilizando pruebas estadísticas paramétricas convencionales (pruebas t para muestras relacionadas). La significación se evaluó mediante un nivel alfa de dos colas ajustado a 0,05.

El estrés del estilo de vida (estrés limitado a moderado a alto, según se define en los criterios de inclusión) indujo desafíos para salud física de los sujetos del estudio. Un resultado de los criterios de inclusión fue la evaluación satisfactoria del estrés utilizando cuestionarios de salud física y psicológica. El formato de cuestionario es un mecanismo útil que no es físicamente invasivo, pero permite a los investigadores obtener información clínica válida. Los sujetos en los grupos de tratamiento de 250 y 500 mg de PGC comunicaron menos síntomas de ITRS, mejor salud en conjunto, y una evaluación psicológica más positiva a base de la encuesta POMS que los sujetos que recibieron placebo durante el periodo de evaluación de cuatro semanas.

Los 150 sujetos del estudio cumplimentaron y devolvieron cada cuestionario. Como se muestra en la Tabla 1, los sujetos sanos, con estrés en los dos grupos de tratamiento tenían mejoras estadísticamente significativas ($p < 0,05$) en las mediciones de salud física que incluían los síntomas comunicados de ITRS y el estado de salud en conjunto en las semanas dos y cuatro.

Tabla 1

		Placebo	250 de PGC/día	500 mg de PGC/día
P1 - Durante el transcurso del régimen de complemento mi salud ha sido... (1 = peor, 10 = mejor)	Final del periodo de 2 semanas	$4,3 \pm 1,0$	$6,2^* \pm 1,2$	$7,0^* \pm 1,3$

(continuación)

		Placebo	250 de PGC/día	500 mg de PGC/día
	Final del periodo de 4 semanas	4,6 ± 1,0	6,5* ± 1,1	7,2* ± 1,2
P2 - Al FINAL de este periodo de 2 semanas cómo calificaría su salud en su conjunto... (1 = peor, 10 = mejor)	Final del periodo de 2 semanas	5,0 ± 1,2	6,9* ± 1,6	7,4* ± 1,6
	Final del periodo de 4 semanas	5,3 ± 1,4	7,1* ± 1,7	7,9* ± 1,9
Síntomas comunicados (cefalea, sed, cansancio, debilidad, fatiga, rinorrea, congestión nasal, nariz con picor, estornudos, tos, dolor de garganta, dolores generales)	Final del periodo de 2 semanas	16 sujetos	5* sujetos	*4 sujetos
	Final del periodo de 4 semanas	14 sujetos	4* sujetos	*4 sujetos
*p<0,05 contra placebo				

Hubo una disminución significativa ($p<0,05$) en los síntomas de ITRS en los dos grupos de tratamiento con PGC con respecto al grupo de placebo. En el intervalo de dos semanas, el 32 % de los sujetos en el grupo de placebo comunicó síntomas asociados con ITRS, mientras que solo el 10 % y el 8 % en los dos grupos de intervención de 1,3/1,6-beta-glucano 250 mg y 500 mg, respectivamente, comunicaron síntomas de ITRS similares. Solo el 8 % de los sujetos en ambos grupos del tratamiento comunicaron infecciones del tracto respiratorio superior en la semana 4 contra el 28 % de los sujetos de placebo.

Hubo once síntomas de ITRS evaluados utilizando un formato de casilla de verificación con evaluación de la frecuencia (variando desde sin síntomas a múltiples síntomas por día). Los síntomas de ITRS más comunes que comunicaron los sujetos fueron dolor de garganta, congestión o rinorrea y tos. Los otros síntomas no se comunicaron con frecuencia o no se comunicaron en absoluto. Además del formulario de casilla de verificación de síntomas, se pidió a los sujetos que registren diversos códigos de salud en un registro diario utilizando un sistema numérico que varía desde sin problemas de salud a síntomas específicos y que califica la gravedad de los síntomas (A=leve, B = moderado y C=grave). En general, los sujetos cumplimentaron el formulario de casilla de verificación de síntomas de ITRS. Sin embargo, hubo un mal cumplimiento en cumplimentar el registro sanitario diario. Por lo tanto, se analizaron los datos para los síntomas de ITRS en conjunto, pero no hubo un análisis de las puntuaciones de síntomas individuales.

Durante el transcurso del régimen de complemento se pidió a los sujetos que completen un Registro de Percepción de Salud. Se pidió a los sujetos que califiquen cómo el complemento (beta-glucano o placebo) afectaba a su salud y se les pidió que comparen su estado de salud en ese momento con su historia clínica típica. Cuando se les preguntó cómo el régimen de complemento estaba afectando a su salud, los sujetos que tomaban 250 mg de 1,3/1,6-beta-glucano comunicaron el 41 % de puntuaciones más altas en la encuesta de evaluación de salud; los sujetos que se administraban 500 mg de 1,3/1,6-beta-glucano comunicaron el 57 % de puntuaciones de salud más altas contra el placebo. Al final de cada periodo de dos semanas (2 y 4 semanas, respectivamente), los sujetos del estudio puntuaron su salud en su conjunto en comparación con su estado de salud histórico. Los participantes que tomaban 250 mg de beta-glucano puntuaron su salud el 34 % más alto contra el placebo; los sujetos que tomaban 500 mg de beta-glucano por día puntuaron su salud el 49 % más alto en comparación a lo normal. Además de las preguntas graduadas, hubo preguntas que evaluaban el número anual de episodios de episodios de enfermedad (por ejemplo, en comparación con esta época del año pasado, ¿usted cree que en general tiene episodios de resfriado común o gripe? Las opciones eran: menos, aproximadamente lo mismo o un número mayor. Otra vez, el cumplimiento de estas preguntas fue malo.

La evaluación POMS para la salud psicológica respaldó y reflejó de fuertemente la evaluación de salud física. El análisis de los datos incluyó una evaluación del Estado de Ánimo en la medida inicial (día 0), dos semanas después que los sujetos comenzaran a auto administrarse el producto de estudio (placebo, 250 mg y 50 mg de 1,3/1,6-beta-glucano) y después de cuatro semanas de administración del producto de estudio. Como se describió, la encuesta POMS consiste en varias escalas basadas en adjetivos. Los factores de Estado de Ánimo Individuales se evaluaron utilizando escalas de adjetivos específicas. Por ejemplo, el Factor Tensión se conformó utilizando las respuestas a las escalas de adjetivos 2, 10, 16, 20, 22, 26, 27, 34 y 41 junto con el análisis especificado. Otros Factores de Estados de Ánimo utilizaron las respuestas a otros adjetivos que incluían Depresión (15 adjetivos), Cólera (12 adjetivos), Vigor (8 adjetivos), Fatiga (7 adjetivos) y Confusión (7 adjetivos). Se observaron respuestas de Estado de Ánimo significativas para Confusión (reducida), Fatiga (reducida), Vigor (aumentada), y Tensión (reducida) (Fig. 6). Los Factores de Estados de Ánimo no relacionados con la salud física (Depresión y Cólera) en general no fueron estadísticamente relevantes. Sin embargo, hubo un periodo de tiempo del Factor de Cólera (después de dos semanas en 500 mg de 1,3/1,6-beta-glucano) que generó una reducción estadísticamente significativa de la Cólera.

Las respuestas estadísticamente significativas de cuatro de los seis Estados de Ánimo individuales en los grupos de tratamiento se consideraron relevantes para los sujetos excesivamente estresados. Las mejoras observadas incluyeron una reducción de la fatiga del 38 % para la dosis de 250 mg contra el placebo y del 42 % para la dosis diarias de 500 mg de 1,3/1,6-beta-glucano contra el placebo. Se observó un aumento del vigor del 42 % (250 mg contra el placebo) y del 47 % (500 mg contra el placebo) a lo largo del periodo de estudio de cuatro semanas. Los sujetos comunicaron que se observó una reducción de la tensión del 19 % (250 mg contra el placebo) y del 24 % (500 mg contra el placebo) a lo largo del periodo de estudio de cuatro semanas. Para finalizar, los sujetos comunicaron una reducción de la confusión relacionada con el estrés del 15 % (250 mg contra el placebo) y del 17 % (500 mg contra el placebo) a lo largo del periodo de estudio de cuatro semanas. Las medidas comunes de la alteración del estado anímico que se utilizan en la evaluación POMS (depresión y cólera) no se alteraron por la complementación con 1,3/1,6-beta-glucano. El Estado de Ánimo Global, una combinación de los seis factores principales, mejoró en los grupos de tratamiento de 250 y 500 mg/día contra el placebo (FIG. 7). El Estado de Ánimo Global mejoró en el 18 % para los sujetos que tomaban la dosis de 250 mg de 1,3/1,6-beta-glucano por día contra el placebo y el 19 % para los sujetos que tomaban 500 mg de 1,3/1,6-beta-glucano por día contra el placebo.

Se había comunicado previamente que el estrés psicológico puede tener efecto nocivo sobre la salud humana. La complementación nutricional es una técnica de intervención que puede modular el estado de salud de estas personas moderada a altamente estresadas. El presente estudio demostró que la complementación con 1,3/1,6-beta-glucano, un ingrediente complemento alimenticio disponible de forma comercial, redujo la incidencia de los síntomas de ITRS y tuvo un impacto psicológico positivo según se definió mediante la evaluación del Perfil de Estados de Ánimo de los sujetos. Además, los cuestionarios de auto evaluación indicaron que los grupos de tratamiento experimentaron menos síntomas de ITRS y un mejor estado de salud en conjunto. Los síntomas de ITRS que comunicaron los sujetos son síntomas típicos de resfriado y de gripe y análogos a los síntomas informado comunicados en estudios preliminares. En el estudio actual, el sujeto añadió los síntomas de ITRS totales y no se hizo un intento de cotejar una puntuación de síntomas.

La utilización de los síntomas de ITRS es una medida objetiva que pueden comunicar los sujetos. Las preguntas de estado de salud emplearon una escala Likert de 0-10 con 0 = peor y 10 = mejor para permitir a los sujetos puntuar su estado de salud. Los resultados del estudio se evaluaron utilizando los datos de ITRS objetivos y comparando el resultado con las preguntas de estado de salud más subjetivas. El análisis e interpretación de los datos válidos depende de la validez de los procedimientos utilizados. Durante el transcurso del presente estudio, se emplearon técnicas bien establecidas y clínicamente válidas (encuesta POMS, Síntomas de ITRS), mientras se exploraban técnicas más objetivas tales como las preguntas de estado de salud.

La enfermedad y el estrés impactan sobre el sistema inmunitario de modo físico y psicológico. Las evaluaciones físicas son comunes y se miden y verifican de forma fácil. Dado que es difícil medir de forma objetiva los estados anímicos y las sensaciones, es necesario utilizar un instrumento de encuesta tal como el POMS, que explica diversos factores psicológicos. La metodología POMS, que contiene escalas basadas en 65 adjetivos, se ha utilizado ampliamente para evaluar el estado anímico. La encuesta POMS evalúa el estado de anímico global en su conjunto de los sujetos y proporciona información sobre seis estados anímicos y sensaciones específicos tales como tensión-ansiedad, depresión-abatimiento, fatiga-inercia, vigor-actividad, confusión-desorientación, y cólera-hostilidad. En el presente estudio se evaluaron factores físicos y psicológicos de sujetos sometidos a situaciones estresantes que se habían informado que conducen a una mayor frecuencia de ITRS (4, 24, 25). En todos los casos, los sujetos con beta-glucano experimentaron mejor salud física y un estado psicológico significativamente mejorado que incluía más sensaciones positivas que aquellos en el grupo de placebo.

Los resultados de la encuesta POMS sugieren que los sujetos que se auto administraban las dosis de tratamiento de beta-glucano (250 y 500 mg por día) habían reducido la fatiga en los intervalos de 2 y 4 semanas para los sujetos en la dosis de 500 mg por día; mientras que, los sujetos en la dosis de 250 mg por día, mostraron una respuesta estadísticamente significativa en el intervalo de 4 semanas. Se observaron resultados análogos para el factor tensión. Esto puede indicar que una dosis más alta del modulador inmunitario potenció rápidamente la salud inmunitaria. Sin embargo, los factores del POMS Vigor y Confusión no siguieron esta tendencia. El vigor aumentó en el intervalo de cuatro semanas en ambos grupos de tratamiento. El factor de confusión fue significativo para ambos grupos de tratamiento en los intervalos de 2 y 4 semanas. Por el contrario, los factores cólera y depresión no mostraron significación estadística en cualquiera de los periodos de comunicación de dos o cuatro semanas. La interpretación de los datos es poco complicada cuando se compara con la evaluación de la salud física. Es de especulación lógica que los sujetos experimentaban síntomas de ITRS se "sentían" peor que los sujetos que permanecían sanos. A la inversa, utilizando las técnicas de evaluación física y psicológica los sujetos que tomaban beta-glucano comunicaron que se "sentían" mejor.

Numerosos estudios publicados y no publicados respaldan las propiedades inmunoestimulantes del beta-glucano administrado por vía oral. La investigación de Vetvicka y col. demostró que el beta-glucano ayudaba a prevenir la infección y la muerte por carbunco en ratones infectados con una bacteria de carbunco "armificada". Estudios adicionales respaldan las propiedades antibacterianas (27) y antitumorales (28) adicionales del beta-glucano. En el estudio actual, el beta-glucano demostró mejorar de forma significativa la salud física y el estado anímico y las sensaciones de los sujetos cuando se les comparó con el placebo. Las posibles implicaciones en la atención sanitaria son numerosas y sugieren que el beta-glucano debería complementarse de forma regular. El estrés físico y

psicológico y las situaciones estresantes son crecientemente comunes en todos los grupos demográficos en los Estados Unidos; en consecuencia, un entorno de salud física y mental negativo desafía a las personas de forma diaria. El refuerzo del sistema inmunitario a través del beta-glucano puede tener un efecto apreciable sobre el mantenimiento de la salud y de una actitud mental fuerte y positiva. En la investigación comunicada en el presente documento, la complementación diaria con beta-glucano reduce la frecuencia de los síntomas asociados con las infecciones del tracto respiratorio superior y mejora del bienestar psicológico de los participantes de los grupos de tratamiento.

1. Cohen S, Janicki-Deverts D, Miller GE. Psychological stress and disease. *JAMA* 2007; 298:1685-7
2. McEwans BS. Protective and damaging effects of stress mediators. *N Engl J Med* 1998; 338:171-9
3. Segerstrom SC, Miller GE. Psychological stress and the human immune system: a meta-analytic study of 30 years of inquiry. *Psychol Bull* 2004; 130:601-30
4. Baum A, Cohen L, Hall M. Control and intrusive memories as possible determinants of chronic stress. *Psychosom Med* 1993; 55:274-86
5. Rozanski A, Blumenthal JA, Kaplan J. Impact of psychological factors of cardiovascular disease and implications for therapy. *Circulation* 1999; 99:2192-217
6. Heffner KL, Loving TJ, Robles TF, Kiecolt-Glaser JK. Examining psychosocial factors related to cancer incidence and progression: in search of the silver lining. *Brain Behav Immunol* 2003; 17:S109-11
7. Cohen S. Psychological stress and susceptibility to the common cold. *N Engl J Med* 1991; 325:606-12
8. Cohen S, Frank E, Doyle WJ, Skoner DP, Rabin BS, Gwaltney JM Jr. Types of stressors that increase susceptibility to the common cold in healthy adults. *Health Psychol* 1998; 17:214-23
9. Miller GE, Cohen S, Pressman S, Barkin A, Rabin BS, Treanor JJ. Psychological stress and antibody response to influenza vaccination: when is the critical period for stress, and how does it get inside the body? *Psychosom Med* 2004; 66:215-23.
10. Uchakin PN, Tobin B, Cabbage M, Marshall Jr G, Sams C. Immune responsiveness following academic stress in first-year medical students. *J Interferon Cytokine Res* 2001; 687-94
11. Deinzer R, Kleineidam C, Stiller-Winkler R, Idel H, Bachg D. Prolonged reduction in salivary immunoglobulin A (sIgA) after a major academic exam. *Int J Psychophysiol* 2000; 37:219-32.
12. Kang DH, Fox C. Th1 and Th2 cytokine responses to academic stress. *Res Nurs Health* 2001; 24:245-57
13. Miller GE, Cohen S, Ritchey AK. Chronic psychological stress and the reduction of pro-inflammatory cytokines: a glucocorticoid-resistance model. *Health Psychol* 2002; 21:531-41
14. Pressman SD, Cohen S, Miller GE, Barkin A, Rabin BS, Treanor JJ. Loneliness, social network size, and immune response to influenza vaccination in college freshmen. *Health Psychol* 2005; 24:297-306
15. Ader R, Felton DL, Cohen N. *Psycho-neuroimmunology*, San Diego, CA: Academic Press; 1991
16. Glaser R, Kiecolt-Glaser JK. *Handbook of human stress and immunity*. New York: Academic Press; 1994
17. Nieman DC, Bishop NC. Nutritional strategies to counter stress to the immune system in athletes, with special reference to football. *J Sports Sci* 2006; 24:763-72
18. Langkamp-Henken B, Bender BS, Gardner EM, Herrlinger-Garcia KA, Kelley MJ, Murasko DM, Schaller JP, Stechmiller JK, Thomas DJ, Wood SM. Nutritional formula enhanced immune function and reduced days of symptoms of upper respiratory tract infection in seniors. *J Am Geriatr Soc* 2004; 52:3-12
19. Hong F, Yun J, Baran JT, Allendorf DJ, Hansen RD, Ostroff GR, Xing PX, Cheung N-KV, Ross GD. Mechanism by which orally administered β -1,3 glucans enhance the tumoricidal activity of antitumor monoclonal antibodies in murine tumor models. *J Immunol* 2004; 173: 797-806
20. McNair DM, Lorr M, Droppleman LF. *EdITS Manual for the Profile of Mood States*. San Diego, CA; Educational and Industrial Testing Services; 1992
21. Strasner A, Barlow CE, Kampert JB, Dunn AL. Impact of physical activity on URTI symptoms in Project PRIME participants. *Med Sci Sports Exerc* 2001; 33 (Supl.):S301
22. König D, Grathwohl D, Weinstock C, Northoff H, Berg A. Upper respiratory tract infection in athletes: influence of lifestyle, type of sport, training effort, and immunostimulant intake. *Exerc Immunol Rev* 2000; 6:102-20
23. Matthews CE, Ockene IS, Freedson PS, Rosal MC, Merriam PA, Hebert JR. Moderate to vigorous activity and risk of upper-respiratory tract infection. *Med Sci Sports Exerc* 2002; 34:1242-48
24. Shinkai S, Kurokawa Y, Hino S, Hinrose M, Torii J, Watanabe S, Watanabe S, Shiraishi S, Oka K, Watanabe T. Triathlon competition induced a transient immunosuppressive change in the peripheral blood of athletes. *J Sports Med Phys Fitness* 1993; 33:70-8
25. Vetvicka V, Terayma K, Mandeville R, Brousseau P, Koumaka B, Ostroff G. Pilot study: Orally administered yeast β 1,3-glucan prophylactically protects against anthrax infection and cancer in mice. *J Am Nutraceut Assoc* 2002; 5(2):5-9
26. Kernodle DS, Gates H, Kaiser AB. Prophylactic anti-infective activity of poly-[1-6]-D-glucopyranosyl[1-3]-D-glucopyranose glucans in a guinea pig model of staphylococcal wound infection. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42:545-9
27. Yan J, Vetvicka V, Xia Y, Coxon A, Carroll MC, Mayadas TN, Ross GD. β -glucan, a "specific" biologic response modifier that uses antibodies to target tumors for cytotoxic recognition by leukocyte complement receptor type 3 (CD11b/CD18). *J Immunol* 1999; 163:3045-52

Como se describió anteriormente, la presente composición incluye β -glucano particulado tal como partículas de glucano completas purificadas a partir de las paredes celulares de *S. cerevisiae*. El β -glucano particulado puede

administrarse por cualquier medio que incluye, por ejemplo, oral, parenteral o tópico. La composición también puede incluir un vehículo apropiado.

En un procedimiento representativo para preparar β -glucano particulado, se cultiva un cultivo de levadura, normalmente, en un matraz o fermentador de agitación. En una realización de producción a granel, se inicia y expande por etapas un cultivo de levadura, de un matraz de cultivo de agitación a un fermentador de producción en escala de 250 l. Las levaduras se cultivan en un medio de glucosa-sulfato de amonio enriquecido con vitaminas, tales como ácido fólico, inositol, ácido nicotínico, ácido pantoténico (sal de calcio y de sodio), HCl piridoxina y HCl timina y metales traen a partir de compuestos tales como cloruro férrico, hexahidrato; cloruro de cinc; cloruro de calcio, dihidrato; ácido molibídico; sulfato cúprico, pentahidrato y ácido bórico. Se puede añadir un agente antiespumante tal como Antifoam 204 en una concentración de aproximadamente el 0,02 %.

El cultivo de producción se mantiene en limitación de glucosa en un modo discontinuo alimentado. Durante la fermentación "semilla" se toman muestras de forma periódica para medir la densidad óptica del cultivo antes de la inoculación del fermentador de producción. Durante la fermentación de producción, también se toman de forma periódica muestras para medir la densidad óptica del cultivo. Al final de la fermentación, se toman muestras para medir la densidad óptica, el peso seco, y la pureza microbiana.

Si se desea, la fermentación puede terminarse elevando el pH de cultivo hasta por lo menos 11,5 centrifugando el cultivo para separar las células del medio de cultivo. Además, dependiendo del tamaño y la forma deseadas del β -glucano purificado, se pueden llevar a cabo etapas para romper o fragmentar las células de levadura. Para llevar a cabo la ruptura y fragmentación de las células de levadura se puede usar cualquier procedimiento químico, enzimático o mecánico conocido, o cualquier combinación de los mismos.

Las células de levadura que contiene al β -glucano se recogen. Cuando se produce β -glucano a granel, las células de levadura normalmente se recogen utilizando centrifugación de flujo continuo.

Las células de levadura se extraen utilizando una o más de una solución alcalina, un tensioactivo, o una combinación de los mismos. Una solución alcalina adecuada es, por ejemplo, NaOH 0,1 M-5 M. Los tensioactivos adecuados incluyen, por ejemplo, tioglucósido de octilo, Lubrol Px, Triton X-100, dodecil sulfato de sodio (SDS), Nonidet P-40, Tween 20 y similares. También pueden utilizarse tensioactivos iónicos (aniónicos, catiónicos, anfóteros) (por ejemplo, sulfonatos de alquilo, cloruros de benzalconio, y similares) y tensioactivos no iónicos (por ejemplo, aceites de ricino hidrogenados polioxietileno, ésteres de ácidos grasos de polioxietileno sorbitol, ésteres de ácidos grasos de polioxietileno sorbitano, ésteres de ácidos grasos de polioxietileno glicerol, ésteres de ácidos grasos de polietilenglicol, éteres de polioxietileno alquil fenilo, y similares). La concentración del tensioactivo variará y dependerá, en parte, de qué tensioactivo se utilice. El material celular de levadura se puede extraer una o más veces.

Habitualmente, las extracciones se llevan a cabo a temperaturas entre aproximadamente 70 °C y aproximadamente 90 °C. Dependiendo de la temperatura, los reactivos utilizados y sus concentraciones, la duración de cada extracción está entre aproximadamente 30 minutos y aproximadamente 3 horas.

Después de cada extracción, la fase sólida que contiene al β -glucano se recolecta utilizando centrifugación o centrifugación de flujo continuo y se resuspende para la etapa posterior. Los contaminantes solubilizados se eliminan en la fase líquida durante las centrifugaciones, aunque el β -glucano permanece en el material de la pared celular insoluble.

En una realización se llevan a cabo cuatro extracciones. En la primera extracción, las células de levadura recogidas se mezclan con NaOH 1,0 M y se calientan a 90 °C durante aproximadamente 60 minutos. La segunda extracción es una extracción alcalina/de tensioactivo mediante la cual el material insoluble se resuspende en NaOH 0,1 M y Triton X-100 a aproximadamente el 0,5 % al 0,6 % y se calienta a 90 °C durante aproximadamente 120 minutos. La tercera extracción es similar a la segunda extracción excepto en que la concentración del Triton X-100 es de aproximadamente el 0,05 %, y la duración se acorta a aproximadamente 60 minutos. En la cuarta extracción, el material insoluble se resuspende en Triton-X 100 aproximadamente al 0,05 % y se calienta a 75 °C durante aproximadamente 60 minutos.

Las extracciones alcalinas y/o de tensioactivo solubilizan y eliminan algunos de los materiales celulares de levadura extraños. La solución alcalina hidroliza proteínas, ácidos nucleicos, mananos y lípidos. El tensioactivo potencia la eliminación de lípidos, lo que proporciona una ventaja adicional produciendo un producto de β -glucano mejorado.

La siguiente etapa en el procedimiento de purificación es una extracción ácida mostrada, que elimina glucógeno. Se realizan una o más extracciones ácidas ajustando el pH del material alcalino/de tensioactivo extraído hasta entre aproximadamente 5 y 9 y mezclando el material en ácido acético aproximadamente 0,05 M a aproximadamente 1,0 M a una temperatura entre aproximadamente 70 °C y 100 °C, durante aproximadamente 30 minutos a aproximadamente 12 horas.

En una realización, el material insoluble que permanece después de la centrifugación de la extracción alcalina/de tensioactivo se resuspende en agua, y el pH de la solución se ajusta a aproximadamente 7 con HCl concentrado. El material se mezcla con suficiente ácido acético glacial para preparar una solución de ácido acético 0,1 M, que se calienta a 90 °C durante aproximadamente 5 horas.

- 5 A continuación se lava el material insoluble. En una etapa de lavado típica, el material se mezcla con agua purificada a, aproximadamente, temperatura ambiente durante un mínimo de aproximadamente 20 minutos. El lavado de agua se lleva a cabo dos veces. Después se recolecta el producto de β -glucano purificado. Otra vez, la recolección típicamente se lleva a cabo mediante centrifugación o centrifugación de flujo continuo.

- 10 En este punto, se forma un producto de β -glucano particulado purificado. El producto puede estar en forma de partículas de glucano completas o cualquier porción de las mismas, dependiendo del material inicial. Además, se pueden romper partículas de mayor tamaño en partículas más pequeñas. El intervalo de los tamaños del producto incluye partículas de β -glucano que substancialmente han conservado la morfología *in vivo* (partículas de glucano completas) hasta partículas de tamaño submicrométrico.

- 15 Un segundo procedimiento representativo para producir partículas de glucano completas implica la extracción y purificación de partículas de glucano completas insolubles en álcali a partir de paredes celulares de levadura o de hongos. Este procedimiento produce un producto que mantiene las propiedades morfológicas y estructurales del β -glucano como se encuentran *in vivo*.

- 20 La fuente de glucano completo puede ser levadura u otros hongos, y cualquier otra fuente que contenga glucano que tenga las propiedades descritas en el presente documento. En determinadas realizaciones son una fuente preferente de glucanos las células de levadura. Las cepas de levadura empleadas en el presente procedimiento pueden ser cualquier cepa de levadura.

- 25 En general, el procedimiento anterior puede utilizarse para preparar y aislar otras cepas de levadura mutantes con otras cepas parentales como material inicial. De forma adicional se pueden emplear mutágenos para inducir las mutaciones, por ejemplo, mutágenos químicos, irradiación u otras manipulaciones del ADN y recombinantes. De manera similar se pueden emplear otras técnicas de selección o exploración.

- 30 Las células de levadura se pueden producir mediante procedimientos conocidos en la técnica. El medio de cultivo típico comprende, por ejemplo, glucosa, peptona y extracto de levadura. Las células de levadura se pueden recoger y separar a partir del medio de cultivo mediante procedimientos aplicados normalmente para separar la biomasa del medio líquido. Tales procedimientos emplean normalmente un procedimiento de separación sólido-líquido tal como filtración o centrifugación. En el presente procedimiento, las células se pueden recoger en la fase de crecimiento logarítmico intermedio a tardío, para minimizar la cantidad de glucógeno y de quitina en las células de levadura. El glucógeno, la quitina y las proteínas pueden afectar las propiedades biológicas e hidrodinámicas de las partículas de glucano completas.

- 35 La preparación de las partículas de glucano completas implica el tratamiento de la levadura con una solución alcalina acuosa a una concentración adecuada para solubilizar una porción de la levadura y formar partículas de glucano completas álcali-hidróxido insolubles que tengan ante todo enlaces. En general, el álcali empleado es un hidróxido álcali-metálico, tal como hidróxido de sodio o de potasio o un equivalente. El material inicial puede comprender levaduras separadas del medio de cultivo. Es más difícil controlar el consumo de los reactantes de hidróxido acuoso y la concentración de reactantes en los intervalos preferentes cuando se comienza con composiciones de levadura que están menos concentradas. Las células de levadura se tratan en la solución de hidróxido acuosa. Los componentes intracelulares y la porción de manoproteína de las células de levadura se solubilizan en la solución de hidróxido acuosa, dejando material de la pared celular insoluble, que substancialmente está desprovisto de proteínas y que tiene una matriz tridimensional substancialmente no modificada de glucano ligado. Las condiciones preferentes para realizar esta etapa dan como resultado que el componente de manano de la pared celular se disuelva en la solución de hidróxido acuosa. Los constituyentes intracelulares se hidrolizan y liberan en la fase soluble. Las condiciones de digestión son tales que por lo menos en una porción principal de estas células la estructura de matriz tridimensional de las paredes celulares no se destruye. En circunstancias particulares, substancialmente todo el glucano de la pared celular permanece no modificado e intacto.

- 45 En determinadas realizaciones, la etapa de digestión con hidróxido acuoso se lleva a cabo en una solución de hidróxido que tenga una normalidad inicial de aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10,0. Las soluciones de hidróxido típicas incluyen hidróxidos del grupo de los metales alcalinos y metales alcalinotérreos de la Tabla Periódica. Las soluciones de hidróxido acuosas adecuadas son de potasio y de sodio. La digestión se puede llevar a cabo a una temperatura de desde aproximadamente 20 °C a aproximadamente 121 °C con temperaturas más bajas que necesitan tiempos de digestión más largos. Cuando se utiliza hidróxido de sodio como el hidróxido acuoso, la temperatura puede ser de desde aproximadamente 80 °C a aproximadamente 100 °C, y la solución tiene una normalidad de desde aproximadamente 0,75 aproximadamente 1,5. El hidróxido añadido es superior a la cantidad requerida, por lo tanto, no son necesarias adiciones posteriores.

En general, se utilizan desde aproximadamente 10 a aproximadamente 500 gramos de levadura seca por litro de solución de hidróxido. En determinadas realizaciones, la etapa de digestión con hidróxido acuoso se lleva a cabo mediante una serie de etapas de contacto de modo que la cantidad de contaminantes residuales tales como proteínas es menor que si solamente se utilizara una etapa de contacto. En determinadas realizaciones, es conveniente eliminar substancialmente por material proteico de las células. Tal eliminación se lleva a cabo hasta un punto que menos del uno por ciento de la proteína permanece con las partículas de glucano de la pared celular insolubles. Preferentemente se llevan a cabo etapas de extracción adicionales en una solución ácida suave que tenga un pH de desde aproximadamente 2,0 hasta aproximadamente 6,0. Las soluciones ácidas suaves típicas incluyen ácido clorhídrico, cloruro de sodio ajustado al pH requerido con ácido clorhídrico y tampones acetato. Otras soluciones ácidas suaves típicas están en ácido sulfúrico y ácido acético en un tampón adecuado. Esta etapa de extracción preferentemente se lleva a cabo a una temperatura de desde aproximadamente 20 °C a aproximadamente 100 °C. Las partículas de glucano pueden someterse, si se necesita o desea, a lavados y extracción adicionales para reducir los niveles de proteína y de contaminantes. Después de procesar el producto el pH puede ajustarse hasta un intervalo de aproximadamente 6,0 a aproximadamente 7,8.

Las partículas de glucano completas se pueden procesar adicionalmente y/o purificar adicionalmente, según se desee. Por ejemplo, el glucano se puede desecar hasta un polvo fino (por ejemplo, mediante desecado en un horno); o se pueden tratar con disolventes orgánicos (por ejemplo, alcoholes, éter, acetona, acetona de metil etilo, cloroformo) para eliminar cualquier traza o material orgánico-soluble, o se pueden volver a tratar con solución de hidróxido, para eliminar proteínas adicionales u otras impurezas que puedan estar presentes.

Las partículas de glucano completas, como se producen anteriormente, pueden modificarse mediante tratamiento químico para disminuir el número de enlaces $\beta(1-6)$ y, por lo tanto, cambiar las propiedades del β -glucano. De acuerdo con un primer tratamiento químico, se pueden tratar las partículas de glucano completas con un ácido para disminuir la cantidad de propiedades hidrodinámicas de dichos glucanos como se evidencia mediante un aumento de la viscosidad de las soluciones acuosas de estos glucanos modificados. Se puede utilizar un procedimiento para preparar partículas de glucano completas modificadas mediante el tratamiento de partículas de glucano con un ácido, durante un periodo adecuado de tiempo para modificar los enlaces $\beta(1-6)$. Es preferente el ácido acético debido a su acidez suave, facilidad de manipulación, baja toxicidad, bajo coste y disponibilidad, pero se pueden utilizar otros ácidos. En general, estos ácidos deberían ser suficientemente suaves para limitar la hidrólisis de los enlaces $\beta(1-3)$. El tratamiento se lleva a cabo en condiciones para afectar substancialmente solo a los glucanos $\beta(1-6)$ enlazados. En determinadas realizaciones, el tratamiento de ácido se lleva a cabo con un líquido que consiste esencialmente en ácido acético, o en cualquier dilución del mismo (los diluyentes típicos pueden ser disolventes orgánicos o soluciones ácidas inorgánicas). El tratamiento se lleva a cabo a una temperatura de desde aproximadamente 20 °C a aproximadamente 100 °C para eliminar desde aproximadamente el 3 a aproximadamente el 20 por ciento en peso del material soluble ácido a base del peso total de las partículas de glucano completas antes del tratamiento. En otras realizaciones, el alcance de la eliminación es desde aproximadamente el 3 a aproximadamente el 4 por ciento. Determinadas composiciones formadas muestran después del tratamiento propiedades hidrodinámicas modificadas y una potenciación de la viscosidad.

De acuerdo con un segundo tratamiento químico, las partículas de glucano completas se tratan con una enzima o un ácido para cambiar la cantidad de enlaces $\beta(1-3)$. Dependiendo de la cepa de levadura, el tratamiento enzimático provoca una disminución de la viscosidad o un aumento de la viscosidad, pero general modifica las propiedades químicas e hidrodinámicas de los glucanos resultantes. El tratamiento es con una enzima $\beta(1-3)$ glucanasa, tal como la laminarinasa, para modificar los enlaces $\beta(1-3)$ y las propiedades hidrodinámicas de las partículas de glucano completas en suspensiones acuosas. El tratamiento enzimático se puede llevar a cabo en una solución acuosa que tenga una concentración de glucano de desde aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10,0 gramos por litro. Se puede utilizar cualquier enzima glucanasa hidrolítica tal como la laminarinasa, la cual es eficaz y está disponible rápidamente. El tiempo de incubación puede variar dependiendo de la concentración de las partículas de glucano completas y de la enzima glucanasa. Los enlaces $\beta(1-3)$ son resistentes a los ácidos débiles, tales como el ácido acético. El tratamiento con ácidos fuertes o concentrados, tales como el ácido clorhídrico (HCl), el ácido sulfúrico (HSO) o el ácido fórmico, hidroliza los enlaces $\beta(1-3)$. El tratamiento ácido se puede llevar a cabo en una solución acuosa que tenga una concentración de glucano desde aproximadamente 0,1 a aproximadamente 10,0 gramos por litro. El tiempo del tratamiento ácido puede variar dependiendo de la concentración de las partículas de glucano completas y del ácido. La hidrólisis ácida se puede llevar a cabo a una temperatura de desde aproximadamente 20 °C a aproximadamente 100 °C.

Es posible controlar las propiedades químicas e hidrodinámicas del producto resultante controlando el tiempo de incubación. Por ejemplo, la viscosidad del producto se puede controlar de forma precisa para el uso particular, como, por ejemplo, con una diversidad de productos alimenticios.

Un parámetro hidrodinámico (K) del producto tratado final que tenga enlaces modificados es dependiente del tiempo del tratamiento de acuerdo con la fórmula final:

$$K_1 = -0,0021 (\text{tiempo}) + 0,26$$

en donde el tiempo está en minutos; y

en donde el tiempo es menos que una hora.

El parámetro K_1 está relacionado de forma directa (proporcional) con la viscosidad relativa. En el caso de suspensiones acuosas la viscosidad relativa es igual a la viscosidad real cuando la última está medida en centipoise.

- 5 Se proporciona un procedimiento para preparar una suspensión acuosa de glucano que tenga una viscosidad deseada predeterminada. La suspensión comprende glucano a una concentración que es una función de la viscosidad predeterminada deseada de acuerdo con la siguiente fórmula aproximada:

$$1/\text{concentración} = K_1 \times (1/\log (\text{viscosidad relativa})) + K_2$$

en donde,

10 $K_1 = (\text{factor de forma}) \times (\text{volumen hidrodinámico});$

y

$$K_2 = (\text{volumen hidrodinámico})/(\text{fracción de empaquetamiento máximo}).$$

- 15 El factor de forma es un valor determinado de forma empírica que describe la forma de la matriz de glucano en su entorno acuoso. El factor de forma es una función de la proporción longitud:ancho de una partícula y se puede determinar de forma microscópica. El volumen hidrodinámico es una medida del volumen que ocupa una partícula cuando está en suspensión. Este es un parámetro importante para las suspensiones de glucano porque indica la alta capacidad de retención de agua de las matrices de glucano. La fracción de empaquetamiento máximo se puede describir como la mayor fracción que se puede lograr de volumen de glucanos que se pueda empaquetar en un volumen unitario de suspensión.

- También se puede utilizar β -glucano microparticulado, y el material inicial puede aislarse a partir de las paredes celulares de levadura mediante procedimientos convencionales conocidos para los expertos en la materia. El procedimiento general para la producción de glucano a partir de levaduras implica la extracción con álcali seguida de extracción con ácido (Hassid y col., Journal of the American Chemical Society, 63: 295-298, 1941). Los procedimientos mejorados para el aislamiento de un extracto de β -glucano insoluble en agua purificado se desvelan en la Patente de Estados Unidos n.º 5.223.491. Otro procedimiento de producción de partículas de glucano completas se desvela en la Patente de Estados Unidos n.º 4.992.540, la cual se incorpora en el presente documento por referencia como si se describiera en su totalidad. Los procedimientos para la preparación de β -glucano microparticulado se desvelan en la Patente n.º 5.702.719, la divulgación de la cual se incorpora en el presente documento por referencia como si se describiera en su totalidad. El producto de β -glucano microparticulado se puede obtener con el tamaño de partícula promedio de aproximadamente 1,0 micrómetros o menor, o aproximadamente 0,20 micrómetros o menor.

- El tamaño de las partículas de β -glucano microparticuladas puede reducirse mediante medios mecánicos tales como, por ejemplo, con mezclador, microfluidizador, o molino de bolas. Por ejemplo, el tamaño de partícula se puede reducir utilizando un mezclador que tenga palas romas, en el que la mezcla de glucano se mezcla durante una cantidad de tiempo suficiente, preferentemente varios minutos, para triturar de forma completa las partículas hasta el tamaño deseado sin sobrecalentar la mezcla. Otro procedimiento de trituración comprende triturar la mezcla de glucano en un molino de bolas con bolas de trituración de acero inoxidable de 10 mm. Este último procedimiento de trituración es particularmente preferente cuando se desea un tamaño de partícula de aproximadamente 0,20 micrómetros o menos.

- Preferentemente, antes de la trituración la mezcla de glucano se pasa a través de una serie de tamices, teniendo cada tamiz sucesivo un tamaño de malla menor que el anterior, siendo el tamaño de malla final de aproximadamente 80. El fin del tamizado de la mezcla es separar las partículas de glucano más grandes y de más recorrido de las partículas más pequeñas (el tamaño de poro de un tamiz de malla de 80 es de aproximadamente 0,178 mm). Después, se trituran las partículas más grandes separadas como se describe anteriormente y se vuelven a tamizar hasta un tamaño de malla final de 80. El procedimiento de tamizado y de trituración se repite hasta que se obtiene un tamaño de malla final de 80. Las partículas tamizadas se combinan y se trituran adicionalmente, preferentemente durante por lo menos una hora, hasta que se obtiene el tamaño de partícula deseado, preferentemente de aproximadamente 1,0 micrómetros o menos, más preferentemente de aproximadamente 0,20 micrómetros o menos. Durante el procedimiento de trituración se toman muestras periódicas del glucano triturado fino y se miden utilizando un micrómetro o un microscópio.

- Otra forma de beta-glucano más procesada que puede utilizarse con la presente invención es el beta-glucano soluble. El beta-glucano soluble se prepara a partir de beta-glucano particulado a través de una serie de etapas de tratamiento ácidas, alcalinas y neutras para producir la preparación de glucano soluble triple helicoidal. Los procedimientos de producción de PGG son conocidos en la técnica y se desvelan en las Patentes de Estados Unidos n.º 5.322.841, 5.811.542, 5.663.324, 5.633.369 y 5.817.643 y en las Solicitudes de Patente de Estados Unidos n.º 12/151.666 y 11/818.741. Los glucanos solubles producidos mediante este procedimiento son polímeros ramificados de glucosa, que contienen enlaces $\beta(1-3)$ y $\beta(1-6)$ en proporciones variables que dependen del organismo fuente y de las condiciones de procesamiento precisas utilizadas. El peso promedio de las moléculas de

PGG-glucano es en general de aproximadamente 5.000 a 500.000 daltons.

Las formulaciones orales adecuadas para su uso en la práctica de la presente invención incluyen cápsulas, geles, obleas, comprimidos, polvos o comprimidos efervescentes o no efervescentes, polvos o gránulos; como una solución o suspensión en líquido acuoso o no acuoso; o como una emulsión líquida de aceite en agua o una emulsión de agua en aceite. Una formulación adicional es para la entrega por vía intranasal. Los compuestos de la presente invención también pueden presentarse como un bolo, electuario, o pasta.

En general, las formulaciones se preparan mediante la mezcla de forma uniforme del principio activo con los vehículos líquidos o vehículos sólidos finamente divididos, o ambos, y después si es necesario dando forma al producto. Un vehículo farmacéutico se selecciona a base de la vía de administración elegida y de la práctica farmacéutica convencional. Cada vehículo debe ser "aceptable" en el sentido de ser compatible con los otros ingredientes de la formulación y no dañino para el sujeto. Este vehículo puede ser un sólido o un líquido y en general se elige el tipo a base del tipo de administración a utilizar. Los ejemplos de vehículos sólidos adecuados incluyen lactosa, sacarosa, gelatina, agar y polvos a granel. Los ejemplos de vehículos líquidos adecuados incluyen agua, grasas y aceites farmacéuticamente aceptables, alcoholes u otros disolventes orgánicos que incluyen ésteres, emulsiones, jarabes o elixires, suspensiones, soluciones y/o suspensiones, y soluciones y/o suspensiones reconstituidas a partir de gránulos no efervescentes y preparaciones efervescentes reconstituidas a partir de gránulos efervescentes. Tales vehículos líquidos pueden contener, por ejemplo, disolventes adecuados, conservantes, agentes emulsionantes, agentes de suspensión, diluyentes, edulcorantes, espesantes, y agentes de fusión.

Los vehículos preferentes son aceites comestibles, por ejemplo, aceites de maíz o de colza. Los polietilenglicoles, por ejemplo, PEG, también son vehículos preferentes. Las formulaciones para la administración oral pueden comprender un vehículo que no sea tóxico, farmacéuticamente aceptable, inerte, tal como lactosa, almidón, sacarosa, glucosa, metilcelulosa, estearato de magnesio, fosfato de dicalcio, sulfato de calcio, manitol, sorbitol, ciclodextrina, derivados de ciclodextrina o similares.

La composición, si se desea, también puede contener cantidades minoritarias de agentes de humectación o emulsionantes, o agentes tamponadores de pH. La composición puede ser una solución líquida, suspensión, emulsión, comprimido, píldora, cápsula, formulación de liberación sostenida o polvo.

La composición se puede formular como un supositorio, con aglutinantes y vehículos tradicionales tales como triglicéridos. La formulación oral puede incluir vehículos convencionales tales como manitol, lactosa, almidón, estearato de magnesio, polivinilpirrolidona, sacarina de sodio, celulosa, carbonato de magnesio, etc. de calidad farmacéutica. La formulación nebulizada para la inhalación puede incluir cloruro de sodio, sacarina de sodio o sorbitani trioleas, mientras que la inhalación a través de la formulación carbonatada comprimida en un inhalador puede incluir 1, 1, 1, 2-tetrafluoroetano, monofluorotriclorometano, tetrafluorodichloroetano o difluorodichlorometano.

Las cápsulas o comprimidos se pueden formular fácilmente y pueden prepararse para tragarse o masearse de forma fácil. Los comprimidos pueden contener vehículos, aglutinantes, lubricantes, diluyentes, agentes disgregantes, agentes colorantes, agentes saborizantes, agentes fluidificantes o agentes de fusión adecuados. Un comprimido se puede preparar mediante compactación o moldeo, de forma opcional con uno o más ingredientes adicionales. Los comprimidos compactados se pueden preparar compactando el principio activo en una forma fluida (por ejemplo, polvos, gránulos) mezclados de forma opcional con un agente aglutinante (por ejemplo, gelatina, hidroxipropilmetilcelulosa), lubricante, diluyente inerte, conservante, disgregante (por ejemplo, almidón glicolato de sodio, carboximetilcelulosa reticulada) tensioactivo o de distribución. Los aglutinantes adecuados incluyen almidón, gelatina, azúcares naturales tales como glucosa o beta-lactosa, edulcorantes de maíz, gomas naturales y sintéticas tales como goma arábiga, goma de tragacanto, o alginato de sodio, carboximetilcelulosa, polietilenglicol, ceras o similares.

Los lubricantes utilizados en estas formas de dosificación incluyen oleato de sodio, estearato de sodio, estearato de magnesio, benzoato de sodio, acetato de sodio, cloruro de sodio, o similares. Los disgregantes incluyen, por ejemplo, almidones, metilcelulosa, agar, bentonita, goma de xantano, o similares. Los comprimidos moldeados se pueden preparar moldeando en una máquina adecuada una mezcla del principio activo en polvo humedecido con un diluyente líquido inerte.

Los comprimidos opcionalmente pueden recubrirse o realizárseles una ranura y pueden formularse de forma que se proporcione la liberación lenta o controlada del principio activo. También, los comprimidos pueden proporcionarse de forma opcional con un recubrimiento gastrorresistente que proporcione liberación en partes del tracto digestivo que no sean el estómago.

Los vehículos y excipientes farmacéuticos aceptables ejemplares que pueden utilizarse para formular formas de dosificación orales de la presente invención se describen en la Patente de Estados Unidos n.º 3.903.297 para Robert, expedida el 2 de septiembre de 1975, incorporado en el presente documento por referencia en su totalidad. Las técnicas y composiciones para preparar formas de dosificación útiles en la presente invención se describen en las siguientes referencias: 7 Modern Pharmaceutics, Capítulos 9 y 10 (Banker & Rhodes, Editors, 1979); Lieberman

y col., Pharmaceutical Dosage Forms: Tablets (1981): y Ansel, Introduction to Pharmaceutical Dosage Forms 2ª Edición (1976).

5 Las formulaciones adecuadas para la administración parenteral incluyen formulaciones acuosas y no acuosas isotónicas con la sangre del destinatario previsto; y suspensiones estériles acuosas y no acuosas que pueden incluir sistemas de suspensión diseñados para dirigir el compuesto hacia componentes de la sangre o a uno o más órganos. Las formulaciones pueden presentarse en envases sellados de dosis unitaria o de dosis múltiples, por ejemplo ampollas o viales. Las soluciones y suspensiones de inyecciones extemporáneas se pueden preparar a partir de polvos, gránulos y comprimidos estériles del tipo anteriormente descrito. Las formas parenteral e intravenosa también pueden incluir minerales y otros materiales para hacerlas compatibles con el tipo de inyección o sistema de entrega elegido.

10 Aunque la presente invención se ha mostrado y descrito con referencias a realizaciones particulares, los expertos en la materia comprenderán que se pueden hacer en ella diversos cambios en la forma y detalle, sin apartarse del espíritu y el ámbito de la invención abarcados por las reivindicaciones adjuntas.

REIVINDICACIONES

1. Beta-glucano obtenido de levadura para su uso en la reducción de los síntomas de infección del tracto respiratorio superior en sujetos que experimentan estrés físico inducido por el ejercicio intenso o sujetos que experimentan niveles moderados a altos de estrés por el estilo de vida.
- 5 2. Beta-glucano obtenido de levadura para su uso en el aumento del estado de ánimo global en sujetos que experimentan estrés físico inducido por el ejercicio intenso o sujetos que experimentan niveles moderados a altos de estrés por el estilo de vida.
3. El beta-glucano obtenido de levadura para el uso de la reivindicación 1, en el que el beta-glucano se administra diariamente.
- 10 4. El beta-glucano obtenido de levadura para el uso de la reivindicación 1, en el que los síntomas de infección del tracto respiratorio superior incluyen uno o más de congestión nasal, rinorrea, dolor de garganta, estornudos, tos, fatiga, cefalea, malestar general y dolores corporales.
5. El beta glucano obtenido de levadura para el uso de la reivindicación 1, en el que el beta-glucano es beta-glucano particulado.
- 15 6. El beta glucano obtenido de levadura para el uso de la reivindicación 2, en el que el beta-glucano se administra diariamente.
7. El beta-glucano obtenido de levadura para el uso de la reivindicación 2, en la que el estado de ánimo global se relaciona con las intensidades combinadas de tensión-ansiedad, depresión-abatimiento, cólera-hostilidad, fatiga-inercia, vigor-actividad y confusión-desorientación del sujeto.
- 20 8. El beta-glucano obtenido de levadura para el uso de la reivindicación 2, en el que el beta-glucano es beta-glucano particulado.
9. Una composición para su uso en la reducción de los síntomas de infección del tracto respiratorio superior en sujetos que experimentan estrés físico inducido por el ejercicio intenso o sujetos que experimentan niveles moderados a altos de estrés por el estilo de vida, comprendiendo la composición:
- 25 beta-glucano obtenido de levadura formulado para administrarse por vía oral.
10. La composición para el uso de la reivindicación 9, en la que el beta-glucano es uno de beta-glucano particulado o beta-glucano soluble.
11. La composición para el uso de la reivindicación 9, en la que el estrés por el estilo de vida está relacionado con factores físicos y psicológicos.
- 30 12. Una composición para su uso en el aumento del estado de ánimo global en sujetos que experimentan estrés físico inducido por el ejercicio intenso o sujetos que experimentan niveles moderados a altos de estrés por el estilo de vida, comprendiendo la composición:
- beta-glucano obtenido de levadura formulado para administrarse por vía oral.
13. La composición para el uso de la reivindicación 12, en la que el beta-glucano es uno de beta-glucano particulado o beta-glucano soluble.
- 35 14. La composición para el uso de la reivindicación 12, en la que el estrés por el estilo de vida está relacionado con factores físicos y psicológicos.
15. Beta-glucano obtenido de levadura para complementación nutricional, para su uso en la reducción de los síntomas de infección del tracto respiratorio superior en sujetos que experimentan estrés físico inducido por el ejercicio intenso o sujetos que experimentan niveles moderados a altos de estrés por el estilo de vida.
- 40 16. Beta-glucano obtenido de levadura para complementación nutricional, para uso en el aumento del estado de ánimo global en sujetos que experimentan estrés físico inducido por el ejercicio intenso o sujetos que experimentan niveles moderados a altos de estrés por el estilo de vida.

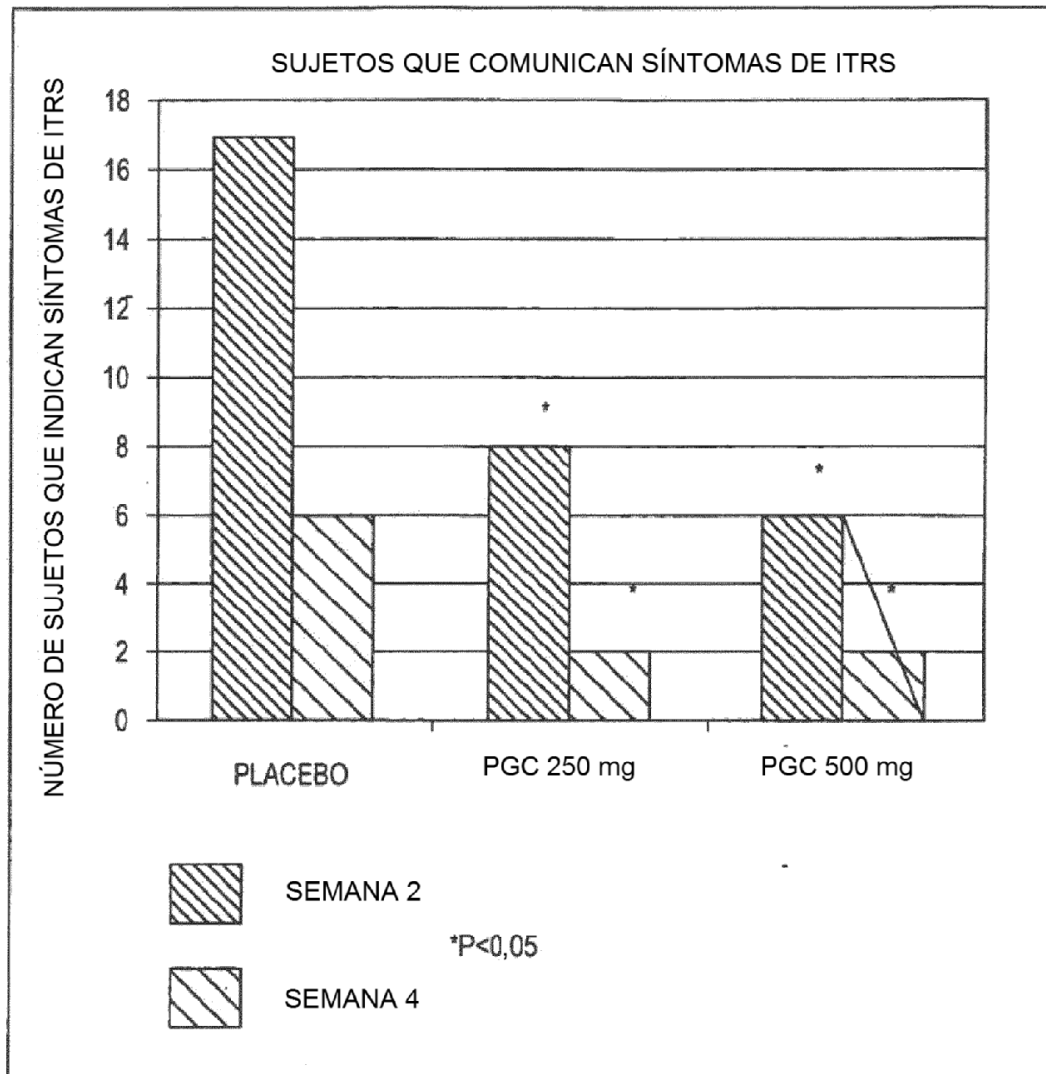


FIG. 1

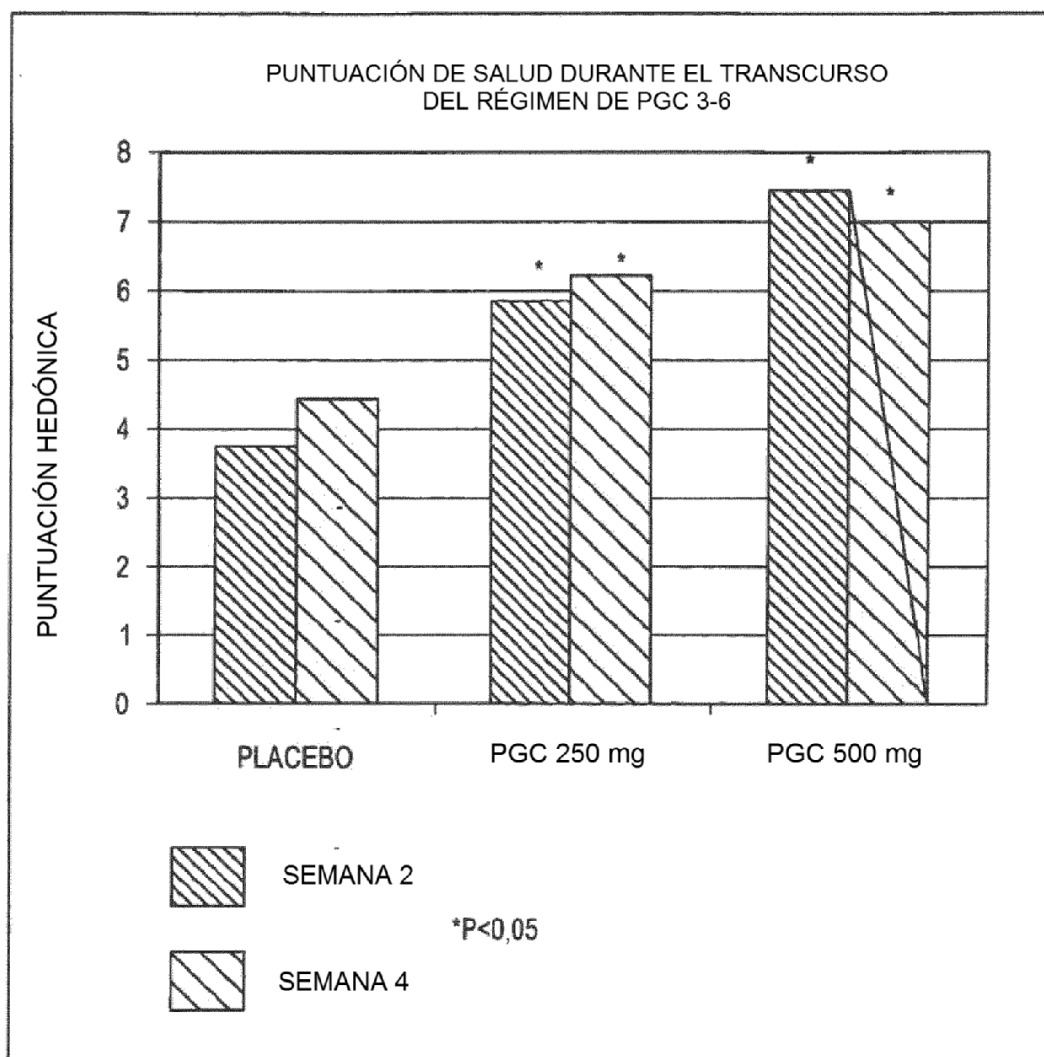


FIG. 2

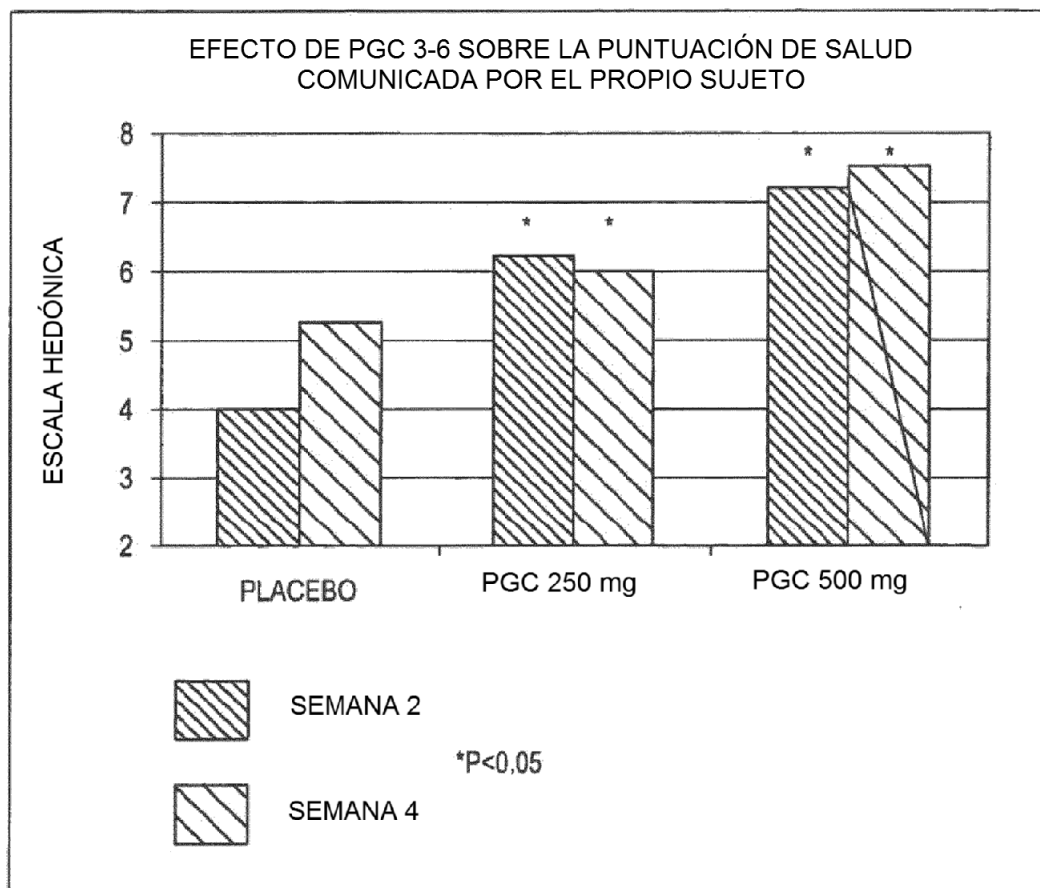


FIG. 3

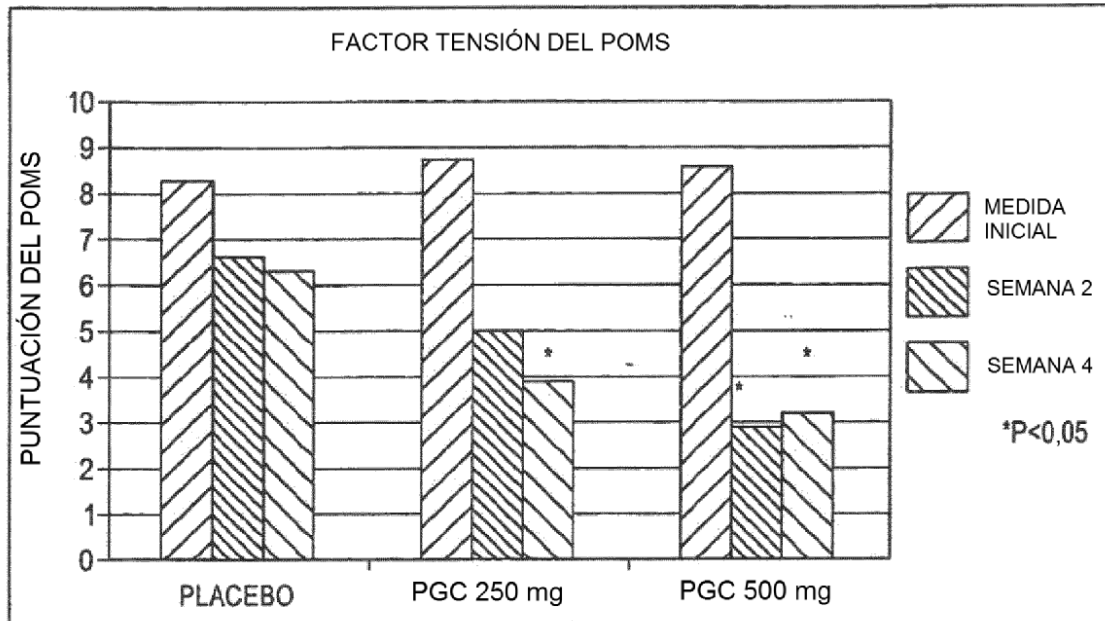


FIG. 4A

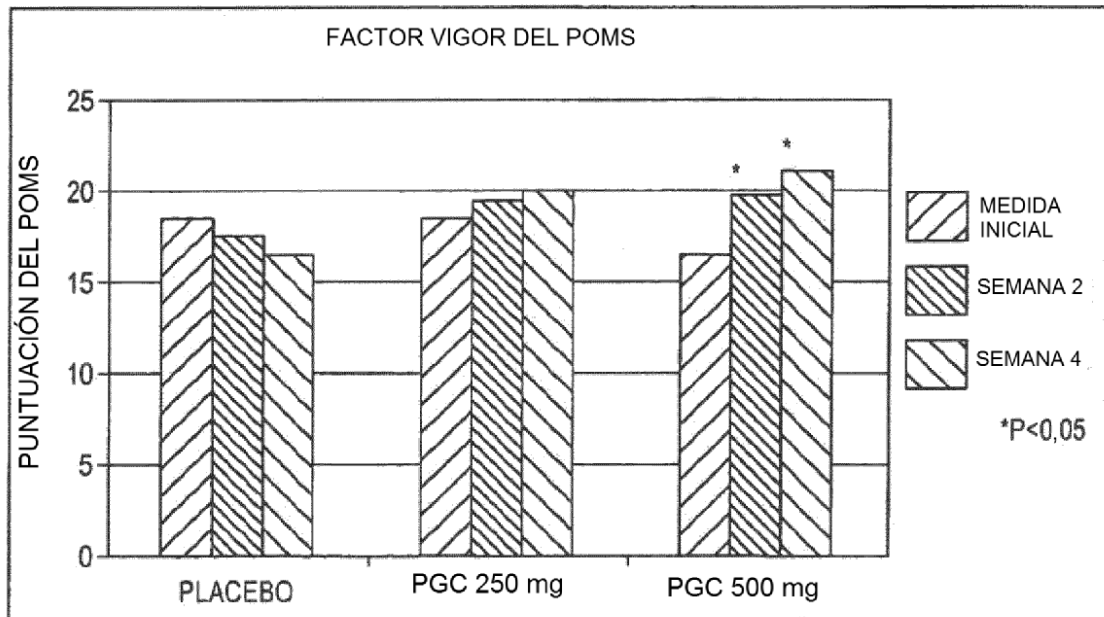


FIG. 4B

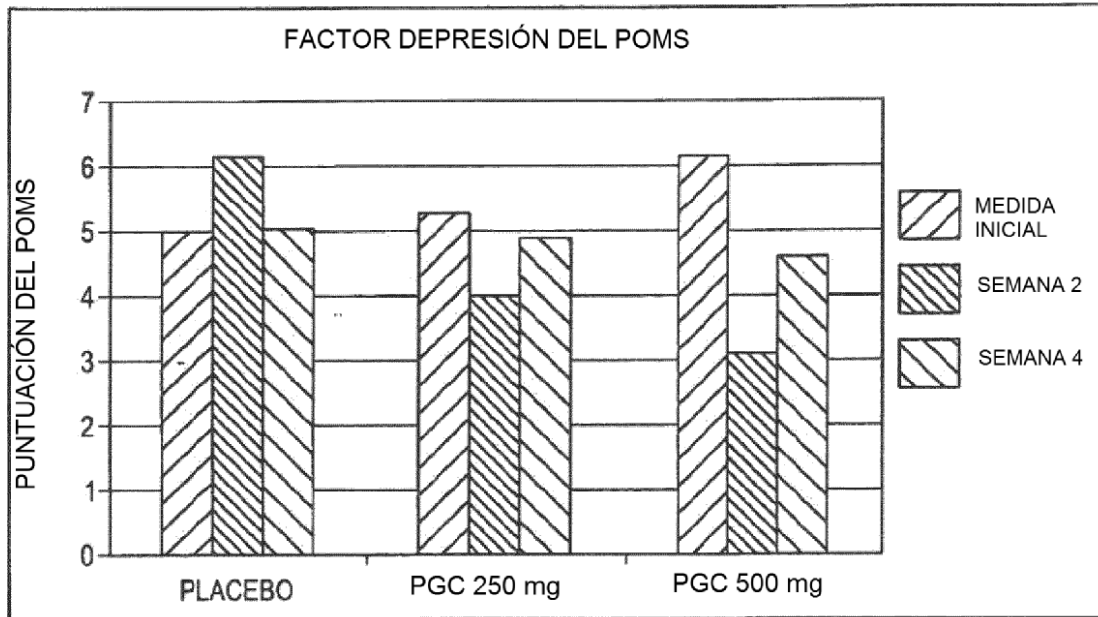


FIG. 4C

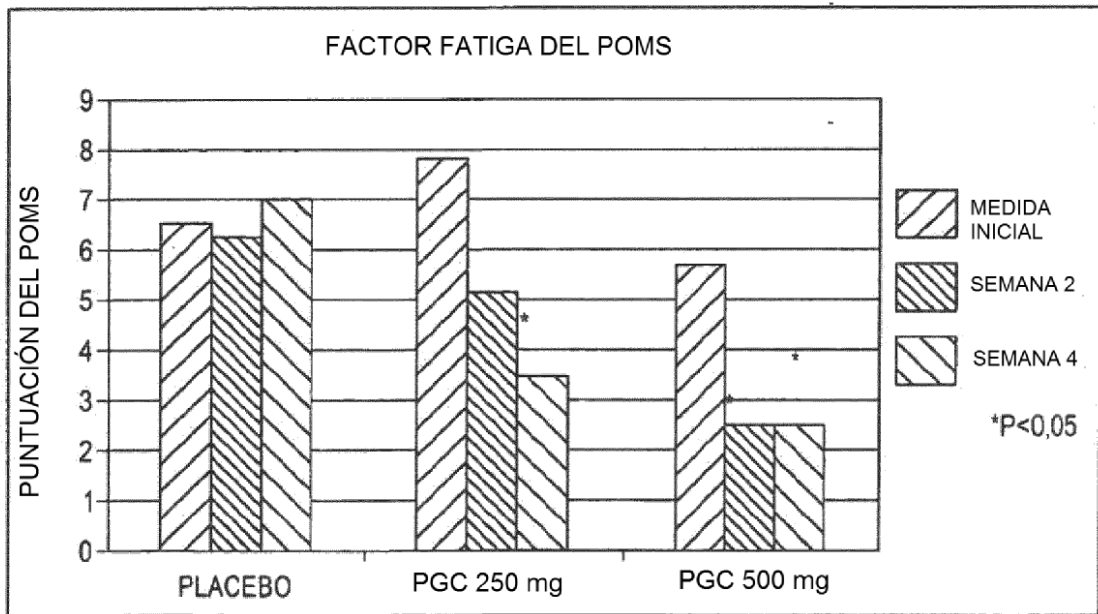


FIG. 4D

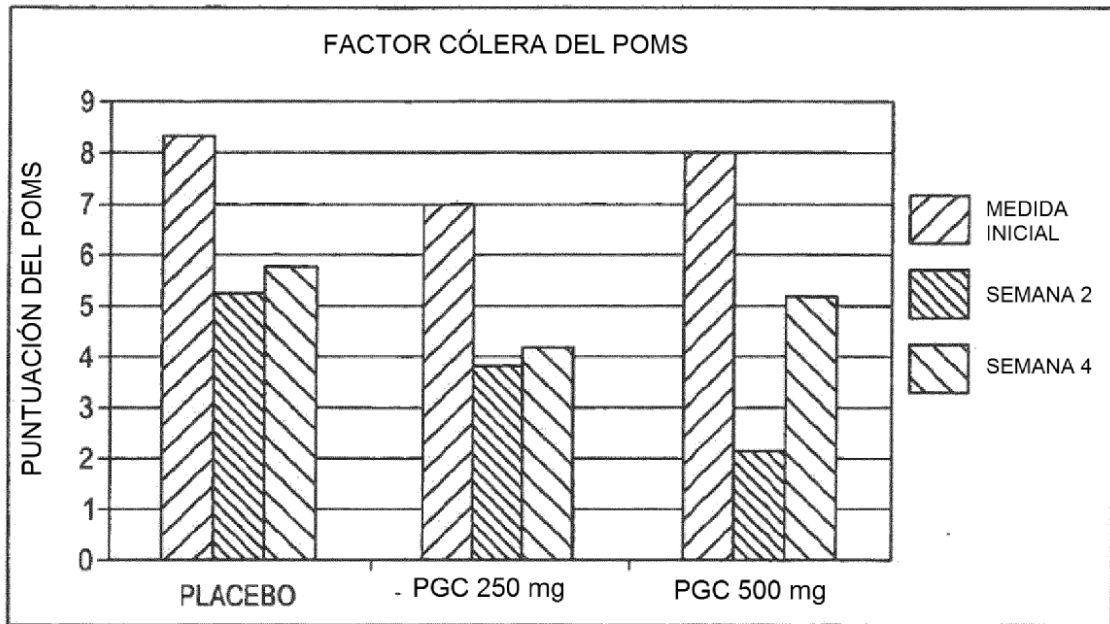


FIG. 4E

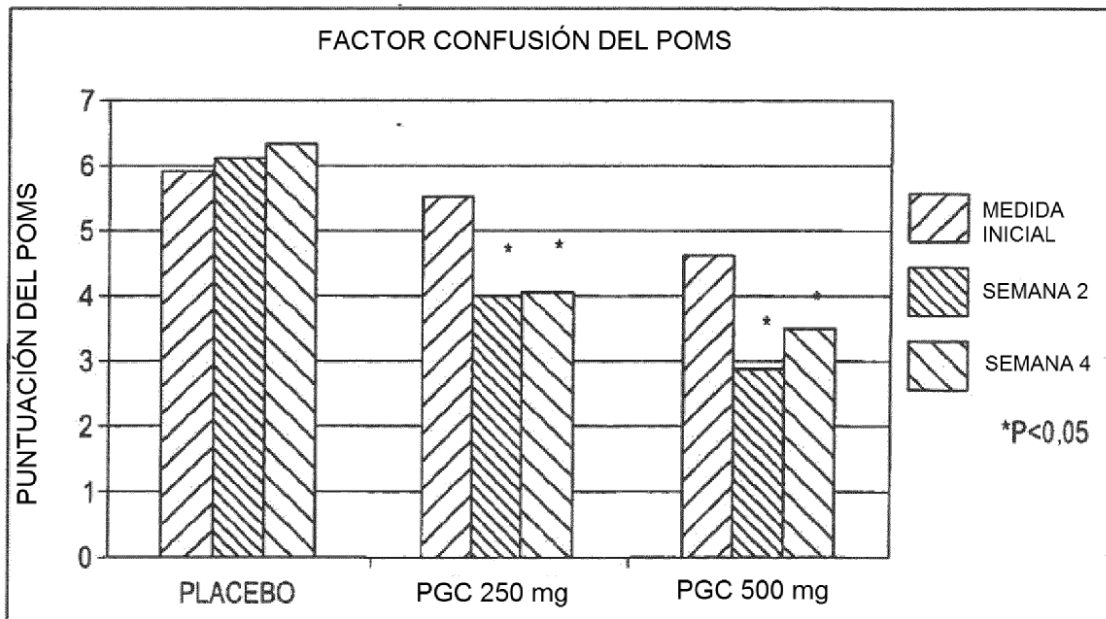


FIG. 4F

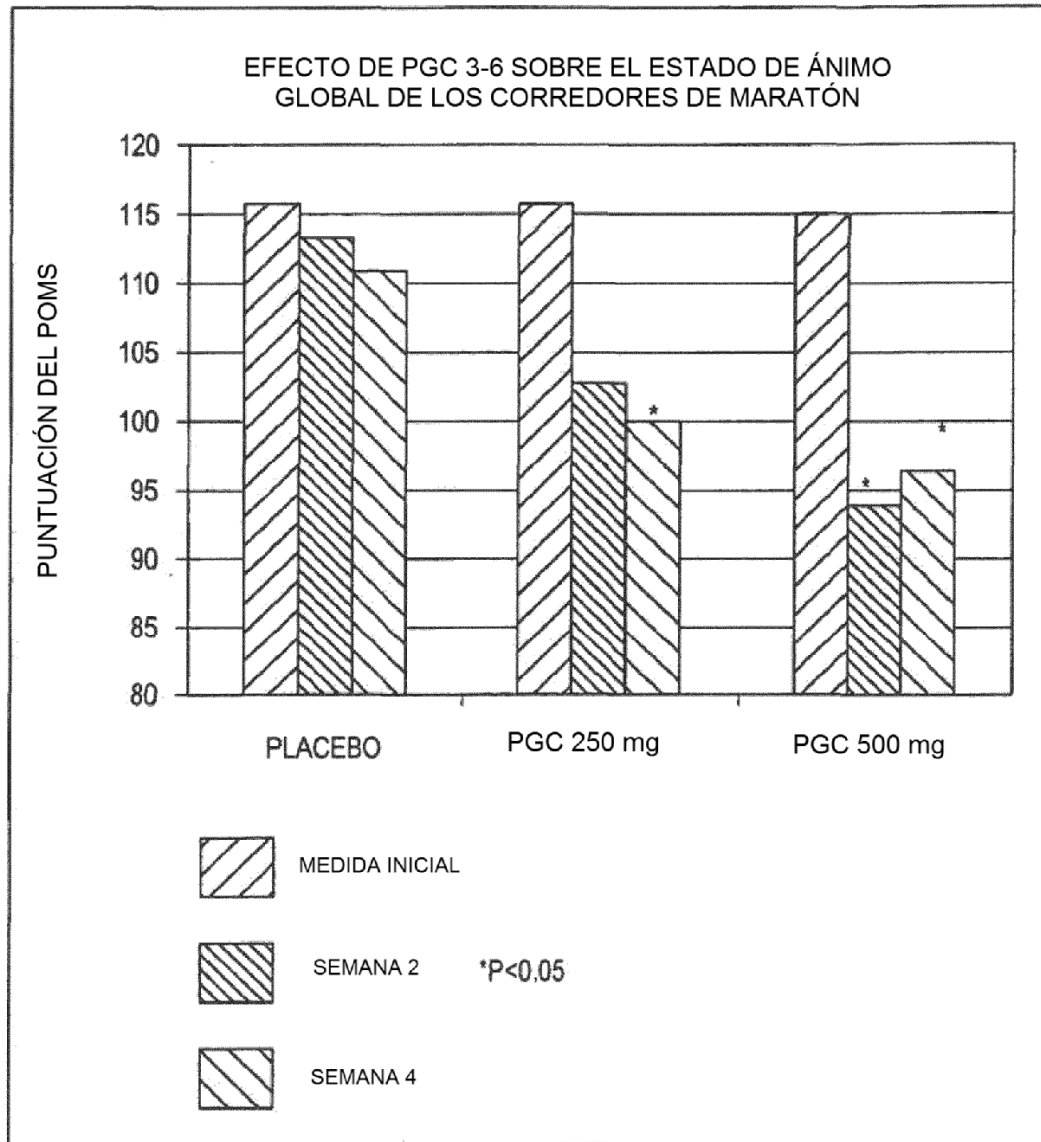


FIG. 5

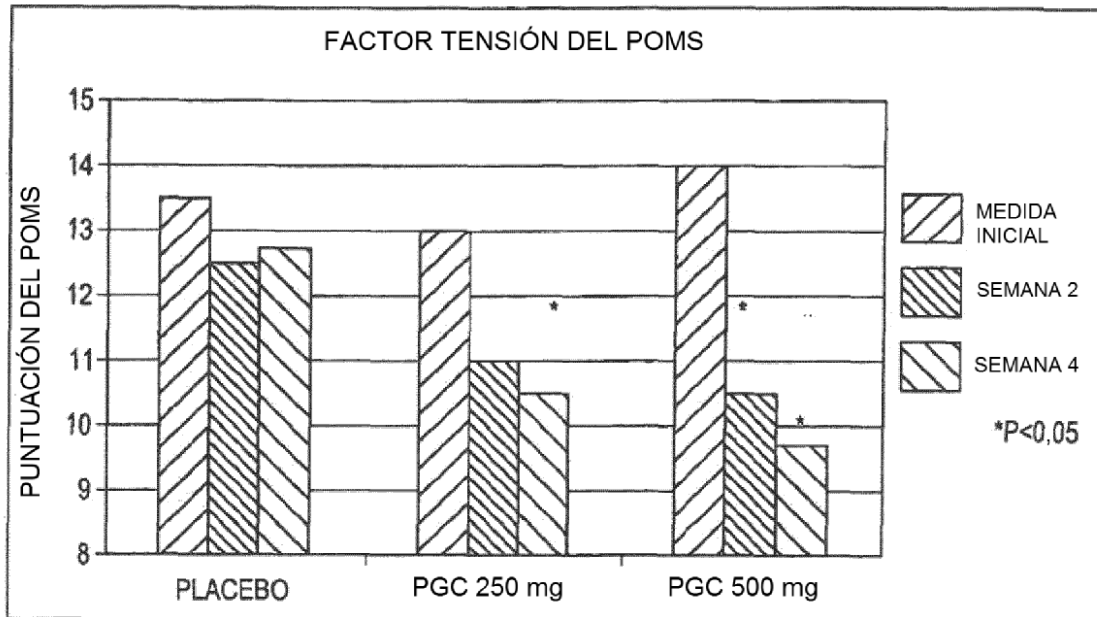


FIG. 6A

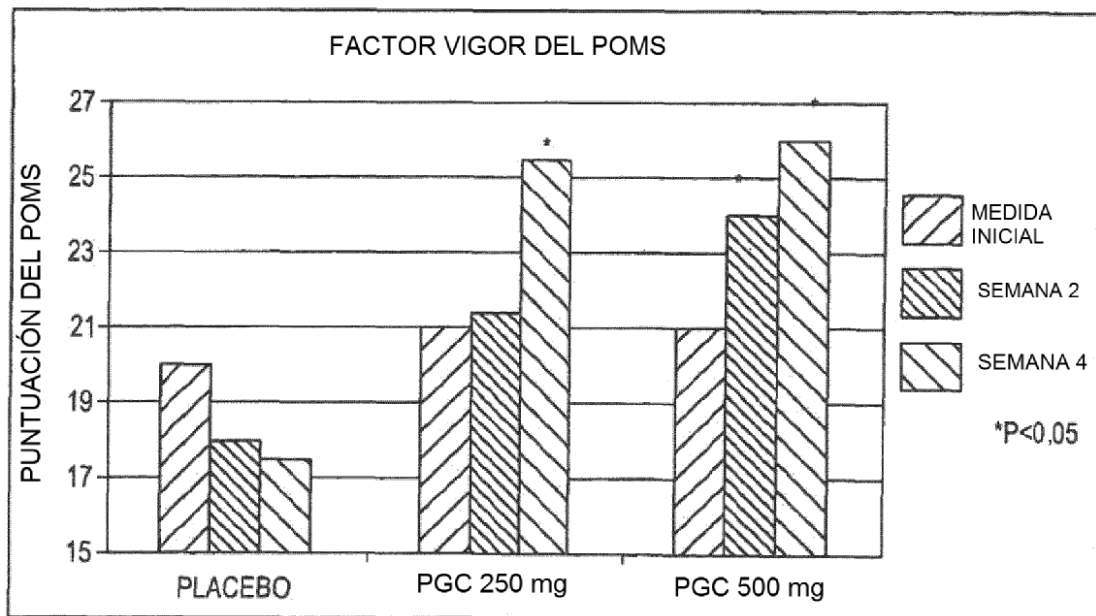


FIG. 6B

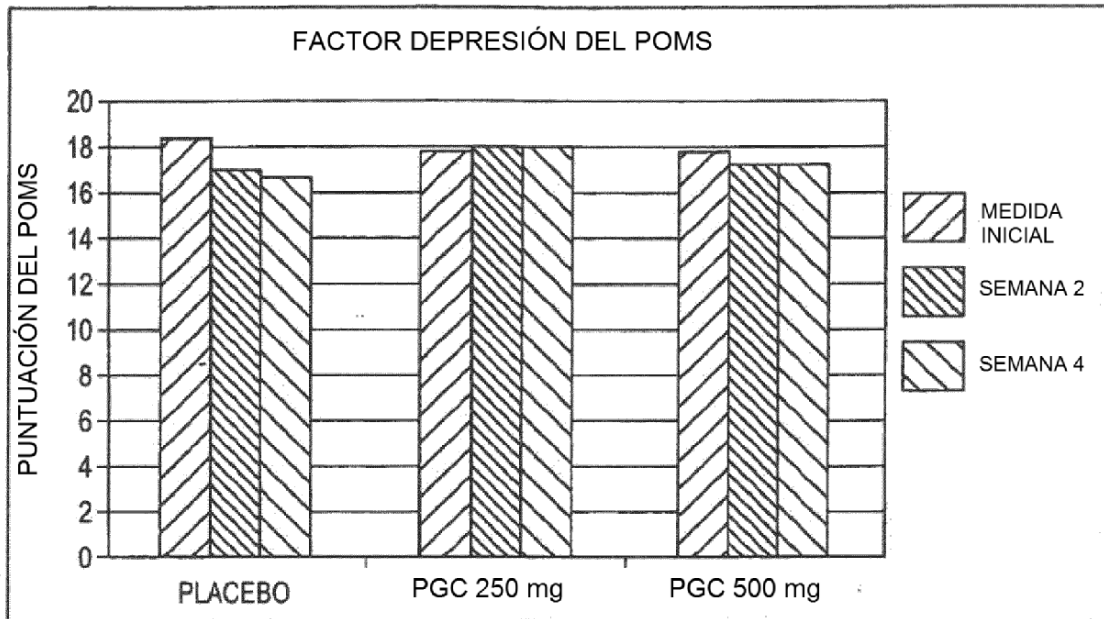


FIG. 6C

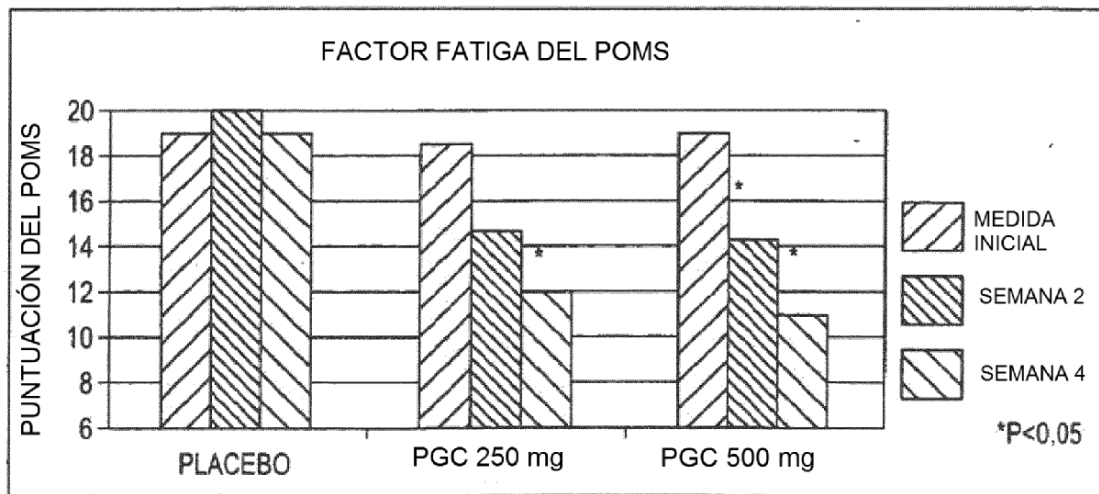


FIG. 6D

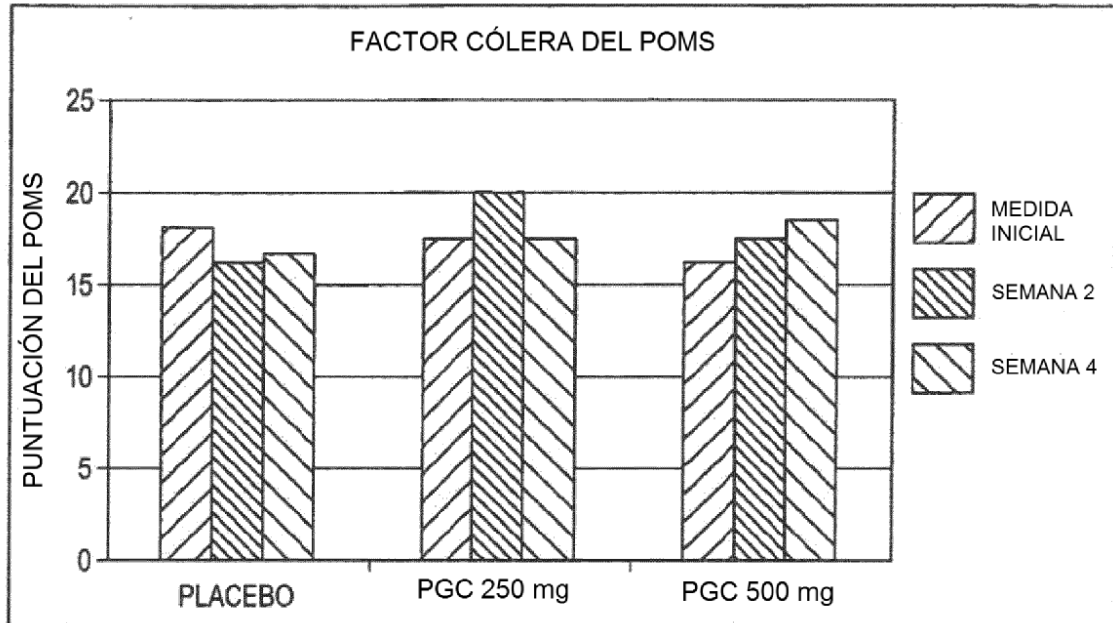


FIG. 6E

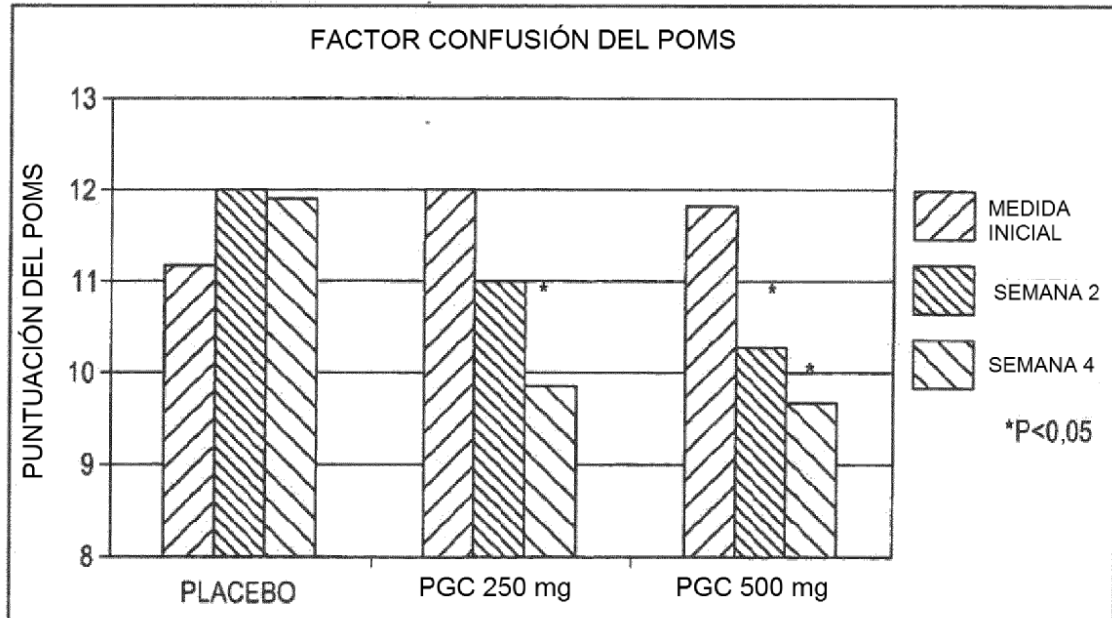


FIG. 6F

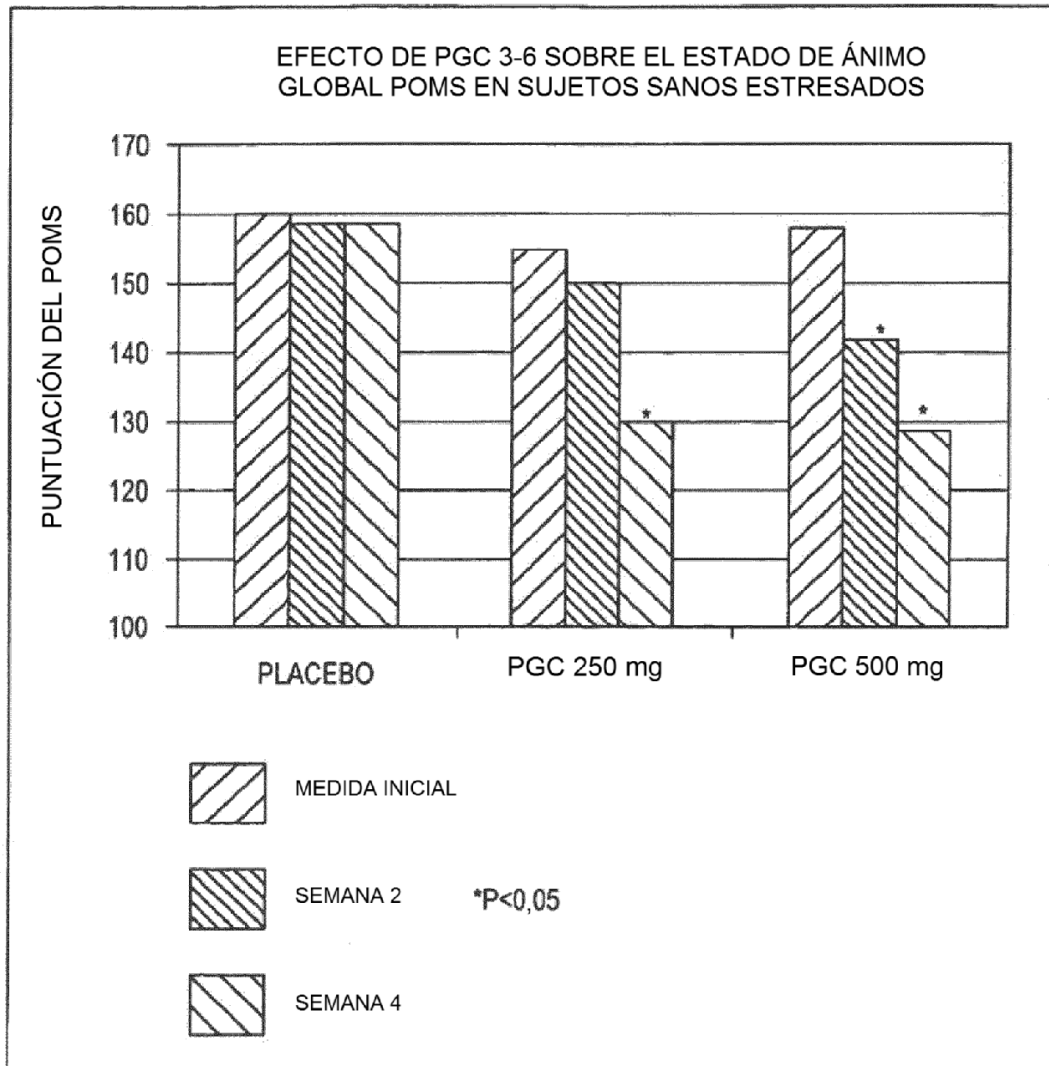


FIG. 7