

Índice

1.	Introducción.....	2
1.1	Definición de endometriosis.....	2
1.2	Definición de disbiosis	3
1.3	Relación entre la endometriosis y disbiosis.....	3
1.4	Disrupción de barreras por microbios específicos. Disbiosis.....	4
1.5	¿Qué son los probióticos?.....	7
2.	Hipótesis	8
3.	Objetivos.....	8
4.	Material y métodos	9
4.1	Diseño del estudio	9
4.1.1	Sujetos del estudio.....	10
4.1.2	Variables	10
4.1.3	Intervención a estudio	11
4.2	Desarrollo del estudio.....	11
4.2.1	Cálculo de tamaño muestral	11
4.2.2	Fase pretratamiento	12
4.2.3	Fase del tratamiento	12
5.	Resultados.....	14
5.1	Endometriosis	14
5.2	Síndrome de intestino irritable	15
5.3	Colitis ulcerosa y enfermedad inflamatoria intestinal	15
5.4	Diabetes	16
5.5	Depresión	17
6.	Discusión y conclusiones	17
7.	Referencias	18

1. Introducción

1.1 Definición de endometriosis

La endometriosis es una enfermedad ginecológica estrógeno-dependiente en la que se producen los procesos patológicos de inflamación crónica y crecimiento del tejido fuera del útero. Es debilitante y parece ser una afectación ginecológica benigna más común en mujeres premenopáusicas, ya que se estima que el 10-15% de las mujeres en edad reproductiva sufren de endometriosis. Siendo una de las condiciones ginecológicas benignas más comunes, la endometriosis es una enfermedad desgastante con efectos perjudiciales sobre el funcionamiento social, ocupacional y psicológico [1]. La prevalencia de esta enfermedad aumenta hasta un 30% en pacientes con infertilidad y hasta 45% pacientes con dolor pélvico crónico. Es una patología benigna estrógeno dependiente, pero de alta agresividad y dolor, que se caracteriza por crecimiento progresivo e invasivo, recurrencia y tendencia a la progresión.

La endometriosis tiene varias clasificaciones, entre las cuales, la más utilizada en las publicaciones científicas es la ASRM [2] que diferencia cuatro estadios en función de la gravedad, cantidad, ubicación, profundidad y tamaño de los crecimientos, siendo estos: estadio I, estadio II, estadio III (enfermedad moderada) y estadio IV (enfermedad severa), este último grado implica una infiltración de tejido endometrial de 5 mm o más en profundidad de peritoneo u otros órganos. Sin embargo, esta clasificación no es perfecta, ya que se trata de una clasificación quirúrgica, que no tiene éxito en la predicción de los resultados clínicos, no correlación con el grado de dolor ni predice la fertilidad.

A pesar de su prevalencia, la enfermedad sigue siendo mal entendida y su biología no está clara. La patogénesis sigue siendo desconocida, lo que conlleva a un retardo en el diagnóstico y a la ausencia de tratamientos específicos para la endometriosis. Se conocen varias teorías que podrían explicar el origen de la enfermedad, entre las que destaca la teoría de la menstruación retrógrada de Sampson, según cual, la sangre menstrual fluye retrógradamente a través de las trompas de Falopio hacia la cavidad peritoneal [3].

Los estudios actuales indican que no hay una correlación entre la extensión de la enfermedad y los síntomas que presentan las pacientes. Actualmente, no existen biomarcadores sanguíneos para diagnosticar la endometriosis y no hay un tratamiento único que sea altamente exitoso. La terapia hormonal ha demostrado una eficacia relativamente pobre, lo que ha llevado a la exploración de otras terapias experimentales [4].

Los síntomas comunes de la endometriosis son el dolor pélvico y la infertilidad junto con la dismenorrea severa, dolor pélvico cíclico y acíclico, disuria cíclica, disquecia y dispareunia, también hay síntomas inespecíficos que pueden causar confusión y solaparse con otras enfermedades tanto ginecológicas, como de otras áreas (frecuentemente intestinales). Estos síntomas incluyen molestias intestinales inespecíficas, diarrea cíclica, pero también estreñimiento, náuseas, vómitos y epigastralgia. Parece que además de los síntomas

intestinales generales, también hay síntomas específicos relacionados con la endometriosis como hinchazón cíclica del abdomen, conocido como endo-belly [5].

1.2 Definición de disbiosis

La disbiosis, se refiere a una interrupción o cambio en la composición de la microbiota que puede estar asociada a la enfermedad, y en dicho cambio se refleja una reducción en la diversidad de la microbiota [6].

Dentro del estudio de la endometriosis nos encontramos con estudios que asocian la endometriosis con la disbiosis. La disbiosis es el desequilibrio o deterioro de la microbiota, caracterizado por la ganancia de microbios patógenos o la pérdida de probióticos. El desequilibrio de la composición de la microbiota del intestino y del aparato reproductivo alteran la función inmune normal, lo que produce una elevación de citoquinas proinflamatorias, compromete la inmunovigilancia y altera perfiles celulares, todo ello en conjunto puede contribuir a la patogénesis de la endometriosis ocasionando un estado crónico de inflamación creando una adherencia angiogénica y condicionando la aparición y progresión de la endometriosis a estadios más avanzados [4].

1.3 Relación entre la endometriosis y disbiosis

La disbiosis en el contexto de la endometriosis hace referencia a la alteración en la microbiota del útero e intestino que puede influir en su salud, en su funcionamiento y ser causa de infertilidad [7].

Dado que la microbiota comensal intestinal juega un papel esencial en la regulación de la inmunidad intestinal, la microbiota afecta a la barrera epitelial regulando los cambios inducidos por citoquinas. Múltiples líneas de investigación han sugerido que la disfunción de la barrera epitelial puede resultar de la pérdida de especies beneficiosas debido a la disbiosis intestinal. La inflamación producida por las vías de las citoquinas y las células NK además aumentan el estrés oxidativo y cambia las respuestas inmunitarias [8], lo que en consecuencia se ha estipulado que podría ser causa de endometriosis [9][10].

Estudios recientes han demostrado tanto la capacidad de la endometriosis para inducir cambios en la microbiota, como la capacidad de los probióticos y antibióticos para mejorar los síntomas la endometriosis [11]. La microbiota en pacientes con endometriosis se ha asociado con la disminución del dominio de *Lactobacillus*, la especie más abundante, así como con la elevada presencia de bacterias relacionadas (tal como se aprecia en la Figura 1) con la vaginosis bacteriana y otros patógenos oportunistas [12], [13], [14].

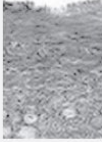

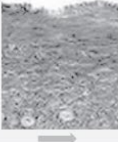
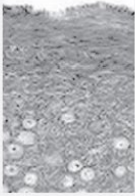
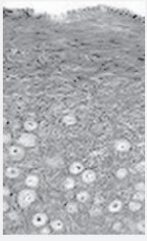

	NEONATA	1 MES	PUBERTAD	MADUREZ SEXUAL	EMBARAZO	MENOPAUSIA
ESTRÓGENOS	++	-	+	++	+++	-
EPITELIO						
GLUCÓGENO	+	-	-+	+	++	-
pH	4-5	7	7-5	4-5	3,5-4,5	6-7
MICROBIOTA	Estéril <i>Lactobacillus</i>	Escaso	Mixto	<i>Lactobacillus</i>	<i>Lactobacillus</i>	Mixto

Figura 1. Fluctuaciones de la microbiota vaginal en función de los cambios fisiológicos que aparecen en las diferentes etapas en la vida de la mujer. Imagen obtenida de [15].

Las posibles explicaciones sobre las implicaciones de la disbiosis en la endometriosis se incluyen dentro de la Teoría de Contaminación Bacteriana y la activación inmune y la función intestinal donde las citoquinas, el metabolismo y la señalización de estrógenos dentro de la vía de la aromatasa, juegan un papel esencial en la homeóstasis e inflamación [16]. Los tratamientos preliminares, antibióticos y probióticos han demostrado eficacia en el tratamiento de la endometriosis, y los análisis de muestras que se han extraído de la microbiota del tracto reproductivo femenino e intestinal podría predecir con éxito el riesgo de padecer la enfermedad. Como la composición filípica de estos cambios fisiológicos a lo largo de la vida de la mujer pueden variar, se puede insinuar que cada persona tiene una relación biológica única con su microbiota intestinal, influyendo así en el riesgo de padecer enfermedad. La composición de la microbiota intestinal en los procesos fisiológicos también cambia con la edad, implicando resultados de salud a largo plazo [17].

Actualmente, se están utilizando tratamientos con antibióticos y probióticos/prebióticos para tratar este desequilibrio microbiano, conocido como disbiosis. Sin embargo, aún no existe un protocolo unificado para evaluar o tratar la disbiosis en endometriosis [7][18].

La investigación futura debe tener como objetivo caracterizar la microbiota del tracto reproductivo y aclarar qué tipo de cepa probiótica incluye cada caso teniendo en cuenta los mecanismos detrás de la relación entre la microbiota y la endometriosis [4][8][9].

1.4 Disrupción de barreras por microbios específicos. Disbiosis.

Los patobionts son microbios endógenos benignos que tienen la capacidad, en condiciones de un ecosistema alterado (disbiosis), de generar y desencadenar determinadas patologías incluyendo en la vagina y en el intestino [14]. Dichos microbios intestinales a menudo están sobre expresados en la microbiota de pacientes con trastornos inflamatorios, donde aceleran la inflamación sistémica difundiendo a través de la barrera epitelial para alcanzar el tejido extraintestinal, como se detalla en la Figura 2 [3].

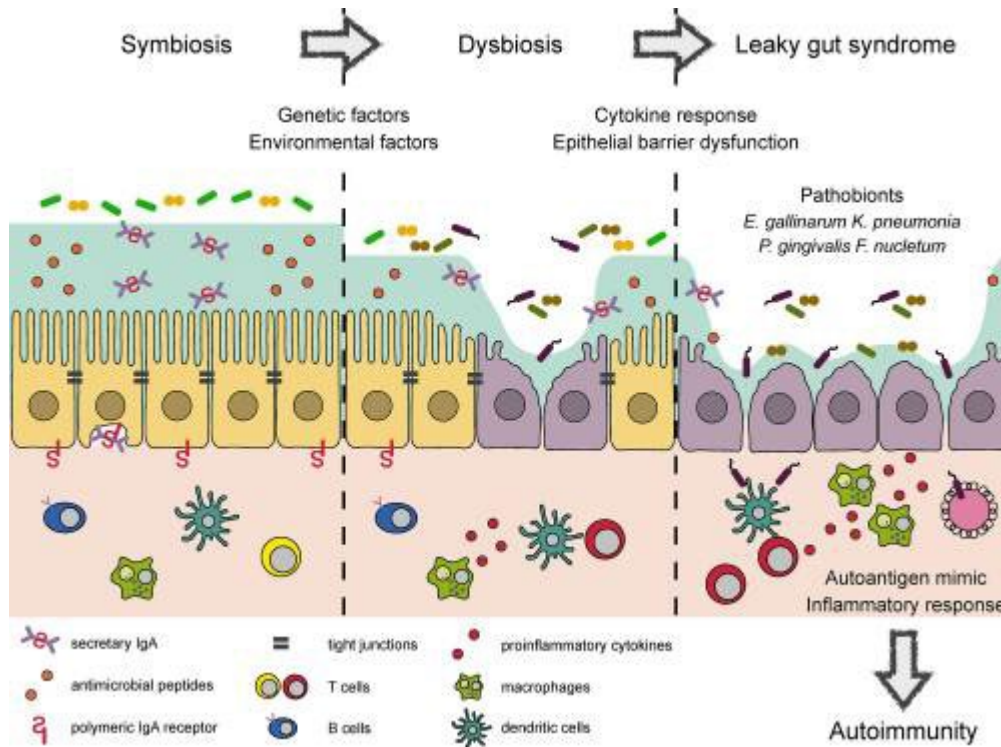


Figura 2. Diagrama conceptual de respuestas autoinmunes inducidas por disbiosis. Varios productos bacterianos refuerzan la barrera epitelial y regulan la respuesta inmune mucosa para mantener la relación simbiótica en el intestino. Factores ambientales como una dieta occidentalizada y medicamentos causan disbiosis, que perjudica la función de barrera epitelial y provoca respuesta proinflamatoria. La adhesión microbiana a las células epiteliales y la inducción de citoquinas proinflamatorias causan inflamación y desequilibrio intestinal. Imagen obtenida de [11].

La microbiota intestinal se refiere a la recolección de billones de microorganismos, incluyendo bacterias, arqueas, virus y hongos. La microbiota intestinal juega un papel crucial en la salud humana y la enfermedad, afectando la inmunomodulación y los procesos inflamatorios [19].

A partir de este hecho se han puesto en marcha varios trabajos de investigación donde se han usado las bacterias gramnegativas que residen en la vagina, como *Escherichia coli*, inyectadas en ratones con endometriosis concluyendo que dichas bacterias podrían estar involucradas en la endometriosis humana [9] y un número creciente de estudios han demostrado que la endometriosis se asocia con cambios del microbioma en el tracto genital [20]. Al tomar muestras de diferentes ubicaciones en el tracto genital femenino, se encontraron diferencias significativas en la microbiota entre los pacientes con endometriosis y el grupo control. Según este estudio *Escherichia coli* es el microorganismo diferencial más

común y reportado del microbioma intestinal en trastornos metabólicos e inflamatorios de manera bidireccional [21][19].

Pacientes con endometriosis tiene mayor predisposición, particularmente enfermedades autoinmunes y enfermedad celíaca, que a menudo están latentes. Se ha demostrado la coexistencia de endometriosis con lupus sistémico [22], síndrome de Sjögren [23], artritis reumatoide [24][25], tiroiditis autoinmune y asma [26], esclerosis múltiple [27], enfermedad celíaca [28] [29] y enfermedad inflamatoria intestinal [30], depresión [31]. Aunque no hay datos convincentes sobre un posible mecanismo causal que vincule estas patologías con la endometriosis o sobre una causa común que subyace a estos trastornos, se postula que la regulación inmune deteriorada es un sustrato combinado y común para la endometriosis y enfermedades autoinmunes [21]. Además, la autoinmunidad concomitante se asocia con un curso más grave de endometriosis. Los pacientes con endometriosis sufren de enfermedad celíaca tres veces más a menudo que las mujeres sanas [28], [29], [32]. Por lo tanto, una dieta sin gluten podría eliminar la estimulación proinflamatoria adicional en pacientes susceptibles. Debido al notable trasfondo inmune de los trastornos presentes en la endometriosis y afecciones asociadas los estudios indican que la inmunoterapia puede constituir un abordaje prometedor y una dirección útil en el tratamiento de esta condición. Además, la inmunoterapia puede ser el primer tratamiento no invasivo eficaz de la infertilidad relacionada con la endometriosis, ya que los medicamentos hormonales estándar no mejoran la fertilidad y no pueden utilizarse en pacientes que intentan quedarse embarazadas [13]. Las modalidades terapéuticas de endometriosis, así como, la infertilidad asociada a la endometriosis [33], que se discuten en este trabajo, se resume en la Figura 3.

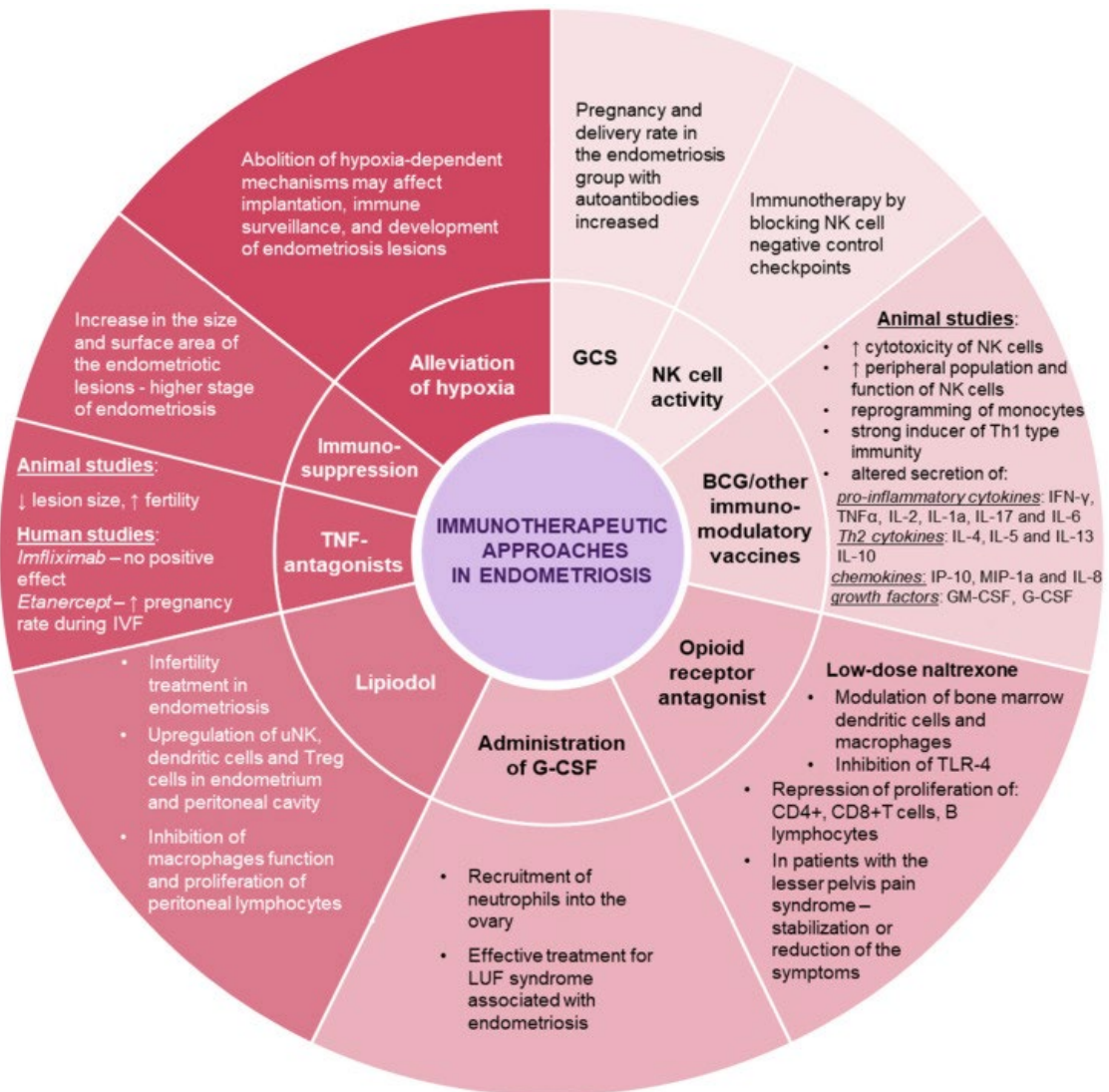


Figura 3. Representación de los enfoques terapéuticos que pueden modular el sistema inmunitario en la endometriosis. Fuente de información de la imagen [7].

1.5 ¿Qué son los probióticos?

Los probióticos, prebióticos o simbióticos en la dieta son microorganismos que favorecen la salud y el equilibrio de la microbiota intestinal. Estos microorganismos se encuentran en forma de productos lácteos, verduras crudas, vegetales, en la fruta y en los alimentos fermentados. En 2007, expertos de la Organización Mundial de la Salud describieron los prebióticos como un componente modulador de la microbiota que se obtiene a través de la alimentación y es beneficioso cuando lo consumen [34].

Una alternativa a la ingesta de pro y prebióticos con los alimentos es en forma de comprimidos o polvo de venta en farmacias y parafarmacias [35]. Uno de los principales efectos que ejercen los probióticos sobre la salud es la mejora de la inmunidad [17]. Los microorganismos probióticos pueden ser diversos, algunos ejemplos son lactobacilos Plantarum, Lactobacillus Reuteri, Bifidobacterium Adolescentis y Bifidobacterium pseudocatenulatum. Los probióticos

son productores naturales de vitaminas del grupo B y en el caso de las personas que sufren de endometriosis son particularmente importantes porque en estos pacientes esta vitamina presenta niveles bajos [34].

Los microorganismos probióticos también pueden producir ciertos tipos de enzimas, como esterasa, lipasa y coenzimas A, Q, NAD y NADP. El uso de prebióticos es beneficioso en pacientes con endometriosis, especialmente en pacientes con endometriosis en etapa avanzada, debido al estado de disbiosis frecuente en este tipo de pacientes [36].

2. Hipótesis

La administración combinada de probióticos *Lactobacilos Plantarum*, *Lactobacillus Reuteri*, *Bifidobacterium Adolescentis* y *Bifidobacterium pseudocatenulatum* pueden mejorar la calidad de vida y disminuir el dolor en mujeres con endometriosis profunda.

3. Objetivos

1. Demostrar que existe una mejora en la calidad de vida de pacientes con endometriosis mediante la escala EHP-5 que estima la calidad de vida media en pacientes con endometriosis. La escala EHP-5, en una escala de que va de 0 a 100, donde 0 es la mejor calidad de vida y 100 es la peor calidad de vida. Se pretende demostrar que existe una mejoría de al menos 15 puntos en la calidad de vida llegando a un promedio de 35 puntos en el grupo de intervención.
2. Administrar varias cepas probióticas en mujeres con endometriosis y cuantificar la disminución de la inflamación, estreñimiento y otros síntomas intestinales.
3. Emplear la escala EVA para verificar si la disminución del dolor es de al menos 2 puntos en pacientes tratadas con probióticos respecto a pacientes tratadas únicamente con placebo.
4. Cuantificar la microbiota antes, durante y después de la administración de las cepas probióticas y verificar la disminución de las cepas patógenas del intestino y del endometrio.
5. Encontrar las principales diferencias y analizar el antes y el después del tratamiento el microbioma de dos grupos de mujeres con endometriosis.

6. Crear dos grupos homogéneos de 50 pacientes cada uno, a las que se les administrará durante 6 meses un anticonceptivo y además: al primer grupo se le administrará un probiótico compuesto por la combinación de cepas *Lactobacilos Plantarum*, *Lactobacillus Reuteri*, *Bifidobacterium Adolescentis* y *Bifidobacterium pseudocatenulatum* y, al segundo grupo, se le administrará un placebo.
7. Determinar si existe evidencia científica que avale la efectividad de la suplementación con probióticos en mujeres diagnosticadas con endometriosis.

Palabras clave

Endometriosis, disbiosis, microbiota, probiótico, *Lactobacillus*.

Revisión bibliográfica

Para realizar el pre-estudio se ha llevado a cabo una revisión bibliográfica de los artículos científicos y revisiones sistemáticas en la base de datos PubMed con fecha de publicación igual o posterior al año 2010 con las siguientes keywords: "Endometriosis" AND "Disbiosis". "Physiology" OF "Endometriosis". "Pathogenesis Deep Endometriosis". "Probiotics" AND "Endometriosis". "Inflammation" AND "Endometriosis". "Microbiome" AND "Endometriosis". "Treatment" AND "Endometriosis"

4. Material y métodos

4.1 Diseño del estudio

Se trata de un ensayo clínico aleatorizado cuya hipótesis nula (H0) es:

Se realizará una entrevista basal de pacientes candidatas a participar en el estudio. La visita inicial será necesaria para la inclusión de estudio. Si la paciente cumple criterios para participar, se le tomarán muestras de microbiota endometrial e intestinal. Se aleatorizará a la paciente al grupo intervención o grupo control.

4.1.1 Sujetos del estudio

Criterios de inclusión:

- Pacientes con diagnóstico clínico (ecográfico o por resonancia magnética) de endometriosis
- Firma de consentimiento informado
- Edad mayor o igual a 18 años

Criterios de exclusión:

- Antibioterapia en los 6 meses previos al estudio
- No deseo de participar en el estudio.
- Pacientes discapacitadas o que no comprendan los términos del estudio.
- Ser menor de 18 años
- Barrera idiomática
- Proceso oncológico activo
- Embarazo

4.1.2 Variables

Variables basales (visita 0 meses):

- Medidas demográficas: ciudad de residencia, nivel educativo, estado civil, diagnósticos previos (no enfermedades, endometriosis, resistencia a la insulina, enfermedad inflamatoria pélvica, miomas, quiste ovárico, síndrome de ovario poliquístico, otros)

- Medidas antropométricas: edad, peso, talla, circunferencia de la cintura
- Antecedentes relevantes: historia obstétrica, antecedente de cirugía de endometriosis, antecedente de otras cirugías abdominopélvicas
- Valoración de consumo dietético (FFQ)
- Valoración de adherencia a la dieta (MedScore)
- Sintomatología: Dismenorrea, Dolor pélvico crónico, Disquecia, Dispareunia, Disuria y su intensidad medida por la paciente según la escala numérica (0/10)
- Medida de calidad de vida según escala EHP-5 y EQ-5D-5L
- Deseo gestacional o historia de esterilidad previa
- Tratamiento actual

VARIABLES DE SEGUIMIENTO (al finalizar la intervención, visita 6 meses).

4.1.3 Intervención a estudio

Las pacientes incluidas en el grupo control realizarán el seguimiento según el protocolo asistencial habitual del centro.

4.2 Desarrollo del estudio

El estudio que se llevará a cabo durante 6 meses y contendrá pacientes del Hospital Sant Joan de Reus y pacientes del Hospital Sant Pau de Barcelona, con 100 pacientes diagnosticadas de endometriosis con edad comprendida entre 18 y 45 años, no intervenidas quirúrgicamente, con indicios de microbiota alterada y síntomas digestivos, depresión, estreñimiento y esterilidad.

A las participantes elegidas se les informará que a todas ellas se les administrará el anticonceptivo oral Dienogest 2 mg por la noche antes de acostarse, a 50 se les administrará el probiótico Abiprol Weltmon 30 comprimidos oral (<https://www.welmont.com/paraprobiotico/abiprol-30-caps/>) junto al anticonceptivo y a los 50 pacientes restantes un placebo compuesto de un suero carente de actividad junto al anticonceptivo por la noche antes de acostarse.

4.2.1 Cálculo de tamaño muestral

Dado que la variable principal es observar mejoría en la calidad de vida, se han utilizado datos existentes en la bibliografía para realizar una aproximación del cálculo muestral. Estudios previos han reportado, que ambas escalas son equivalentes entre sí, por lo que nos hemos basado en la mediana de la escala EHP-5 que es de aproximadamente 50 puntos, según la bibliografía revisada (mediana de la escala EHP-5=50 y desviación estándar=25) y se asume que la mejoría en la calidad de vida podría ser de al menos 15 puntos (por tanto, la puntuación en la escala EHP-5 bajaría al menos a la puntuación de 35 en el grupo de intervención). Por tanto, aceptando un riesgo alfa 0.05 y un poder estadístico superior a 0.8 en un contraste bilateral se precisan 49 pacientes el grupo de intervención y 49 pacientes en el grupo control para detectar una diferencia igual o superior a 15 puntos. Se asume que la desviación estándar común es de 25 y la tasa de pérdidas de seguimiento se estima alrededor de un 10%.

4.2.2 Fase pretratamiento

Las pacientes elegidas que hayan aceptado entrar en el estudio deberán firmar un consentimiento informado que se comprometen a cumplir con el tratamiento y a rellenar los ítems.

Antes de comenzar el estudio las pacientes tendrán que someterse a las siguientes pruebas:

- Historia clínica completa.
- Ecografía transvaginal prueba diagnóstica de primera línea que servirá para ilustrar los hallazgos ecográficos de la endometriosis profunda de las pacientes. Deben valorarse recto y colon sigmoide, tabique rectovaginal, ligamentos útero sacros, útero, anexos, fondo de saco de Douglas, vejiga y uréteres [37].

4.2.3 Fase del tratamiento

Para el desarrollo del estudio se empleará el uso de la prueba diagnóstica “Reacción en Cadena de la Polimerasa con Transcriptasa Inversa” o RT-PCR dentro del laboratorio del Hospital Sant Pau de Barcelona. La RT-PCR es una técnica de laboratorio variante de la PCR, comúnmente usada en biología molecular para generar una gran cantidad de copias de ADN, proceso llamado amplificación o reacción en cadena de la polimerasa [39].

En nuestro estudio la prueba RT-PCR se busca un cambio en la flora intestinal de las bacterias que viven en el intestino y en el endometrio, lo que llamamos disbiosis.

Las pacientes deberán de rellenar un ítem antes y después del tratamiento con preguntas que contendrá la hora de la toma de los fármacos y responder una breve encuesta que identificará si ha habido cambios en el estado de dolor, ánimo, en la inflamación y en las deposiciones.

Recolección de muestras

Todas las participantes proporcionaran muestras de heces en la clínica:

- Recoger un mínimo de 5 ml de muestra de heces frescas en un tubo Falcon de 15 ml y se transfiere rápidamente a -80 °C para almacenarla en posición vertical hasta la extracción del ADN.
- Recolectar hisopos del endometrio luego de la inserción de un espéculo vaginal estéril por parte de uno de los dos ginecólogos con kits eNATTM (606CS01L, Copan Group, Copan Italia). Utilizar dos hisopos y tubos de recolección separados para muestras del endometrio. Los hisopos utilizados para recolectar muestras del endometrio no tocan las paredes vaginales durante la recolección de muestras. La muestra se transfiere inmediatamente a -80°C para almacenarlas en posición vertical hasta la extracción del ADN.

Procesamiento de la muestra: extracción de ácidos nucleicos

Dentro de una misma muestra pueden existir diferentes microambientes con variaciones en la composición de su microbiota, y por ello es muy importante realizar una buena homogeneización mecánica antes de comenzar el proceso de la extracción. También es muy importante disolver completamente la alícuota que se vaya a procesar de la muestra, habitualmente 0,5 g de heces en 5 ml de agua, mediante agitación en vórtex o con la utilización de bolitas de vidrio.

Sin duda, el paso más crítico de todo el proceso es la extracción y purificación de los ácidos nucleicos, habitualmente ADN, ya que se necesita conseguir una buena cantidad y calidad sin arrastrar sustancias que puedan inhibir las subsiguientes reacciones de PCR. Para la extracción existen diferentes protocolos comerciales y manuales con los que, en general, se obtienen buenos resultados.

Una vez finalizada la recolección de muestras, todas son transferidas en hielo seco al laboratorio del Instituto del Hospital Sant Pau de Barcelona para la extracción de ADN. Se pesan las muestras fecales para extraer el ADN total utilizando el mini kit QIAamp DNA taburete (Qiagen®, Hilden, Alemania), de acuerdo con las instrucciones del fabricante. Se utiliza el kit de tejido de ADN Kurabo QuickGene S (DT-S) (Japón) para muestras del endometrio, de acuerdo con las instrucciones del fabricante.

Análisis del microbioma

Las muestras de ADN extraídas se enviarán en hielo seco a FISABIO, Valencia, España, para su posterior análisis.

Se utilizarán un total de 12,5 ng de ADN genómico por muestra para la amplificación bajo las siguientes condiciones de PCR: 5 min de desnaturalización inicial a 94°C seguido de 25 ciclos de desnaturalización (30 s a 94 °C), hibridación (30 s a 52°C) y elongación (1 min a 72°C). Después de la amplificación, los productos se visualizaron en geles de agarosa al 1,4% y se cuantificarán utilizando un fluorómetro Qubit® 3.0 (Thermo Fisher Scientific, Carlsbad, CA, EE. UU.). A continuación, se realizará el paso de multiplexación con el kit de índice Nextera XT (Illumina) uniendo índices duales a ambos extremos de los productos de PCR. Las muestras se agruparán en cantidades equimolares y se secuenciarán en las instalaciones del Servicio de secuenciación de FISABIO mediante un análisis de extremos emparejados de 2×300 pb utilizando el kit de reactivos MiSeq® v3, (Illumina), en un secuenciador MiSeq según las instrucciones del fabricante (Illumina).

Para poder comparar los resultados de diferentes trabajos, es importante conocer las diferentes metodologías y sus sesgos. El proceso de PCR presenta limitaciones, ya que siempre se amplifica más lo más abundante, y se desprecian las poblaciones minoritarias. Es importante también elegir bien los cebadores que se van a utilizar. Los más utilizados amplifican la región V3-V4 del gen ADNr 16S, y fueron elegidos con base en su «universalidad» para la mayoría de las especies bacterianas, aunque recientemente se ha descrito que algunas especies de bifidobacterias y bacterias lácticas no se amplifican con estos cebadores por fallos en la hibridación.

En el estudio de la microbiota basado en la taxonomía del gen del ARNr 16S se cuantifica la abundancia relativa de cada filo, familia o género. Sin embargo, este método presenta un inconveniente importante, ya que este gen tiene diferente número de copias en cada género o especie. Por ejemplo, *Mycobacterium tuberculosis* tiene una única copia del gen, *Helicobacter pylori* tiene 2 copias, *Staphylococcus* tiene 7 copias y, finalmente, *Clostridium beijerinckii* tiene 14 copias.

A pesar de los posibles sesgos y limitaciones técnicas que existen en la secuenciación masiva, estas aproximaciones moleculares son herramientas muy poderosas, que suelen ser reproducibles y permiten determinar cambios estructurales en las comunidades microbianas. Por todo ello, la secuenciación masiva de segunda generación es considerada como la mejor opción para estudiar el microbioma humano.

5. Resultados

Teniendo como referencia los estudios que se detallan a continuación en el pre-estudio actual se buscan resultados parecidos a los estudios que se han llevado a cabo en enfermedades como la endometriosis, colitis ulcerosa, celiaquía, depresión o asma.

5.1 Endometriosis

En esta sección se examina en primer lugar el efecto beneficioso de los probióticos sobre la endometriosis. Una revisión reciente resumió los suplementos dietéticos (es decir, antiinflamatorios, antioxidantes, antiproliferantes e inmunes) utilizados para el tratamiento de la endometriosis [40], [41]. El objetivo de la microbiota intestinal con probióticos, prebióticos y simbióticos puede ser intervenciones dietéticas beneficiosas para ciertos pacientes, incluidos aquellos con endometriosis, osteoporosis y obesidad [42]. Los datos sobre la administración oral de *Lactobacillus* y ácidos grasos poliinsaturados (PUFA) están bien documentados y se presentaron como ejemplos [43]. La administración oral de *Lactobacillus* redujo el crecimiento de las lesiones endométricas del ratón al aumentar la concentración de IL-12 y la actividad celular NK. Los ensayos aleatorios controlados con placebo informaron que la administración oral de *Lactobacillus* ayudó a disminuir el dolor asociado a la endometriosis [44]. Además, se ha notificado que el tratamiento probiótico *Lactobacillus* previene la proliferación de la endometriosis en ratas. Además, una ingesta alta de PUFA omega-3 puede reducir el riesgo de desarrollar endometriosis modulando el estrés inflamatorio y oxidativo [45]. Un modelo de endometriosis de ratón demostró que un tratamiento con PUFA de dosis altas inhibió el crecimiento de la lesión. Por lo tanto, los datos disponibles sugieren el importante papel de los cambios beneficiosos inducidos por suplementos dietéticos en la microbiota intestinal en la salud humana y reducen el riesgo de enfermedades inflamatorias, incluida la endometriosis [46].

5.2 Síndrome de intestino irritable

Los probióticos podrían considerarse como un tratamiento potencial para mejorar los síntomas generales del SII, especialmente el dolor abdominal y la hinchazón, y así mejorar la calidad de vida. En cuanto a los probióticos individuales, los géneros *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Bacillus* podrían ser útiles para tratar los síntomas. Específicamente, la cepa *Bifidobacterium bifidum* arrojó los resultados más eficaces, considerando una dosis más baja y duración del tratamiento ($1 \cdot 10^9$ UFC/día durante cuatro semanas). La combinación de cepas de *Lactobacillus*, *Bifidobacterium* y *Streptococcus* fue llamativa por su papel en aliviar un mayor número de síntomas con una mejor relación entre la dosis ($4 \cdot 10^9$ UFC/día) y la duración del tratamiento (cuatro semanas) [47].

5.3 Colitis ulcerosa y enfermedad inflamatoria intestinal

Estudio realizado en murinos con colitis ulcerosa, la suplementación oral con *Bifidobacterium bifidum* redujo el curso de la enfermedad en temas de edema colónico, daño macroscópico, puntuaciones histológicas, y además pareció prevenir la pérdida de peso. Entre el grupo de ratas con colitis y suplementados también con *Bifidobacterium infantis*, se observaron una reducción de los síntomas, daños más débiles en la arquitectura mucosa, que indicaban el significado protector de los probióticos para células de copa de moco y la capa celular epitelial.

Con base en otro grupo de investigación, la suplementación con *Bifidobacterium bifidum* aumentó significativamente el nivel de IL-10 y redujo el nivel de IL-1 en las secciones de colon, que confirmó el efecto antiinflamatorio [48], [49].

Además de la colitis, se ha encontrado que el microbioma intestinal juega un papel importante en muchas otras enfermedades, como diabetes, obesidad, trastornos neurológicos, alergias, uremia, endometriosis e incluso cáncer. Algunos informes han demostrado que regular el microbioma intestinal puede ser una estrategia eficaz para estos tratamientos de la enfermedad. Se ha demostrado que la administración oral de estos probióticos genéticamente modificados con capas de biofilm podría regular eficazmente la inflamación y la microbiota intestinal para aliviar la colitis aguda en un modelo de ratón [41], [50].

En otro estudio realizado en ratones con cáncer de colon inducido se reportó que metabolitos fecales de ratones sanos inhiban el crecimiento de las células cancerígenas del colon. Las alteraciones del microbioma intestinal son comunes en pacientes con cáncer de colon. Los ratones libres de gérmenes han mejorado la génesis del tumor de colon en un modelo de cáncer de colon asociado a la colitis. Acumulativamente, los datos sugieren que las especies microbianas pueden promover o inhibir el crecimiento del tumor de colon dependiendo del contexto. El papel complejo del microbioma intestinal en cáncer de colon también se destaca por el trabajo que demuestra que las interacciones microbiano-epitelial mantienen la función de barrera intestinal, sostienen el metabolismo y regulan la respuesta inmune sistémica y mucosa [51], [52].

5.4 Diabetes

Los suplementos probióticos actuales recomendados para pacientes diabéticos son principalmente *Bifidobacterium* spp., *Lactobacillus* spp. y las levaduras, que son cultivables, aerotolerantes y se pueden producir en una escala industrial [53].

En otro estudio sobre efectos biológicos de los probióticos, incluyendo *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* sobre intolerancia a la glucosa e insuficiencia renal se han investigado ampliamente en modelos de animales diabéticos. El estudio reporta que la administración de *Lactobacillus plantarum* es útil para aliviar la resistencia a la insulina, la inflamación sistémica y la disfunción de las células en los ratones diabéticos inducidos por la dieta alta en grasa. *Lactobacillus plantarum* redujo el aumento de peso y alivió la resistencia a la insulina al mejorar la prueba oral de tolerancia a la glucosa en la evaluación de índice HOMA-IR en personas con diabetes tipo 2 [54].

El *Lactobacillus fermentum* se ha reportado que mejora la resistencia a la insulina y previene el desarrollo de la diabetes en ratones diabéticos inducidos por dieta alta en grasas y carbohidratos. Además, administración de *Lactobacillus paracasei* mejoró la homeostasis de glucosa y mejoró la vía de señalización de insulina, impidiendo el desarrollo de diabetes tipo 2 [55].

5.5 Depresión

El efecto de los probióticos en la ansiedad y la depresión está siendo ampliamente investigado dado su potencial para ser un tratamiento novedoso. Los ensayos clínicos en humanos han demostrado en general que las terapias probióticas y prebióticas tienen efectos beneficiosos para la salud mental [56]. Por ejemplo, la combinación probiótica de *L. helveticus* y *B. longum*, cuando se administra a voluntarios humanos sanos durante un mes, ha demostrado reducir la angustia psicológica [31].

La mayoría de los estudios incluidos en esta revisión apoyan los efectos beneficiosos de los probióticos. Se ha demostrado una mejoría clínicamente significativa de la puntuación del BDI (17,39 - 11,11) en comparación con placebo (18,18 - 15,55) ($p = 0,042$), después de un uso de 8 semanas de un suplemento probiótico como tratamiento principal [57].

El siguiente estudio [58] basado en mujeres embarazadas que tomaban el probiótico *Lactobacillus rhamnosus* durante 8 semanas antes del parto tenían menos signos de ansiedad y depresión posnatal en comparación con placebo. Además, el estudio hizo un seguimiento con las mujeres después del nacimiento y mostró una asociación entre mayores niveles de ansiedad y depresión y cólicos para lactantes, que indicaba que los suplementos probióticos podrían mejorar el estado de ánimo de la madre aliviando el cólico del bebé.

6. Discusión y conclusiones

La disbiosis en el tracto reproductivo femenino frena la función inmune normal, lo que con lleva a una repuestas inflamatoria elevada de citocinas proinflamatorias, exponiendo la inmunovigilancia y modificando los perfiles de células inmunes. Esta desregulación inmune puede avanzar en un estado crónico de inflamación, propiciando un ambiente ideal para aumentar la adhesión y la angiogénesis, que puede incentivar el círculo vicioso de la aparición y progresión de la endometriosis [59]. Investigaciones recientes han manifestado tanto la capacidad de la endometriosis para inducir cambios en la microbiota, como la capacidad de los probióticos para tratar la endometriosis [60]. En general, en el ambiente de la microbiota donde se desarrolla la endometriosis, se encuentra una disminución de las bacterias beneficiosos y autóctona de *Lactobacillus* la especie dominante [61], *L-Reuteri*[62], *L-Plantarum* [63], *L-Gassei* [64], *L-Adolescentis* [65] y la elevada abundancia de especies exógenas y potencialmente patógenas. La Teoría de Contaminación Bacteriana y la activación inmune, el ambiente intestinal invadido por especies patógenas, un aumento de estrógenos, así como la homeostasis de aromatasa, son posibles teorías sobre cómo se

implica la disbiosis en esta enfermedad [66]. Aunque se han llevado a cabo estudios sobre el tratamiento de la endometriosis con antibióticos y probióticos, los estudios con anticonceptivos y probióticos son escasos [67]. Todavía se requiere una investigación extensa, en particular para caracterizar la microbiota y resaltar los mecanismos detrás de la relación microbiota-endometriosis [68].

7. Referencias

- [1] C. Mehedintu, «Endometriosis still a challenge “Nicolae Malaxa” Clinical Hospital».
- [2] J. Horton, M. Sterrenburg, S. Lane, A. Maheshwari, T. C. Li, i Y. Cheong, «Reproductive, obstetric, and perinatal outcomes of women with adenomyosis and endometriosis: A systematic review and meta-analysis», *Hum Reprod Update*, vol. 25, núm. 5, p. 593-633, set. 2019, doi: 10.1093/humupd/dmz012.
- [3] P. R. Koninckx, A. Ussia, L. Adamyan, A. Wattiez, V. Gomel, i D. C. Martin, «Pathogenesis of endometriosis: the genetic/epigenetic theory», *Fertility and Sterility*, vol. 111, núm. 2, p. 327-340, feb. 2019, doi: 10.1016/j.fertnstert.2018.10.013.
- [4] I. Jiang, P. J. Yong, C. Allaire, i M. A. Bedaiwy, «Intricate connections between the microbiota and endometriosis», *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, núm. 11. MDPI, 1 juny 2021. doi: 10.3390/ijms22115644.
- [5] R. V. Velho, F. Werner, i S. Mechsner, «Endo Belly: What Is It and Why Does It Happen?—A Narrative Review», *Journal of Clinical Medicine*, vol. 12, núm. 22. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), 1 novembre 2023. doi: 10.3390/jcm12227176.
- [6] M. E. Salliss, L. V. Farland, N. D. Mahnert, i M. M. Herbst-Kralovetz, «The role of gut and genital microbiota and the estrobolome in endometriosis, infertility and chronic pelvic pain», *Hum Reprod Update*, vol. 28, núm. 1, p. 92-131, 2022, doi: 10.1093/humupd/dmab035.
- [7] N. M. Molina *et al.*, «New opportunities for endometrial health by modifying uterine microbial composition: Present or future?», *Biomolecules*, vol. 10, núm. 4. MDPI AG, 1 abril 2020. doi: 10.3390/biom10040593.
- [8] G. B. Campos, L. M. Marques, I. S. Rezende, M. S. Barbosa, M. S. Abrão, i J. Timenetsky, «Mycoplasma genitalium can modulate the local immune response in patients with endometriosis», *Fertil Steril*, vol. 109, núm. 3, p. 549-560.e4, març 2018, doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.11.009.
- [9] K. N. Khan *et al.*, «Escherichia coli contamination of menstrual blood and effect of bacterial endotoxin on endometriosis», *Fertil Steril*, vol. 94, núm. 7, p. 2860-2863.e3, 2010, doi: 10.1016/j.fertnstert.2010.04.053.
- [10] K. N. Khan *et al.*, «Bacterial contamination hypothesis: a new concept in endometriosis», *Reproductive Medicine and Biology*, vol. 17, núm. 2. John Wiley and Sons Ltd, p. 125-133, 1 abril 2018. doi: 10.1002/rmb2.12083.
- [11] A. Sobstyl, A. Chałupnik, P. Mertowska, i E. Grywalska, «How Do Microorganisms Influence the Development of Endometriosis? Participation of Genital, Intestinal and

- Oral Microbiota in Metabolic Regulation and Immunopathogenesis of Endometriosis», *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 24, núm. 13. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI), 1 juliol 2023. doi: 10.3390/ijms241310920.
- [12] G. Álvarez-Calatayud, E. Suárez, J. M. Rodríguez, i J. Pérez-Moreno, «La microbiota en la mujer; aplicaciones clínicas de los probióticos», *Nutr Hosp*, vol. 32, p. 56-61, ago. 2015, doi: 10.3305/nh.2015.32.sup1.9481.
- [13] I. Moreno *et al.*, «The diagnosis of chronic endometritis in infertile asymptomatic women: a comparative study of histology, microbial cultures, hysteroscopy, and molecular microbiology», *Am J Obstet Gynecol*, vol. 218, núm. 6, p. 602.e1-602.e16, juny 2018, doi: 10.1016/j.ajog.2018.02.012.
- [14] T. Colonetti *et al.*, «Gut and Vaginal Microbiota in the Endometriosis: Systematic Review and Meta-Analysis», *Biomed Res Int*, vol. 2023, p. 2675966, 2023, doi: 10.1155/2023/2675966.
- [15] G. Álvarez-Calatayud, E. Suárez, J. M. Rodríguez, i J. Pérez-Moreno, «La microbiota en la mujer; aplicaciones clínicas de los probióticos», *Nutr Hosp*, vol. 32, p. 56-61, ago. 2015, doi: 10.3305/nh.2015.32.sup1.9481.
- [16] M. Scioscia *et al.*, «Dye diffusion during laparoscopic tubal patency tests may suggest a lymphatic contribution to dissemination in endometriosis: A prospective, observational study», *PLoS One*, vol. 14, núm. 12, des. 2019, doi: 10.1371/journal.pone.0226264.
- [17] N. Aggarwal, S. Kitano, G. R. Y. Pua, S. Kittelmann, I. Y. Hwang, i M. W. Chang, «Microbiome and Human Health: Current Understanding, Engineering, and Enabling Technologies», *Chemical Reviews*, vol. 123, núm. 1. American Chemical Society, p. 31-72, 11 gener 2023. doi: 10.1021/acs.chemrev.2c00431.
- [18] P. Y. Bahat, I. Ayhan, E. U. Ozdemir, Ü. Inceboz, i E. Oral, «Dietary supplements for treatment of endometriosis: A review», *Acta Biomedica*, vol. 93, núm. 1. Mattioli 1885, 14 març 2022. doi: 10.23750/abm.v93i1.11237.
- [19] J. M. Kinross, A. W. Darzi, i J. K. Nicholson, «The medical importance of the human microbiome Gut microbiome-host interactions in health and disease», 2011. [En línia]. Disponible a: <http://genomemedicine.com/content/3/3/14>
- [20] I. Jiang, P. J. Yong, C. Allaire, i M. A. Bedaiwy, «Intricate connections between the microbiota and endometriosis», *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, núm. 11. MDPI, 1 juny 2021. doi: 10.3390/ijms22115644.
- [21] B. Ata *et al.*, «The Endobiota Study: Comparison of Vaginal, Cervical and Gut Microbiota Between Women with Stage 3/4 Endometriosis and Healthy Controls», *Sci Rep*, vol. 9, núm. 1, des. 2019, doi: 10.1038/s41598-019-39700-6.
- [22] R. K. Hamouda *et al.*, «The Comorbidity of Endometriosis and Systemic Lupus Erythematosus: A Systematic Review», *Cureus*, jul. 2023, doi: 10.7759/cureus.42362.
- [23] M. I. Zervou, B. C. Tarlatzis, G. F. Grimbizis, D. A. Spandidos, T. B. Niewold, i G. N. Goulielmos, «Association of endometriosis with Sjögren's syndrome: Genetic insights (Review)», *Int J Mol Med*, vol. 53, núm. 2, feb. 2024, doi: 10.3892/ijmm.2024.5344.
- [24] N. Shigesaki *et al.*, «The association between endometriosis and autoimmune diseases: A systematic review and meta-analysis», *Hum Reprod Update*, vol. 25, núm. 4, p. 486-503, jul. 2019, doi: 10.1093/humupd/dmz014.
- [25] M. I. Zervou, D. Vlachakis, L. Papageorgiou, E. Eliopoulos, i G. N. Goulielmos, «Increased risk of rheumatoid arthritis in patients with endometriosis: genetic aspects», *Rheumatology (United Kingdom)*, vol. 61, núm. 11. Oxford University Press, p. 4252-4262, 1 novembre 2022. doi: 10.1093/rheumatology/keac143.

- [26] E. O. Adewuyi, D. Mehta, i D. R. Nyholt, «Genetic overlap analysis of endometriosis and asthma identifies shared loci implicating sex hormones and thyroid signalling pathways», *Human Reproduction*, vol. 37, núm. 2, p. 366-383, feb. 2022, doi: 10.1093/humrep/deab254.
- [27] B. Zizolfi *et al.*, «Epidemiological and Immune Profile Analysis of Italian Subjects with Endometriosis and Multiple Sclerosis», *J Clin Med*, vol. 12, núm. 5, març 2023, doi: 10.3390/jcm12052043.
- [28] F. Brouns *et al.*, «Diet associations in endometriosis: a critical narrative assessment with special reference to gluten», *Frontiers in Nutrition*, vol. 10. Frontiers Media SA, 2023. doi: 10.3389/fnut.2023.1166929.
- [29] S. A. Elseidy i A. K. Awad, «Celiac disease with intra-abdominal adhesions in a 32-year-old female patient: a case report and literature review», *J Surg Case Rep*, vol. 2020, núm. 10, oct. 2020, doi: 10.1093/jscr/rjaa351.
- [30] R. M. Lovell i A. C. Ford, «Global Prevalence of and Risk Factors for Irritable Bowel Syndrome: A Meta-analysis», *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, vol. 10, núm. 7. W.B. Saunders, p. 712-721.e4, 2012. doi: 10.1016/j.cgh.2012.02.029.
- [31] M. I. Pinto-Sanchez *et al.*, «Probiotic Bifidobacterium longum NCC3001 Reduces Depression Scores and Alters Brain Activity: A Pilot Study in Patients With Irritable Bowel Syndrome», *Gastroenterology*, vol. 153, núm. 2, p. 448-459.e8, ago. 2017, doi: 10.1053/j.gastro.2017.05.003.
- [32] J. Khizroeva *et al.*, «Infertility in women with systemic autoimmune diseases», *Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism*, vol. 33, núm. 6. Bailliere Tindall Ltd, 1 desembre 2019. doi: 10.1016/j.beem.2019.101369.
- [33] O. V. Bakun *et al.*, «Probiotics and NLRP3 mRNA inflammasome levels in women with endometriosis-related infertility undergoing assisted reproductive technologies», *J Med Life*, vol. 16, núm. 10, p. 1439-1444, 2023, doi: 10.25122/jml-2023-0056.
- [34] B. Ata *et al.*, «The Endobiota Study: Comparison of Vaginal, Cervical and Gut Microbiota Between Women with Stage 3/4 Endometriosis and Healthy Controls», *Sci Rep*, vol. 9, núm. 1, des. 2019, doi: 10.1038/s41598-019-39700-6.
- [35] P. Markowiak i K. Ślizewska, «Effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on human health», *Nutrients*, vol. 9, núm. 9. MDPI AG, 15 setembre 2017. doi: 10.3390/nu9091021.
- [36] N. M. Molina *et al.*, «New opportunities for endometrial health by modifying uterine microbial composition: Present or future?», *Biomolecules*, vol. 10, núm. 4. MDPI AG, 1 abril 2020. doi: 10.3390/biom10040593.
- [37] J. S. García, E. L. Martínez, T. R. González, M. J. M. Pérez, i J. V. del Río, «Infiltrating endometriosis: diagnostic keys in abdominal ultrasonography», *Radiologia*, vol. 63, núm. 1, p. 32-41, gen. 2021, doi: 10.1016/j.rx.2020.09.007.
- [38] A. K. A. Karim, N. H. A. Aziz, R. R. M. Zin, N. M. Mokhtar, i M. N. Shafiee, «The effect of surgical intervention of endometriosis to ca-125 and pain», *Malaysian Journal of Medical Sciences*, vol. 27, núm. 6. Penerbit Universiti Sains Malaysia, p. 7-14, 2020. doi: 10.21315/mjms2020.27.6.2.
- [39] X. Wang *et al.*, «METTL3-mediated m6A modification of SIRT1 mRNA inhibits progression of endometriosis by cellular senescence enhancing», *J Transl Med*, vol. 21, núm. 1, des. 2023, doi: 10.1186/s12967-023-04209-0.

- [40] G. A. W. Rook, C. A. Lowry, i C. L. Raison, «Microbial “Old Friends”, immunoregulation and stress resilience», *Evolution, Medicine and Public Health*, vol. 2013, núm. 1. Oxford University Press, p. 46-64, 2013. doi: 10.1093/emph/eot004.
- [41] C. Han *et al.*, «Smectite promotes probiotic biofilm formation in the gut for cancer immunotherapy», *Cell Rep*, vol. 34, núm. 6, feb. 2021, doi: 10.1016/j.celrep.2021.108706.
- [42] O. J. Kelly, J. C. Gilman, Y. Kim, i J. Z. Ilich, «Long-chain polyunsaturated fatty acids may mutually benefit both obesity and osteoporosis», *Nutrition Research*, vol. 33, núm. 7. p. 521-533, juliol 2013. doi: 10.1016/j.nutres.2013.04.012.
- [43] N. M. Molina *et al.*, «New opportunities for endometrial health by modifying uterine microbial composition: Present or future?», *Biomolecules*, vol. 10, núm. 4. MDPI AG, 1 abril 2020. doi: 10.3390/biom10040593.
- [44] S. Khodaverdi *et al.*, «Beneficial effects of oral lactobacillus on pain severity in women suffering from endometriosis: A pilot placebo-controlled randomized clinical trial», *Int J Fertil Steril*, vol. 13, núm. 3, p. 178-183, oct. 2019, doi: 10.22074/ijfs.2019.5584.
- [45] M. M. Hopeman, J. K. Riley, A. I. Frolova, H. Jiang, i E. S. Jungheim, «Serum Polyunsaturated Fatty Acids and Endometriosis», *Reproductive Sciences*, vol. 22, núm. 9, p. 1083-1087, set. 2015, doi: 10.1177/1933719114565030.
- [46] G. Quaranta, M. Sanguinetti, i L. Masucci, «Fecal Microbiota Transplantation: A Potential Tool for Treatment of Human Female Reproductive Tract Diseases», *Frontiers in Immunology*, vol. 10. Frontiers Media S.A., 26 novembre 2019. doi: 10.3389/fimmu.2019.02653.
- [47] C. Ruiz-Sánchez, B. Escudero-López, i M.-S. Fernández-Pachón, «Endocrinología, Diabetes y Nutrición Evaluation of the efficacy of probiotics as treatment in irritable bowel syndrome», 2024. [En línia]. Disponible a: www.elsevier.es/endo
- [48] B. Chassaing, J. D. Aitken, M. Malleshappa, i M. Vijay-Kumar, «Dextran sulfate sodium (DSS)-induced colitis in mice», *Curr Protoc Immunol*, núm. SUPPL.104, 2014, doi: 10.1002/0471142735.im1525s104.
- [49] S. Duranti *et al.*, «Elucidating the gut microbiome of ulcerative colitis: bifidobacteria as novel microbial biomarkers», *FEMS Microbiol Ecol*, vol. 92, núm. 12, p. fiw191, des. 2016, doi: 10.1093/femsec/fiw191.
- [50] K. Han *et al.*, «Generation of systemic antitumour immunity via the in situ modulation of the gut microbiome by an orally administered inulin gel», *Nat Biomed Eng*, vol. 5, núm. 11, p. 1377-1388, nov. 2021, doi: 10.1038/s41551-021-00749-2.
- [51] Y. Zhan *et al.*, «Gut microbiota protects against gastrointestinal tumorigenesis caused by epithelial injury», *Cancer Res*, vol. 73, núm. 24, p. 7199-7210, des. 2013, doi: 10.1158/0008-5472.CAN-13-0827.
- [52] A. Aldrete-Tapia, M. C. Escobar-Ramírez, M. L. Tamplin, i M. Hernández-Iturriaga, «High-throughput sequencing of microbial communities in Poro cheese, an artisanal Mexican cheese», *Food Microbiol*, vol. 44, p. 136-141, 2014, doi: 10.1016/j.fm.2014.05.022.
- [53] A. C. Gomes, A. A. Bueno, R. G. M. H. De Souza, i J. F. Mota, «Gut microbiota, probiotics and diabetes», *Nutrition Journal*, vol. 13, núm. 1. BioMed Central Ltd., 17 juny 2014. doi: 10.1186/1475-2891-13-60.
- [54] «plantarum en dieabetes con had».

- [55] L. Zhai, J. Wu, Y. Y. Lam, H. Y. Kwan, Z. X. Bian, i H. L. X. Wong, «Gut-microbial metabolites, probiotics and their roles in type 2 diabetes», *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, núm. 23. MDPI, 1 desembre 2021. doi: 10.3390/ijms222312846.
- [56] J. Rode *et al.*, «Multi-Strain Probiotic Mixture Affects Brain Morphology and Resting State Brain Function in Healthy Subjects: An RCT», *Cells*, vol. 11, núm. 18, set. 2022, doi: 10.3390/cells11182922.
- [57] B. Chahwan, S. Kwan, A. Isik, S. van Hemert, C. Burke, i L. Roberts, «Gut feelings: A randomised, triple-blind, placebo-controlled trial of probiotics for depressive symptoms», *J Affect Disord*, vol. 253, p. 317-326, juny 2019, doi: 10.1016/j.jad.2019.04.097.
- [58] J. P. Dawe, L. M. E. McCowan, J. Wilson, K. A. M. Okesene-Gafa, i A. S. Serlachius, «Probiotics and Maternal Mental Health: A Randomised Controlled Trial among Pregnant Women with Obesity», *Sci Rep*, vol. 10, núm. 1, des. 2020, doi: 10.1038/s41598-020-58129-w.
- [59] R. O. Burney i L. C. Giudice, «Pathogenesis and pathophysiology of endometriosis», *Fertility and Sterility*, vol. 98, núm. 3. p. 511-519, setembre 2012. doi: 10.1016/j.fertnstert.2012.06.029.
- [60] S. Gordts, P. Koninckx, i I. Brosens, «Pathogenesis of deep endometriosis», *Fertility and Sterility*, vol. 108, núm. 6. Elsevier Inc., p. 872-885.e1, 1 desembre 2017. doi: 10.1016/j.fertnstert.2017.08.036.
- [61] D. Medina-Bastidas, I. Camacho-Arroyo, i E. García-Gómez, «REPRODUCTION REVIEW Current findings in endometrial microbiome: impact on uterine diseases», 2022, doi: 10.1530/REP.
- [62] X. Chao, Y. Liu, Q. Fan, H. Shi, S. Wang, i J. Lang, «The role of the vaginal microbiome in distinguishing female chronic pelvic pain caused by endometriosis/adenomyosis», *Ann Transl Med*, vol. 9, núm. 9, p. 771-771, maig 2021, doi: 10.21037/atm-20-4586.
- [63] R. Zhu *et al.*, «Psychobiotic *Lactobacillus plantarum* JYLP-326 relieves anxiety, depression, and insomnia symptoms in test anxious college via modulating the gut microbiota and its metabolism», *Front Immunol*, vol. 14, 2023, doi: 10.3389/fimmu.2023.1158137.
- [64] H. Itoh *et al.*, «*Lactobacillus gasseri* OLL2809 is effective especially on the menstrual pain and dysmenorrhea in endometriosis patients: Randomized, double-blind, placebo-controlled study», en *Cytotechnology*, març 2011, p. 153-161. doi: 10.1007/s10616-010-9326-5.
- [65] J. Deng, J. Yun, Y. Gu, B. Yan, B. Yin, i C. Huang, «Evaluating the In Vitro and In Vivo Prebiotic Effects of Different Xylo-Oligosaccharides Obtained from Bamboo Shoots by Hydrothermal Pretreatment Combined with Endo-Xylanase Hydrolysis», *Int J Mol Sci*, vol. 24, núm. 17, set. 2023, doi: 10.3390/ijms241713422.
- [66] I. Jiang, P. J. Yong, C. Allaire, i M. A. Bedaiwy, «Intricate connections between the microbiota and endometriosis», *International Journal of Molecular Sciences*, vol. 22, núm. 11. MDPI, 1 juny 2021. doi: 10.3390/ijms22115644.
- [67] P. R. de C. França, A. C. P. Lontra, i P. D. Fernandes, «Endometriosis: A Disease with Few Direct Treatment Options», *Molecules*, vol. 27, núm. 13. MDPI, 1 juliol 2022. doi: 10.3390/molecules27134034.
- [68] E. Rolla, «Endometriosis: Advances and controversies in classification, pathogenesis, diagnosis, and treatment:», *F1000Research*, vol. 8. F1000 Research Ltd, 2019. doi: 10.12688/f1000research.14817.1.

