

# TFM\_Lucía Martínez Villarreal.pdf

*by Lucía MARTÍNEZ VILLARREAL*

---

**Submission date:** 24-Jul-2025 10:24PM (UTC+0200)

**Submission ID:** 2720050134

**File name:** TFM\_Luci\_CC\_81a\_Marti\_CC\_81nez\_Villarreal.pdf (1.09M)

**Word count:** 9611

**Character count:** 56298

# **Intervención dietética con dieta antiinflamatoria y probióticos para la modulación de la microbiota intestinal en artritis reumatoide**

Trabajo Fin de Máster

Máster Universitario en Nutrición Clínica

Autora: Dña. Lucía Martínez Villarreal

Tutor: Dr. Julián Nevado Blanco

Curso académico: 2024-2025

Trabajo Fin de Máster Universitario en Nutrición Clínica – 2024/2025  
Dña. Lucía Martínez Villarreal



## Índice

<b>Resumen.....</b>	<b>3</b>
<b>Introducción-marco teórico .....</b>	<b>5</b>
<b>Materiales y Métodos .....</b>	<b>10</b>
<i>Diseño de estudio .....</i>	<i>10</i>
<i>Población de estudio y muestreo.....</i>	<i>10</i>
<i>Aleatorización.....</i>	<i>11</i>
<i>Intervención.....</i>	<i>12</i>
<i>VARIABLES Y HERRAMIENTAS DE RECOGIDA DE DATOS .....</i>	<i>13</i>
<i>ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....</i>	<i>14</i>
<i>CONSIDERACIONES ÉTICAS.....</i>	<i>15</i>
<b>Resultados proyectados.....</b>	<b>16</b>
<b>Discusión.....</b>	<b>17</b>
<b>Conclusiones.....</b>	<b>21</b>
<b>Anexos.....</b>	<b>21</b>
<b>Bibliografía.....</b>	<b>28</b>

1

Trabajo Fin de Máster Universitario en Nutrición Clínica – 2024/2025  
Dña. Lucía Martínez Villarreal



2

## **Intervención dietética con dieta antiinflamatoria y probióticos para la modulación de la microbiota intestinal en artritis reumatoide**

### **Resumen**

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad autoinmune inflamatoria cuya fisiopatología se asocia con disbiosis intestinal y activación inmunitaria aberrante. La intervención dietética representa una potencial herramienta terapéutica costo-efectiva para modular la microbiota intestinal y reducir la inflamación sistémica. En el presente estudio se evalúa la efectividad de una intervención nutricional basada en una dieta antiinflamatoria estilo mediterránea, con o sin suplementación de *Lactobacillus acidophilus* La-14, en pacientes adultos con AR de diagnóstico reciente. Se ha diseñado un ensayo clínico aleatorizado, doble ciego y controlado con placebo, con 50 participantes divididos en dos grupos: uno recibirá la dieta antiinflamatoria y el suplemento probiótico, mientras que el otro realizará la misma dieta, pero recibirá el suplemento placebo, durante 12 semanas. Se medirán variables clínicas (DAS28), marcadores inflamatorios (hs-PCR, IL-6, TNF- $\alpha$ ), <sup>4</sup>composición de microbiota intestinal mediante secuenciación del gen ARNr 16S, y calidad de vida percibida. Se espera que el grupo con suplementación probiótica presente una mayor reducción en actividad de la enfermedad e inflamación sistémica. Los resultados contribuirán a iluminar el papel de la modulación nutricional e inmunológica mediante probióticos como terapia coadyuvante en AR, con implicaciones relevantes para la práctica clínica sostenible y personalizada.

### **Abstract**

Rheumatoid arthritis (RA) is an autoimmune inflammatory disease whose pathophysiology is associated with intestinal dysbiosis and abnormal immune activation. Dietary interventions represent a potential and cost-effective therapeutic tool to modulate the intestinal microbiota and reduce systemic inflammation. The present study evaluates the effectiveness of a dietetic intervention based on a Mediterranean-style anti-inflammatory diet supplemented with *Lactobacillus acidophilus* La-14 probiotics or placebo, in adult patients with newly diagnosed RA. A randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial was designed with 50 participants divided into two groups: one group will receive the anti-inflammatory diet and the probiotic supplement, while the other group will follow the same diet but receive the placebo supplement, for 12 weeks. Clinical variables (DAS28), inflammatory markers (hs-CRP, IL-6, TNF- $\alpha$ ),

intestinal microbiota composition by 16s rRNA gene sequencing, and perceived quality of life will be measured. The probiotic supplementation group is expected to show a greater reduction in disease activity and systemic inflammation compared to the placebo group. The results of this study will contribute to illuminating the role of nutritional and immunological modulation through probiotics as adjuvant therapy in RA, with relevant implications for sustainable and personalized clinical practice.

Keywords: gut microbiota, probiotics, rheumatoid arthritis, anti-inflammatory diet.

## Introducción-marco teórico

### *Artritis reumatoide y la microbiota intestinal*

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad crónico-degenerativa de índole autoinmune que se caracteriza por cambios inflamatorios y degradación en el tejido sinovial de las articulaciones, cartílagos y huesos que lleva a una discapacidad funcional (1,2). Su prevalencia es aproximadamente del 0.24-1% de la población mundial (3,4), afectando a entre 220.000 y 430.000 personas en España. Entre los diversos factores etiológicos –incluyendo genética, el tabaquismo e infecciones microbianas– se destaca la alteración de la microbiota intestinal como un elemento incidente de la AR (1,5–7). Diversos estudios han evidenciado que la microbiota intestinal de personas que padecen AR es diferente a la de individuos sanos y podría influir en la respuesta inmune local y sistémica que llega a desencadenar inflamación articular (8,9).

Las estrategias actuales de tratamiento farmacológico para la AR incluyen glucocorticoides y fármacos antirreumáticos modificadores de la enfermedad (FAMEs) (6). Por su parte, la terapia nutricional juega un papel fundamental en atrasar el comienzo de la enfermedad y/o enlentecer su progreso, cuando es utilizada como coadyuvante a la terapia médica convencional (6). Uno de los mecanismos por los cuales la dieta juega un rol crucial tanto en la aparición como el tratamiento de la AR es por su efecto sobre la microbiota intestinal. De acuerdo a Valdes, (10) el término *microbiota* se refiere al conjunto de microorganismos presentes <sup>2</sup> en un ambiente determinado. La microbiota del tracto gastrointestinal humano está poblada por alrededor de 100 trillones de bacterias, virus, protozoos y hongos, cuyas funciones incluyen la modulación de la respuesta inflamatoria (11,12).

No hay un consenso actual que define la “composición ideal” de una microbiota sana, ya que es única a cada individuo; se habla más bien de simbiosis entre microorganismo y hospedador para realizar funciones metabólicas e inmunes de forma óptima (13). Sin embargo, hay especies y cepas de bacterias asociadas con mejor salud (gracias a sus efectos antiinflamatorios), así como bacterias que al contrario actúan como patógenos oportunistas capaces de desencadenar respuestas proinflamatorias (11). Un desbalance en la cantidad y función de las bacterias intestinales, llamado *disbiosis intestinal*, perjudica la homeostasis, provoca deficiencias nutricionales y potencia la inflamación (12). De hecho, se ha descrito previamente que <sup>4</sup> la disbiosis intestinal es un factor clave que contribuye al comienzo de la AR (9,12,14–16) y que hay composicionales y funcionales en la microbiota de pacientes con esta enfermedad (2,17). Estas alteraciones

se deben, por una parte, a la **pérdida de integridad de la barrera intestinal**, lo cual aumenta la permeabilidad y permite el paso de microorganismos patógenos (18,19). Por otra parte, el desbalance microbiano puede desencadenar una respuesta inmunitaria desmedida (17).

En la AR, la disbiosis intestinal ocasiona una activación aberrante de células inmunes innatas (5). Esto aumenta la diferenciación de linfocitos T y causa un desbalance entre linfocitos Th17 proinflamatorios a células T reguladoras (Tregs), responsables de modular respuestas inflamatorias inapropiadas (17,20). Estos linfocitos infiltran tejido articular y resultan en formación de citocinas proinflamatorias; al mismo tiempo que disminuye la circulación de citocinas antiinflamatorias como TGF-β1 e IL-10 (5). Tal migración de células autorreactivas hacia las articulaciones produce inflamación local, y algunas otras citocinas proinflamatorias como TNF-α, IL-1 e IL-6 promueven la producción de enzimas que median la destrucción de tejido cartilaginoso y de hueso (5,16). La modulación de la microbiota puede regular el mecanismo de tolerancia inmune que influye en la función de las Tregs que suprimen activación inapropiada de los linfocitos T (2). De esta manera, la modulación de la microbiota puede formar parte clave en el control y manejo de la AR.

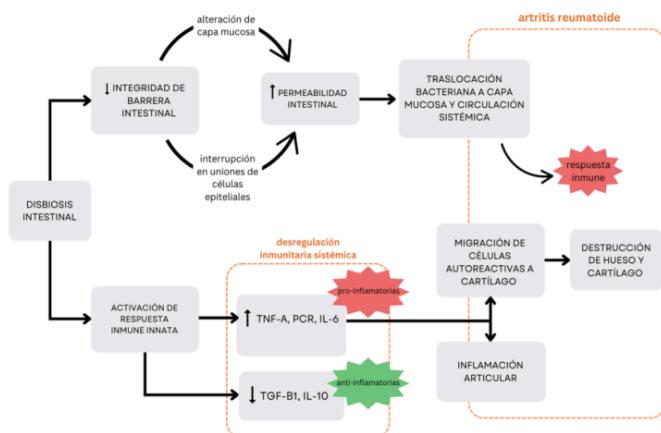


Figura 1. Etiopatogenia de artritis reumatoide a partir de disbiosis intestinal,  
adaptado de Zhao et al. *Front immunol* (2022).

#### *Rol de la dieta en el tratamiento de AR*

El tratamiento dietético que se pauta para pacientes con AR tiene como propósito reducir la inflamación y promover un buen estado nutricional. Se han estudiado una gran variedad de patrones alimentarios a lo largo de los años, desde una dieta vegana estricta hasta ayunos intermitentes de 7-10 días (21). Entre ellos, la dieta Mediterránea cuenta con amplio respaldo científico como el pauta nutricional en AR, ya que su alto aporte de ácidos oleicos, ácidos grasos omega-3, fibra y fitoquímicos tiene la capacidad de disminuir niveles de inflamación sistémica (19,22–24). Un estudio realizado por Gioia et al. afirma que un consumo alto de estos mismos nutrientes, además de antioxidantes y flavonoides, mejora el perfil metabólico y está relacionado con menor severidad de síntomas al cambiar la composición de la microbiota intestinal y disminuir niveles inflamatorios (25). En efecto, la dieta es el factor ambiental principal que impacta la composición y función de la microbiota intestinal, desencadenando beneficios antiinflamatorios y por ende, una reducción de síntomas artríticos cuando se realiza una dieta apropiada, saludable y balanceada (26).

#### *Uso de probióticos como tratamiento*

Otra manera de modificar la composición de la microbiota es mediante la administración oral de probióticos, lo cual ha mostrado resultados positivos como terapia coadyuvante para el tratamiento de la AR al fortalecer la barrera intestinal y modular la respuesta inmune (2,5,15). Los probióticos se definen como microorganismos vivos que al ser administrados en cantidades adecuadas, proveen un beneficio al hospedador (27). Estas bacterias exógenas administradas en pacientes humanos pueden ejercer un efecto temporal y específico en la microbiota intestinal y de esta manera atenuar enfermedades relacionadas con la disbiosis, dependiendo de la cepa que se utilice y la dosificación (2). Los efectos immunológicos de la administración de probióticos pueden ser directos o indirectos, por medio de la modulación de la inmunidad innata y adaptativa del hospedador, así como la reducción del estrés oxidativo (8). Algunas cepas de bacterias que han mostrado efecto protector en la AR incluyen *Bacteroidetes fragilis*, asociada con mayor actividad de Tregs y menor sintomatología de la enfermedad; *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus acidophilus*, las cuales reducen inflamación artrítica y destrucción de cartílago en ratas como resultado de un efecto antioxidant; y cepas de *Bifidobacterium* que reducen la permeabilidad intestinal y modulan la función inmune (5,12,15).

#### *Tratamiento dietético como estrategia de sostenibilidad*

En este contexto, el principio de sostenibilidad en nutrición clínica se fomenta por medio del uso eficiente de recursos económicos y la adopción de estrategias terapéuticas que sean efectivas, seguras, accesibles, y que promuevan el bienestar a largo plazo. La nutrición como intervención terapéutica tiene el potencial de mejorar la calidad de vida de los pacientes y reducir la carga de la enfermedad, representando al mismo tiempo un abordaje menos invasivo y más costo-efectivo que el uso exclusivo de fármacos. Al considerar prácticas clínicas que disminuyen la progresión de la enfermedad y previenen complicaciones futuras, se favorece un modelo de atención sostenible, centrado en el paciente, que valora la prevención y el manejo integral de enfermedades crónicas como la AR.

#### **Justificación**

A pesar de los avances sustanciales en manejo de la enfermedad que se han logrado con terapias farmacológicas, la AR permanece un problema mundial de salud pública y su prevalencia e incidencia sigue en alza (4). La mayor parte de los pacientes padecen una forma crónica y persistente de la enfermedad ya que la remisión es poco común, y para controlarla es necesario recurrir a tratamiento crónico con múltiples fármacos (28). Hay aún áreas emergentes para el tratamiento de la AR que requieren explorarse para optimizar su manejo a largo plazo, incluyendo el mundo de la dietética y la suplementación.

Dado el impacto de la alimentación sobre la microbiota intestinal y, por ende, sobre los efectos inflamatorios propios de la enfermedad, surge la pregunta: ¿Cuál es la mejor manera de intervenir nutricionalmente en pacientes con AR para disminuir síntomas y mejorar la calidad de vida? En específico, se pretende identificar el tratamiento nutricional más costo-efectivo para disminuir la carga de la enfermedad mediante dos mecanismos: (1) disminuir la necesidad de recurrir a polifarmacia por artritis refractarias, y (2) reducir la aparición de comorbilidades a largo plazo derivadas del manejo subóptimo y presencia de inflamación crónica sistémica.

La implementación de estrategias nutricionales como la adopción de una dieta antiinflamatoria complementada con probióticos podría disminuir la inflamación característica de la AR desde su diagnóstico, modulando la respuesta inflamatoria desde su origen en la microbiota intestinal (11). Esto podría representar una alternativa terapéutica costo-efectiva con un impacto significativo en el sistema de salud, reduciendo los costos de tratamiento farmacológico crónico, hospitalizaciones por complicaciones y

discapacidades causadas por la enfermedad.

A diferencia de los tratamientos farmacológicos convencionales que frecuentemente ocasionan efectos secundarios –el metotrexato, por ejemplo, está asociado con secuelas desde náuseas hasta hepatotoxicidad– las intervenciones dietéticas y el uso de probióticos presentan un mayor perfil de seguridad según estudios preliminares al ser tratamientos no invasivos que no están asociados a efectos secundarios mayores (29). Al mismo tiempo, este tipo de abordaje conlleva un costo mucho menor a largo plazo que la farmacoterapia, acarreando los medicamentos biológicos un costo de entre 21,000 y 34,000 EUR anualmente por paciente (30). Si se demuestra la efectividad de la intervención nutricional se podría favorecer la disminución de uso de fármacos, mejorar la calidad de vida de los pacientes y optimizar la asignación de recursos sanitarios, especialmente en sistemas de salud pública con presupuestos limitados. Dado este perfil favorable de riesgo-beneficio y su impacto poblacional, explorar intervenciones nutricionales costo-efectivas podría transformar el enfoque de manejo a largo plazo en pacientes con AR.

## Objetivos

9

Por este motivo el presente estudio tiene como objetivo principal comparar los efectos que tiene la modulación de la microbiota en la AR utilizando dos distintas intervenciones: por un lado, modulación únicamente mediante una dieta antiinflamatoria; por el otro lado, una dieta antiinflamatoria junto con suplementación de probióticos que se han evidenciado previamente como terapéuticos en pacientes con AR. De esta manera, se comprobará si es más efectivo en la disminución de sintomatología inflamatoria intervenir con suplementación probiótica, o si basta para aliviar los síntomas llevar una dieta balanceada antiinflamatoria.

Objetivos específicos:

1. Comparar los efectos de las distintas intervenciones nutricionales en biomarcadores inflamatorios (PCR, IL-6 y TNF- $\alpha$ ) que suelen estar alterados en pacientes con AR.
2. Comparar los cambios que ocurren en la microbiota intestinal de los pacientes tras suplementación probiótica por medio de análisis de muestras fecales utilizando secuenciación del ARNr 16s.
3. Medir diferencias en calidad de vida según intervención nutricional mediante cuestionarios subjetivos llenados por los participantes como la escala visual análoga (VAS) para distinguir su

impacto en síntomas de la enfermedad y comparar la efectividad de las intervenciones.

### Hipótesis

Como hipótesis de estudio se plantea que una intervención nutricional combinada de dieta antiinflamatoria y suplementación con probióticos seleccionados tendrá un efecto superior <sup>8</sup> en la reducción de marcadores inflamatorios y mejora de la calidad de vida en pacientes adultos con AR, en comparación con la dieta antiinflamatoria sola.

### Materiales y Métodos

#### *Diseño de estudio*

El estudio que se plantea realizar es de carácter experimental ya que se realizará una intervención que cuenta con una variable dependiente y una independiente para evaluar la eficacia entre tratamientos (en este caso, el efecto que tienen sobre la microbiota y síntomas de AR: a) una dieta antiinflamatoria propia únicamente, o b) una dieta antiinflamatoria propia y suplementación con probióticos). Se trata de un ensayo clínico aleatorizado, controlado y de grupos paralelos con un diseño doble ciego. Se compararán los efectos de la intervención dietética antiinflamatoria y probiótica frente a un grupo control que recibirá la intervención dietética antiinflamatoria y un placebo.

#### *Población de estudio y muestreo*

La población del estudio será conformada por pacientes adultos (de entre 18 y 85 años) de sexo indistinto con recién diagnóstico (menos de 2 años de antigüedad) de Artritis Reumatoide según los criterios del Colegio Americano de Reumatología/ Liga Europea Contra el Reumatismo (ACR/EULAR por sus siglas en inglés) (31). Se incluirán pacientes con AR activa ( $DAS28 > 3.2$ ) según la Escala de Actividad de la Enfermedad ( $DAS28$ ) (32) en tratamiento estable con FAMEs convencionales como metotrexato, leflunomida, hidroxicloroquina o sulfasalazina, sin tratamiento biológico previo (28). Se utilizará diagnóstico temprano para evaluar el impacto de la intervención antes de que haya daños estructurales previos por la enfermedad, y se elegirán pacientes sin tratamiento biológico previo para determinar si una intervención dietética y probiótica puede disminuir la actividad de la enfermedad antes de la necesidad de escalar a medicamentos biológicos.

Los participantes serán reclutados del Hospital Universitario la Paz (Madrid, España) y el Hospital Universitario 12 de Octubre (Madrid, España), tras ser referidos por reumatólogos ligados al presente estudio que los hayan tratado y confirmen que cumplen con los criterios de inclusión. Se les explicará detalladamente el estudio y si deciden participar, firmarán el consentimiento informado. Se excluirán pacientes con uso de fármacos biológicos en los últimos seis meses, uso reciente (últimas 4 semanas) de antibióticos, diagnóstico de alguna enfermedad inflamatoria intestinal, antecedentes de cirugía gastrointestinal mayor, dieta vegana o vegetariana estricta, índice de masa corporal (IMC) mayor a 40 kg/m<sup>2</sup>, suplementación reciente con otros probióticos y/o que cursen un embarazo o periodo de lactancia.

Para calcular el tamaño muestral, se tomó como base la variable principal de desenlace (actividad de la enfermedad medida según DAS28), considerando una diferencia mínima clínicamente significativa de 0.6 puntos entre grupos y una desviación estándar estimada de 0.7, de acuerdo con estudios previos (8,33,34). Se utilizó un nivel de confianza del 95% ( $\alpha = 0.05$ ) y un poder estadístico del 80% ( $\beta = 0.20$ ). Con estos parámetros, se estimó un tamaño de muestra de 22 participantes por grupo. Al considerar una posible tasa de abandono del 10%, se ajustó el tamaño final a 25 participantes por grupo, lo que da un total de 50 sujetos para el estudio.

$$n = \frac{2 \times (Z_{\alpha/2} + Z_{\beta})^2 \times \sigma^2}{\Delta^2}$$

Figura 2. Fórmula utilizada para calcular tamaño muestral

#### Aleatorización

La asignación de grupos se hará mediante un proceso de aleatorización simple asistido por el software <https://calcular.me>. Para reducir el riesgo de desequilibrios en características relevantes, se implementará estratificación por sexo y edad (<50 años y ≥50 años), dado que estas variables pueden influir en la evolución de la enfermedad y la respuesta a la intervención. La secuencia aleatoria será generada por un investigador externo no involucrado en la intervención ni en la recogida de datos, y se mantendrá en sobres opacos y sellados numerados consecutivamente, asegurando la ocultación de la secuencia hasta el momento de asignación. El doble cegamiento se garantizará usando cápsulas idénticas en apariencia para el probiótico y el placebo, así como la codificación de los envases, de modo que ni los participantes ni los investigadores conozcan la asignación hasta el cierre del análisis estadístico.

### *Intervención*

La intervención que se le dará a todos los participantes como base es un taller de educación nutricional y pautas alimentarias para realizar una dieta antiinflamatoria en casa. Se les instruirá sobre las características de una dieta antiinflamatoria de desarrollo propio, modelada según estudios previos sobre tratamientos dietéticos para la AR (5,12,19,24,35). Al inicio del estudio se realizará un taller presencial de educación nutricional donde se le aconsejará a todos los participantes cómo llevar una dieta adecuada para su patología, basada en un alto consumo de fibra dietética y ácidos grasos poliinsaturados, así como un bajo consumo de azúcar, productos de origen animal altos en grasas saturadas y alimentos ultra-procesados. Se les entregará además una lista de supermercado con recomendaciones de alimentos a incluir en sus comidas diarias, así como un recetario con desayunos, almuerzos, meriendas y cenas que se adapten al plan alimenticio antiinflamatorio. Las porciones no serán controladas; es decir, los participantes no tendrán una restricción calórica o un objetivo de macronutrientes al cual llegar, únicamente se harán recomendaciones sobre elección de alimentos y métodos de preparación. De esta manera, los participantes podrán comer en casa y mantener sus rutinas diarias, al mismo tiempo que reciben una intervención que les será útil para su sintomatología. Se les solicitará seguir las recomendaciones de esta dieta lo más cercanamente posible por la duración del estudio. Las herramientas mencionadas se encuentran en el apartado Anexos.

El grupo de intervención, además de las pautas de alimentación, recibirá un suplemento probiótico de *Lactobacillus acidophilus* La-14, el cual ha mostrado efectos benéficos en AR en estudios animales mediante una disminución en la inflamación articular y destrucción de cartílago (5,12). En estudios preclínicos, La-14 ha mostrado capacidad de regular el sistema inmune innato y adaptativo, induciendo una maduración moderada y activación de células dendríticas (36). En un ensayo clínico realizado en el año 2021, esta cepa fue una de cinco especies de bacterias suplementadas en pacientes con AR que lograron una reducción de TNF- $\alpha$  ( $P=0.004$ ) e IL-6 ( $P=0.039$ ) tras 60 días de tratamiento (8). Otro ensayo clínico realizado por Zamani et al. (37) encontró que suplementación con *Bifidobacterium bifidum*, *Lactobacillus casei* y *Lactobacillus acidophilus* muestra una mejoría significativa en DAS-28 y una disminución de PCR en personas con AR.

Esta cepa fue seleccionada por su eficacia demostrada tanto en modelos animales como humanos, así como

por su disponibilidad comercial como suplemento de uso humano. Se administrará una cápsula diaria conteniendo maltodextrina como excipiente y 10<sup>9</sup> unidades formadoras de colonias (UFC) de La-14 como agente activo, por 12 semanas. El grupo control recibirá una cápsula placebo de apariencia idéntica que únicamente contendrá maltodextrina, por 12 semanas. Se entregará a todos los participantes al inicio del estudio un contenedor con la totalidad de las cápsulas necesarias (84 piezas) y se les dará la instrucción de mantener el suplemento en refrigeración y consumirlo diariamente en ayunas con un vaso de agua. Se indicará a los participantes anotar en un registro semanal la fecha y hora de toma del suplemento, como parte de la medición de adherencia al tratamiento. Al finalizar el estudio, se les pedirá regresar el contenedor donde recibieron el suplemento para realizar un conteo de cápsulas sobrantes. Esta cifra se considerará como covariable en el análisis y se tomará como adherencia adecuada el consumo de ≥80% de las cápsulas asignadas (ya sea probióticas o placebo).

#### *VARIABLES Y HERRAMIENTAS DE RECOGIDA DE DATOS*

La variable primaria por medir es la actividad de la enfermedad según la escala DAS28 <sup>2</sup> al inicio y a las 12 semanas de seguimiento. Esta escala ha sido extensamente validada para su uso en ensayos clínicos y mide la actividad de la enfermedad en pacientes con AR según número de articulaciones dolorosas, número de articulaciones inflamadas, velocidad de sedimentación globular (VSG) y escala visual analoga (VAS) que autoevalúa la salud del paciente (38).

Como variables secundarias se medirán marcadores inflamatorios, en concreto, PCR, IL-6 y TNF- $\alpha$ , medidos a partir de muestras de sangre al inicio del estudio (antes de la intervención) y a las 12 semanas de seguimiento. En cuanto a antropometría, se les realizará una bioimpedancia eléctrica con el equipo InBody 270 (InBody, Holanda) para medir su peso total, masa magra y porcentaje de grasa corporal, y se registrará su talla medida con un estadiómetro.

Para monitorear su cumplimiento con las pautas dietéticas, se les pedirá a los participantes llenar un recordatorio de 24 horas semanalmente, 6 recordatorios durante la semana laboral (lunes-viernes) y 6 durante el fin de semana, de modo que se tenga una valoración global de la ingesta de macronutrientes y adherencia a la dieta. Se les solicitará enviar el recordatorio de la semana junto con fotografías de todos los tiempos de comida y platos que se hayan realizado ese día. Información sobre cómo llenar los cuestionarios

se dará durante el taller de educación nutricional. Subsecuentemente, se utilizará el software de cálculo dietético Nutrein (nutre.in) para ingresar los datos de los recordatorios de 24h de los pacientes y compararlos con la dieta antiinflamatoria propuesta al inicio.

#### *Análisis de microbiota intestinal*

Para el análisis de muestras fecales se utilizará el kit de extracción de ADN de muestras de heces NucleoSpin DNA stool (NucleoSpin, Macherey-Nagel, Alemania). Se realizará la amplificación de la región V3-V4 del gen ARNr 16S bacteriano utilizando el NEBNext High Fidelity 2X PCR Master Mix (NEB). Posteriormente se analizará con una secuenciación “2 × 300 bp” de extremos emparejados en un equipo Illumine MiSeq.

#### *Parámetros inflamatorios*

La VSG se determinará utilizando autoanalizadores hematológicos. Los niveles séricos de proteína C-reactiva de alta sensibilidad (hsPCR) se medirán utilizando un ensayo turbidimétrico. Los niveles de factor de necrosis tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e interleucina-6 (IL-6) se determinarán usando ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA).

#### *Seguimiento*

El seguimiento que se le realice a los pacientes se llevará a cabo a las 12 semanas de tratamiento, durante el cual se volverán a tomar muestras sanguíneas para cuantificar IL-6, hs-PCR y TNF- $\alpha$ , se reanalisará la antropometría y se volverá a realizar el cuestionario DAS28 junto con un reumatólogo. De esta manera se medirán las diferencias producidas por el tratamiento durante las 12 semanas (82 días) de tratamiento.

#### *Análisis Estadístico*

El análisis estadístico se realizará siguiendo un enfoque por intención de tratar, manteniendo a todos los participantes en el grupo al que fueron aleatorizados, independientemente de su nivel de adherencia, con el fin de preservar la validez interna del estudio. El procesamiento de datos se llevará a cabo utilizando el software IBM SPSS Statistics versión 20.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, Estados Unidos), y para el análisis de la composición microbiana se utilizarán herramientas bioinformáticas específicas como QIIME2 y el entorno R.

En primer lugar, se hará un análisis descriptivo de las variables basales. Para las variables cuantitativas se utilizará la prueba de normalidad Shapiro-Wilk, expresando los resultados como media ± desviación estándar (DE) si presentan distribución normal o como mediana y rango intercuartil (RIQ) en caso de distribución anormal. Las variables cualitativas se presentarán como frecuencias absolutas y porcentajes.

Para verificar la homogeneidad inicial entre grupos, se compararán características basales mediante pruebas t de Student para muestras independientes (para distribución normal) o pruebas de Mann-Whitney U (para distribución anormal). Para variables categóricas se empleará la prueba chi-cuadrado.

<sup>7</sup> El análisis principal para evaluar el efecto de la intervención en la variable primaria (DAS28) y secundarias (hs-PCR, IL-6, TNF- $\alpha$ , puntuación VAS) se realizará mediante un ANOVA de medidas repetidas o, en caso de incumplimiento de supuestos, un modelo mixto lineal. Se considerarán los efectos de tiempo (inicio vs. semana 12), grupo (dieta y probiótico vs. dieta y placebo) y la interacción tiempo × grupo. Asimismo, se harán comparaciones intragrupo (pre vs. post) mediante pruebas t de Student para muestras pareadas o prueba de Wilcoxon, según distribución. Los resultados se reportarán con intervalos de confianza del 95% y se considerará estadísticamente significativo un valor de  $p < 0.05$ .

<sup>8</sup> <sup>9</sup> Para el análisis de la microbiota intestinal, se estimará la diversidad alfa (índices de Shannon y Simpson) y se comparará entre grupos mediante pruebas paramétricas o no paramétricas según distribución. La diversidad beta (distancias Bray-Curtis, UniFrac) se analizará mediante PERMANOVA. Adicionalmente, se explorarán correlaciones entre cambios en la microbiota y variaciones en marcadores inflamatorios con el coeficiente de Spearman.

#### *Consideraciones éticas*

El estudio será aprobado por el Comité de Ética en investigación y se obtendrá consentimiento informado de todos los participantes. Dicho consentimiento informado explicará detalladamente los objetivos del estudio, los posibles riesgos y beneficios de la intervención –que en este caso es suplementación con probióticos encapsulados que han superado las pruebas necesarias para estar de venta en el mercado–, los procedimientos a realizar (ej. toma de muestras de sangre, llenado de cuestionarios de calidad de vida, etc.) y los derechos de los participantes. La confidencialidad de los datos de pacientes será respetada mediante

codificación de información y almacenamiento en servidores protegidos. Añadido a esto, se cumplirá con las normativas internacionales de investigación en humanos, como la declaración de Helsinki y las normas internacionales de la Buena Práctica Clínica (BPC). Asimismo, los participantes reservarán el derecho de abandonar el estudio en cualquier momento si así lo desean, y en caso de que algún paciente experimente efectos adversos relacionados con la intervención, recibirá la atención médica adecuada y se le dará la opción de retirarse del estudio.

#### *Plan de trabajo*

El presente proyecto tendrá una duración aproximada de 8 meses, la cual se detalla a fondo en un cronograma de trabajo en el apartado Anexos.

#### *Presupuesto del estudio*

El presupuesto estimado para llevar a cabo de inicio a fin este estudio asciende a 35.100 euros, contemplando los costes asociados a recursos humanos, materiales de intervención, pruebas de laboratorio, seguimiento de pacientes y otros gastos logísticos. Se desglosan los costes mencionados en una tabla en el apartado Anexos. Para cubrir este presupuesto, se prevé la búsqueda de financiación mixta a través de diversas fuentes. En primer lugar, se solicitará apoyo institucional a la Universidad Europea de Madrid, tanto a través de sus convocatorias internas para proyectos de investigación como mediante becas y ayudas a trabajos de fin de máster. Asimismo, se abordará la posibilidad de establecer convenios de colaboración con hospitales públicos de Madrid, entre ellos el Hospital Universitario La Paz y el Hospital 12 de Octubre. Es de estos centros donde se reclutará a los participantes, por lo que se planea crear convenios de beneficio mutuo y solicitar la facilitación de recursos clínicos. Por otro lado, se propondrá a asociaciones de pacientes con artritis reumatoide en España, como la Coordinadora Nacional de Artritis (ConArthritis), su colaboración como entidad patrocinadora o difusora del estudio, dadas las implicaciones que este puede tener para mejorar la calidad de vida de sus asociados.

#### **Resultados proyectados**

Tras las 12 semanas de intervención, se espera que el grupo que reciba dieta antiinflamatoria junto con probióticos (*Lactobacillus acidophilus* La-14) experimente:

1. Reducción significativa de la actividad de la enfermedad:

- DAS28: Se espera una disminución media superior a 0.6 puntos respecto al inicio, alcanzando significación estadística frente al grupo placebo.
2. Disminución significativa de biomarcadores inflamatorios:
    - hs-PCR: Reducción esperada  $\geq$ 20-30% respecto a valores basales.
    - IL-6 y TNF- $\alpha$ : Reducción esperada  $\geq$ 15-25%, según estudios previos en intervenciones similares.
  3. Modificación positiva de la microbiota intestinal:
    - Aumento en la diversidad alfa (Shannon, Simpson) en el grupo intervención.
    - Disminución en ratio *Firmicutes/Bacteroidetes* hacia un perfil más antiinflamatorio.
    - Mayor abundancia relativa de especies de *Lactobacillus* tras intervención.
  4. Mejora percibida de calidad de vida:
    - Mejora significativa en VAS de dolor y bienestar general, con diferencias clínicamente relevantes ( $>10$  mm en escala visual análoga) entre grupos.
  5. Resultados en el grupo dieta + placebo:
    - Se espera también mejoría, aunque en menor magnitud:
      - Reducciones modestas de DAS28 (~0.3-0.5 puntos).
      - Descensos leves o no significativos en hs-PCR, IL-6, TNF- $\alpha$ .
      - Cambios limitados en microbiota (posible una pequeña mejora por el patrón de alimentación).
  6. Antropometría:
    - No se esperan cambios clínicamente relevantes en peso, IMC o composición corporal.

En conjunto, se espera que los resultados apoyen el uso de estrategias nutricionales coadyuvantes, y en particular de la combinación dieta-probióticos, como herramientas eficaces para modular la inflamación sistémica y mejorar el control clínico en pacientes con artritis reumatoide.

## Discusión

### *Efecto de la microbiota en la inflamación sistémica*

La microbiota intestinal tiene la capacidad de formar células T reguladoras que suprimen la respuesta inflamatoria causada por enfermedades autoinmunes (12). La disbiosis intestinal que suele estar presente en AR causa un desbalance entre la cantidad de células T auxiliares (también llamadas CD4+) y Tregs previamente mencionadas, resultando en un aumento crónico en niveles de citocinas proinflamatorias en la circulación sistémica (2,8). La IL-6 y TNF- $\alpha$  son algunas de las citoquinas proinflamatorias que están estrechamente relacionadas con AR, ya que inducen a moléculas activadoras del receptor del factor nuclear  $\kappa$ B (NF- $\kappa$ B), metaloproteininas de matriz y prostaglandinas, lo cual media aparición de síntomas artríticos como daño cartilaginoso (8).

#### *Modulación inmune por probióticos*

En este contexto, la suplementación con bacterias probióticas específicas puede modular la respuesta inmune al tener un efecto en las células involucradas en la inmunidad innata y adquirida: células epiteliales, células dendríticas, linfocitos NK, macrófagos y linfocitos (2). El sistema inmune innato desarrolla la respuesta primaria a patógenos tras activación de receptores de reconocimiento de patrones (PRRs). Un tipo de PRRs ampliamente estudiados son los receptores de tipo Toll (TLRs) que tienen la capacidad de activar vías que afectan la señalización celular y producción de citocinas para modular el sistema inmune. Los probióticos pueden disminuir la expresión de los TLRs y así disminuir la inflamación (2).

La respuesta inmune adaptativa, por su parte, depende de un balance delicado entre linfocitos auxiliares y Tregs. Una sobreactivación de linfocitos auxiliares Th1 y Th17 está relacionada con la patogénesis de inflamación patológica, y por lo tanto requiere la presencia de Tregs que suprimen su activación inapropiada al secretar citocinas inflamatorias (2). Los probióticos pueden aumentar la producción de citoquinas que inicien la respuesta adaptativa por medio de Tregs y contribuyen al correcto funcionamiento del sistema inmune, disminuyendo la inflamación errante (2).

#### *Importancia de la cepa y la dosis*

El género de probióticos que se utilizó, *Lactobacillus*, tiene efectos antiinflamatorios potentes (8,12). En un estudio iraní en el que se suplementó *Lactobacillus casei* 01 a mujeres con AR, se encontró una disminución en el puntaje DAS-28 (incluyendo la percepción subjetiva de dolor), así como una disminución en los biomarcadores inflamatorios hs-PCR, TNF- $\alpha$ , IL-6 e IL-12 (33). Por el otro lado, Pineda et al. estudió el

efecto suplementar *Lactobacillus rhamnosus* GR-1 y *Lactobacillus reuteri* RC-14 por 3 meses en pacientes con AR y no obtuvo ninguna disminución de marcadores inflamatorios (34). Esto sugiere que las propiedades inmunomoduladoras de los probióticos son específicas a la cepa; la diferencia de resultados clínicos en estudios probióticos previos ha de deberse en gran parte a la cepa elegida para administrar durante el ensayo. Otro factor que puede causar resultados distintos es la dosificación. Para el presente estudio se ha decidido la concentración de unidades formadoras de colonias según dosificación de estudios previos y comercialización de la cepa elegida.

#### *Impacto antropométrico de la intervención*

Tal como se menciona en el apartado de resultados esperados, no se proyecta encontrar diferencias estadísticamente significativas en el peso o la composición corporal de los participantes antes y después del estudio. Esto se debe en parte a que no se realizará un control calórico o de porciones; los participantes serán libres de comer las cantidades deseadas con tal de que se adhieran a las pautas de una dieta antiinflamatoria (que se describen en el apartado de Anexos), tomando por cierto que los beneficios de seguir este tipo de alimentación se encuentran sin importar el peso del paciente. Por otra parte, no se tendrá un punto de referencia sobre las dietas basales de los participantes, por lo cual el cambio a una dieta antiinflamatoria podría ser mínimamente distinto a la dieta habitual o bien un cambio radical en hábitos alimentarios. Ciertamente es posible que por esto mismo sí se encuentre en algunos pacientes un cambio ponderal tras haber realizado una dieta antiinflamatoria por 12 semanas, ya que, para algunos, seguir estas pautas de alimentación significaría una reducción drástica en su consumo de alimentos ultraprocesados, refrescos y frituras, por nombrar algunas diferencias. Al intercambiar este tipo de alimentos por frutas y verduras frescas, productos de origen animal con bajo aporte graso, frutos secos y granos enteros, inevitablemente la carga calórica disminuirá, por más abundantes que se mantengan las porciones diarias, así permitiendo un déficit calórico y una subsecuente disminución de peso. Sin embargo, estas consecuencias no se encuentran dentro del alcance del presente estudio.

#### *Limitaciones del contexto clínico y dietético*

El objetivo principal en el tratamiento de la AR es disminuir inflamación articular, enlentecer o frenar la progresión de daño óseo irreversible y mantener la funcionalidad de las articulaciones. Esta enfermedad tiene un inicio lento y un curso crónico, lo cual se manifiesta en distintos grados de dolor y discapacidad en

los pacientes que la padecen. Un diagnóstico temprano y un tratamiento adecuado, como el postulado en este estudio, puede favorecer un mejor pronóstico que permitiría alivio del dolor y control de la progresión de la enfermedad.

Los estudios que se han realizado hasta la fecha sobre el tema de suplementación probiótica en AR son aún inconclusos, ya que hay resultados contradictorios dependiendo de la cepa que se utilice, la dosis y la duración del estudio. Aunque el tema está creciendo rápidamente, la disponibilidad de evidencia sólida que explique el mecanismo por el cual estas sustancias ejercen su beneficio y las razones por variaciones entre cepas es aún limitada. Otro tema de interés que es causa de discrepancias en los estudios es el contexto clínico y dietético del paciente. En efecto, una suplementación probiótica con el propósito de obtener beneficios antiinflamatorios debe ir de la mano de una nutrición adecuada y hábitos de estilo de vida que promuevan este mismo efecto.

#### *Relevancia clínica y multidisciplinariedad*

El tratamiento de AR, como cualquier enfermedad crónico-degenerativa, debe hacerse con un enfoque multidisciplinario e integral que tome en cuenta las distintas esferas de salud del paciente e incorpore distintas herramientas para obtener el mayor beneficio posible. La farmacoterapia suele ser la primera línea de tratamiento en esta enfermedad en específico, pero sería interesante explorar hasta qué punto la alimentación y la suplementación con sustancias que no se logren obtener completamente de la dieta pueden llegar a tener un rol igual de importante en el tratamiento e incluso la prevención de esta patología. Asimismo, resulta importante resaltar el papel del ejercicio, la fisioterapia, el acompañamiento psicológico y la medicina del dolor como otras ramas que forman parte del tratamiento integral de esta y otras enfermedades crónicas.

Los hallazgos esperados de este estudio podrían tener una relevancia clínica significativa al proponer una estrategia complementaria, segura y económicamente viable para el manejo de la artritis reumatoide, sobre todo en etapas tempranas de la enfermedad. Si se demuestra que la combinación de una alimentación antiinflamatoria junto con la suplementación con probióticos ayuda a disminuir la inflamación sistémica, mejorar la calidad de vida y reducir la actividad de la enfermedad, esta intervención podría incorporarse dentro del enfoque multidisciplinario en consulta. Esto tendría el beneficio de disminuir el costo

farmacológico, optimizar los recursos sanitarios y promover un tratamiento más sostenible y personalizado. Asimismo, apoyaría en consolidar el papel de la nutrición clínica como herramienta terapéutica en enfermedades autoinmunes, en línea con las tendencias actuales de medicina integrativa y prevención secundaria.

#### **Limitaciones y beneficios**

Existen algunas limitaciones en este proyecto que deben considerarse. Primeramente, que los grupos son pequeños y los resultados no son extrapolables a experimentos con distintas cepas probióticas, ya que los efectos de la suplementación son específicos a cada cepa, no simplemente a cada género o especie (39). Existe también la posibilidad de abandono de participantes ya sea por alguna infección que requiera tratamiento antibiótico (lo cual contrarresta el efecto de los probióticos), por una exacerbación o brote de la enfermedad que requiera cambio de FAMEs, o bien deserción del estudio. La muestra reducida a utilizar funcionará como estudio piloto para evaluar preliminarmente los efectos de la intervención y a partir de los resultados, valorar la repetición del estudio con una muestra mayor. Los estudios que evalúan consumo de probióticos y subsecuentemente cambio en marcadores inflamatorios sin difíciles de comparar, ya que las cepas utilizadas y sus dosis varían ampliamente. Sin embargo, los resultados del presente estudio podrían aportar nueva información sobre la manera en que una dieta antiinflamatoria mejora sintomatología artrítica (comparando a cada grupo consigo mismo en dos tiempos: al principio y al final) y cómo difiere un tratamiento nutricional puro de uno que incluya suplementación con probióticos.

#### **Conclusiones**

La suplementación probiótica tiene gran potencial de ser una terapia coadyuvante efectiva en tratamiento y manejo a largo plazo de la AR. Se requieren más estudios para comprobar qué cepas en específico tienen el efecto inmunomodulador necesario para disminuir la respuesta inflamatoria y atenuar signos y síntomas de dolor, inflamación y degradación articular.

#### **Anexos**

[Anexo A:](#) Herramientas de educación nutricional para la implementación de una dieta antiinflamatoria

#### *Pautas generales para una dieta antiinflamatoria*

- Por la duración del estudio, se llevará a cabo una dieta a base de **alimentos frescos, de temporada y mínimamente procesados**. Se priorizarán métodos de cocción sencillos como al vapor, al horno, a la plancha o guisado (22).
- Se recomienda consumir una amplia variedad de frutas, verduras, leguminosas, granos integrales, hierbas y especias.
- El aceite de oliva virgen extra (AOVE) se recomienda como grasa principal para cocinar y aderezar; otras grasas saludables a incluir son aguacate, aceitunas, frutos secos y semillas.
- En cuanto a cereales, se preferirá el trigo integral (pan integral, pasta integral), arroz integral, quinoa, avena, maíz, bulgur y mijo (19,24).
- Como fuente de proteína, se preferirán fuentes vegetales (ej. Leguminosas, frutos secos) y fuentes animales bajas en grasa (ej. Pescados y mariscos, carne de aves, lácteos bajos en grasa, huevos).
- Se puede incluir té verde, infusiones de jengibre, rooibos o cúrcuma como bebidas antiinflamatorias.
- Por la duración del estudio, quedan excluidos (o restringidos en su mayor cantidad) alimentos ultraprocesados (frituras, bollería, comida preparada, comida rápida, bebidas endulzadas y refrescos, azúcar añadido, edulcorantes artificiales, snacks industriales y alcohol salvo vino tinto en moderación).
- Las porciones no serán controladas; se deja a discreción de los participantes tomando en cuenta la escala de hambre-saciedad que se presenta abajo (40).
- Se recomienda beber por lo menos 1.5-2 L de agua diariamente, incluyendo infusiones, caldos y sopas.

#### *Frecuencia recomendada de consumo de alimentos*

Grupo de alimentos	Frecuencia recomendada	Medidas caseras (1 ración)
Leche y derivados	2-4 raciones por día	1 vaso de leche 1 yogur individual 2-3 lonchas de queso curado
Pan, cereales (arroz, pasta, patatas...)	4-6 raciones por día	3-4 rebanadas de pan 2 puñados de arroz cocido

		1 patata grande
Verduras y hortalizas	Al menos 2 raciones por día	1 plato de ensalada 1 puñado de verdura cocida 1 plato de verduras crudas
Frutas	Al menos 3 raciones por día	3 piezas medianas 1 pieza mediana 1 taza (cerezas, moras, uvas...) 2 rodajas (melón, sandía, papaya...)
Aceite de oliva	3-6 raciones por día	1 cucharada sopera
Legumbres	2-4 raciones por semana	2 puñados o 1 plato de legumbres cocidas
Frutos secos	3-7 raciones por semana	1 puñado pequeño o 15-20 piezas (avellanas, almendras, cacahuates...)
Pescados y mariscos	3-4 raciones por semana	1 filete pequeño o la palma de una mano
5 Carnes magras y aves	3-4 raciones por semana	1 filete pequeño o la palma de una mano
Huevos	3-4 raciones por semana	1 huevo
Agua	8-12 raciones al día	1 vaso o botellita
Vino	Consumo opcional y moderado en adultos (1-2 veces por semana)	1 copa (~100 mL)

Recomendaciones de consumo diario y semanal de grupos de alimentos según la dieta Mediterránea, adaptado de Guasch-Ferré et al (41).

#### *Escala de hambre-saciedad para el control de porciones*

Durante la realización del estudio e implementación de la dieta antiinflamatoria con suplementación, se recomienda prestar atención a las señales de hambre y saciedad del cuerpo para guiar el control de porciones en los distintos tiempos de comida. Se recomienda sentarse a comer cuando se está en el nivel 4 (con sensación física de hambre) y comer de manera lenta y consciente hasta llegar a un nivel 7 (plenitud cómoda), evitando tanto niveles de hambre excesiva como de plenitud dolorosa.

1	Hambre voraz; mareos, sensación de debilidad, temblor
2	Muy hambriento; irritabilidad, ansiedad, fatiga
3	Hambriento; estómago se siente vacío, falta de concentración
4	Sutilmente hambriento; estómago comienza a gruñir
5	Sin hambre, pero tampoco satisfecho; el estómago no está vacío
6	Satisfecho; no más hambre, pero resta aún un poco de espacio
7	Plenitud cómoda; no hay más espacio para comer
8	Algo lleno; ligera incomodidad o dolor estomacal
9	Muy lleno; dolor estomacal, distensión, cansancio
10	Demasiado lleno; mucho dolor, náuseas, sensación de "reventar"

Escala de hambre-saciedad, adaptada de Tribole et al (40).

#### *Lista de supermercado para realizar una dieta antiinflamatoria*

Verduras y hortalizas	Frutas	Proteínas saludables
Espinacas/ acelgas	Arándanos/ frambuesas	Sardinas en AOVE
Rúcula/ canónigos	Moras	Atún fresco
Brócoli	Granada	Salmón
Coliflor	Manzana	Merluza/ bacalao
Zanahorias	Pera	Huevos camperos
Calabacín	Uvas rojas/ negras	Pollo/ pavo (sin piel)
Berenjena	Ciruela	Tofu firme
Pimientos	Naranja	Tempeh
Tomates/ tomate cherry	Mandarina	
Cebolla morada/ blanca	Limón	
Ajo	Aguacate	
Puerro	Plátano	
Apio	Cerezas	
Pepino	Melón	
Setas/ champiñones	Sandía	
Remolacha	Higos	
Patata	Kiwi	
Judías verdes	Piña	
Calabaza		
Legumbres	Granos y cereales	Grasas saludables

Lentejas	Avena integral	Aceite de oliva virgen extra (AOVE)
Garbanzos	Quinoa	Aceitunas
Alubias blancas/ rojas/ negras	Arroz integral/ salvaje	Aguacate
Guisantes	Pan integral 100%	Nueces (crudas)
Hummus natural	Pasta integral	Almendras (crudas)
Habas	Bulgur/ cuscús integral	Avellanas (crudas)
	Mijo	Semillas de chía
		Semilla de lino molida
		Pepitas de calabaza
		Pepitas de girasol
<b>Lácteos</b>	<b>Hierbas y especias</b>	<b>Otros</b>
Leche de vaca	Comino	Vinagre de manzana o balsámico
Yogur natural sin azúcar	Jengibre	Zumo de limón
Kéfir	Pimientón/ paprika	Infusiones
Queso fresco	Perejil	
Queso cottage	Cilantro	
Queso feta	Cúrcuma	
Alternativas vegetales sin azúcares añadidos (bebida de soja)	Menta	
	Canela	
	Orégano	
	Albahaca	
	Pimienta negra	

*Ejemplo de menú semanal*

Desayuno	Comida	Merienda	Cena
Yogur natural con frutos rojos, granola casera (con AOVE y miel) y semillas de lino	Albóndigas de pollo en salsa de tomate con verduras asadas y arroz integral	Manzana con crema de almendras	Berenjenas rellenas de queso ricotta y pesto de albahaca
Avena con leche, canela, moras y nueces	Pisto de verduras con huevo poché y pan integral	Palitos de zanahoria con hummus	Ensalada de atún mediterránea con apio, pepino y cebolla en pan de pita integral

Pan integral con hummus, rodajas de pepino y huevo cocido	Salmón al horno con patatas y pimientos	Palomitas al aire con cacahuetes	Salmón al ajo-limón con ensalada de espinacas y fresas
Tostada integral con aguacate, rúcula, tomate y queso feta	Calamares en salsa con arroz integral y ensalada mixta	Yogur natural con fruta y semillas de chía	Filete de bacalao con sopa de lentejas y verduras
Batido con yogur griego, papaya, avena y almendras	Gazpacho casero y merluza al horno con ensalada de quinoa y brotes	Mix de frutos secos (anacardos, nueces, pistachos, almendras) y dátiles secos	Tortitas de alubias con tomate y ensalada de aguacate
Tostada integral con crema de cacahuete y plátano	Tabulé con bulgur, cebolla, tomate, hierbas y brócoli	Yogur griego sin azúcar y una pieza de chocolate amargo ( $\geq 70\%$ cacao)	Ensalada griega con pollo al limón y arroz integral
Tortilla de claras de huevo con setas y alcachofas	Ensalada de pasta integral con atún, vegetales frescos y AOVE	Picos de pan integral con salsa tzatziki casera de yogur griego y pepino	Sopa toscana de alubias blancas y queso parmesano

Anexo B: Cronograma de trabajo del estudio

Fase	Actividad	Duración estimada	Mes 1	Mes 2	Mes 3	Mes 4	Mes 5	Mes 6	Mes 7	Mes 8
1. Preparación	Elaboración y revisión de protocolo y documentos legales	1 mes								
	Obtención de aprobaciones éticas y permisos	1 mes								
	Selección y capacitación del personal	1 mes								
2. Reclutamiento de participantes	Difusión y contacto con hospitales y reumatólogos	2 meses								
	Selección de pacientes y firma de consentimiento	2 meses								
3. Intervención y seguimiento	Taller inicial de educación nutricional y entrega de suplementos	1 mes								
	Inicio de intervención (dieta y suplemento o placebo)	3 meses								
	Monitoreo semanal con recordatorios de 24 horas y fotografías	3 meses								
4. Evaluaciones y mediciones	Medición inicial (antropometría, biomarcadores)	1 mes (inicio)								
	Medición final tras 12 semanas de intervención	1 mes (final)								
5. Análisis de datos	Procesamiento y análisis estadístico	1 mes								
6. Redacción y difusión	Elaboración del informe inicial y publicación	1-2 meses								
	Presentaciones y difusión de resultados	1 mes								

Anexo C: Recursos humanos y materiales necesarios para la elaboración del estudio

Recurso	Descripción	Cantidad/ detalles	Costo estimado
Humanos			
Investigador principal (Nutrióloga)	Coordinación, intervención dietética, seguimiento	1 persona	€6,000
Personal de laboratorio	Toma y procesamiento de muestras sanguíneas y fecales	1 técnico, medio tiempo	€6,000
Estadístico	Ánalisis estadístico de datos	Consultoría (1 mes)	€1,500
Reumatólogos	Reclutamiento y diagnóstico de pacientes	1-2 médicos, colaboración voluntaria o convenio	€1,000
Personal administrativo	Apoyo logístico y gestión	1 persona, jornada parcial	€3,000
Materiales			
Suplementos probióticos	Lactobacillus acidophilus La-14 y placebo	84 cápsulas para cada paciente de ambos grupos (2100 unidades por grupo)	€4,000
Material educativo	Planes, folletos digitales e impresos para ambos grupos	50 copias	€100
Material y equipo para toma de muestras	Jeringas, tubos de sangre, frascos para muestras fecales	para 50 participantes	€1,500
Equipo para secuenciación de ARNr 16s	Secuenciación y reactivos	para 50 participantes	€12,000
Software estadístico	SPSS	prueba gratuita	€0
Software nutricional	Nutrein	uso libre	€0
Espacio físico	Salón para talleres y consultas	1 sala; convenio con universidad	€0
Costo total del estudio			€35,100.00

## Bibliografía

1. Scherer HU, Häupl T, Burmester GR. The etiology of rheumatoid arthritis. *J Autoimmun.* junio de 2020;110:102400.
2. Ferro M, Charneca S, Dourado E, Guerreiro CS, Fonseca JE. Probiotic Supplementation for Rheumatoid Arthritis: A Promising Adjuvant Therapy in the Gut Microbiome Era. *Front Pharmacol.* 23 de julio de 2021;12:711788.
3. Almutairi KB, Nossent JC, Preen DB, Keen HI, Inderjeeth CA. The Prevalence of Rheumatoid Arthritis: A Systematic Review of Population-based Studies. *J Rheumatol.* mayo de 2021;48(5):669-76.
4. Ma Y, Chen H, Lv W, Wei S, Zou Y, Li R, et al. Global, regional and national burden of rheumatoid arthritis from 1990 to 2021, with projections of incidence to 2050: a systematic and comprehensive analysis of the Global Burden of Disease study 2021. *Biomark Res.* 24 de marzo de 2025;13(1):47.
5. Zhao T, Wei Y, Zhu Y, Xie Z, Hai Q, Li Z, et al. Gut microbiota and rheumatoid arthritis: From pathogenesis to novel therapeutic opportunities. *Front Immunol.* 8 de septiembre de 2022;13:1007165.
6. Prasad P, Verma S, Surbhi, Ganguly NK, Chaturvedi V, Mittal SA. Rheumatoid arthritis: advances in treatment strategies. *Mol Cell Biochem.* enero de 2023;478(1):69-88.
7. Sartor RB. Review article: Role of the enteric microflora in the pathogenesis of intestinal inflammation and arthritis. *Aliment Pharmacol Ther.* diciembre de 1997;11(s3):17-23.
8. Cannarella LAT, Mari NL, Alcântara CC, Iryioda TMV, Costa NT, Oliveira SR, et al. Mixture of probiotics reduces inflammatory biomarkers and improves the oxidative/nitrosative profile in people with rheumatoid arthritis. *Nutrition.* septiembre de 2021;89:111282.
9. Diamanti AP, Manuela Rosado M, Laganà B, D'Amelio R. Microbiota and chronic inflammatory arthritis: an interwoven link. *J Transl Med.* diciembre de 2016;14(1):233.
10. Valdes AM, Walter J, Segal E, Spector TD. Role of the gut microbiota in nutrition and health. *BMJ.* 13 de junio de 2018; k2179.
11. Wagenaar CA, Van De Put M, Bisschops M, Walrabenstein W, De Jonge CS, Herrema H, et al. The Effect of Dietary Interventions on Chronic Inflammatory Diseases in Relation to the Microbiome: A Systematic Review. *Nutrients.* 15 de septiembre de 2021;13(9):3208.
12. Pereira L, Monteiro R. Tailoring gut microbiota with a combination of Vitamin K and probiotics as a possible adjuvant in the treatment of rheumatic arthritis: a systematic review. *Clin Nutr ESPEN.* octubre de 2022;51:37-49.

13. Rinninella E, Raoul P, Cintoni M, Franceschi F, Miggiano GAD, Gasbarrini A, et al. What is the Healthy Gut Microbiota Composition? A Changing Ecosystem across Age, Environment, Diet, and Diseases. *Microorganisms*. 10 de enero de 2019;7(1):14.
14. Longo UG, Lalli A, Bandini B, De Sire R, Angeletti S, Lustig S, et al. Role of the Gut Microbiota in Osteoarthritis, Rheumatoid Arthritis, and Spondylarthritis: An Update on the Gut–Joint Axis. *Int J Mol Sci*. 13 de marzo de 2024;25(6):3242.
15. Sanchez P, Letarouilly JG, Nguyen Y, Sigaux J, Barnetche T, Czernichow S, et al. Efficacy of Probiotics in Rheumatoid Arthritis and Spondyloarthritis: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized Controlled Trials. *Nutrients*. 14 de enero de 2022;14(2):354.
16. Zheng D, Liwinski T, Elinav E. Interaction between microbiota and immunity in health and disease. *Cell Res*. junio de 2020;30(6):492-506.
17. Yang Y, Hong Q, Zhang X, Liu Z. Rheumatoid arthritis and the intestinal microbiome: probiotics as a potential therapy. *Front Immunol*. 6 de marzo de 2024;15:1331486.
18. Lu Z, Hsu C, Younis NK, Mustafa MA, Matveeva EA, Al-Juboory YHO, et al. Exploring the significance of microbiota metabolites in rheumatoid arthritis: uncovering their contribution from disease development to biomarker potential. *APMIS*. junio de 2024;132(6):382-415.
19. Wang P, Wang D, Sui J, Liu S, Kong Y, Lei H, et al. The comprehensive relationship between combined anti-inflammatory and healthy diets and all-cause mortality in rheumatoid arthritis: results from NHANES 2003–2018. *Arthritis Res Ther*. 23 de diciembre de 2024;26(1):226.
20. Dong Y, Yao J, Deng Q, Li X, He Y, Ren X, et al. Relationship between gut microbiota and rheumatoid arthritis: A bibliometric analysis. *Front Immunol*. 1 de marzo de 2023;14:1131933.
21. Khanna S, Jaiswal KS, Gupta B. Managing Rheumatoid Arthritis with Dietary Interventions. *Front Nutr*. 8 de noviembre de 2017;4:52.
22. McKellar G, Morrison E, McEntegart A, Hampson R, Tierney A, Mackle G, et al. A pilot study of a Mediterranean-type diet intervention in female patients with rheumatoid arthritis living in areas of social deprivation in Glasgow. *Ann Rheum Dis*. septiembre de 2007;66(9):1239-43.
23. Dürholz K, Hofmann J, Iljazovic A, Häger J, Lucas S, Sarter K, et al. Dietary Short-Term Fiber Interventions in Arthritis Patients Increase Systemic SCFA Levels and Regulate Inflammation. *Nutrients*. 20 de octubre de 2020;12(10):3207.
24. Elahi N, Elahi H, Navashenaq JG, Abdollahzad H, Mahaki B, Soleimani D, et al. The relationship between major dietary patterns and disease activity of rheumatoid arthritis. *Clin Nutr ESPEN*. octubre de 2022;51:274-9.
25. Gioia C, Lucchino B, Tarsitano MG, Iannuccelli C, Di Franco M. Dietary Habits and Nutrition in Rheumatoid Arthritis: Can Diet Influence Disease Development and Clinical Manifestations? *Nutrients*. 18 de mayo de 2020;12(5):1456.

26. Dourado E, Ferro M, Sousa Guerreiro C, Fonseca JE. Diet as a Modulator of Intestinal Microbiota in Rheumatoid Arthritis. *Nutrients*. 14 de noviembre de 2020;12(11):3504.
27. Hill C, Guarner F, Reid G, Gibson GR, Merenstein DJ, Pot B, et al. The International Scientific Association for Probiotics and Prebiotics consensus statement on the scope and appropriate use of the term probiotic. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. agosto de 2014;11(8):506-14.
28. Benjamin O, Goyal A, Lappin SL. Disease-Modifying Antirheumatic Drugs (DMARD). En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2025 [citado 26 de marzo de 2025]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507863/>
29. Ezhilarasan D. Hepatotoxic potentials of methotrexate: Understanding the possible toxicological molecular mechanisms. *Toxicology*. junio de 2021;458:152840.
30. Hresko A, Lin TC, Solomon DH. Medical Care Costs Associated With Rheumatoid Arthritis in the US: A Systematic Literature Review and Meta-Analysis. *Arthritis Care Res*. octubre de 2018;70(10):1431-8.
31. Kay J, Upchurch KS. ACR/EULAR 2010 rheumatoid arthritis classification criteria. *Rheumatology*. 1 de diciembre de 2012;51(suppl 6):vi5-9.
32. Wells G, Becker JC, Teng J, Dougados M, Schiff M, Smolen J, et al. Validation of the 28-joint Disease Activity Score (DAS28) and European League Against Rheumatism response criteria based on C-reactive protein against disease progression in patients with rheumatoid arthritis, and comparison with the DAS28 based on erythrocyte sedimentation rate. *Ann Rheum Dis*. junio de 2009;68(6):954-60.
33. Vaghef-Mehraban E, Alipour B, Homayouni-Rad A, Sharif SK, Asghari-Jafarabadi M, Zavvari S. Probiotic supplementation improves inflammatory status in patients with rheumatoid arthritis. *Nutrition*. abril de 2014;30(4):430-5.
34. Pineda M de los A, Thompson SF, Summers K, De Leon F, Pope J, Reid G. A randomized, double-blinded, placebo-controlled pilot study of probiotics in active rheumatoid arthritis. *Med Sci Monit*. 2011;17(6):CR347-54.
35. Nikiphorou E, Philippou E. Nutrition and its role in prevention and management of rheumatoid arthritis. *Autoimmun Rev*. julio de 2023;22(7):103333.
36. Elawadli I, Brisbin JT, Mallard BA, Griffiths MW, Corredig M, Sharif S. Differential effects of lactobacilli on activation and maturation of mouse dendritic cells. *Benef Microbes*. 1 de septiembre de 2014;5(3):323-34.
37. Zamani B, Golkar HR, Farshbaf S, Emadi-Baygi M, Tajabadi-Ebrahimi M, Jafari P, et al. Expression of Concern: Clinical and metabolic response to probiotic supplementation in patients with rheumatoid arthritis: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Int J Rheum Dis*. septiembre de 2016;19(9):869-79.

38. Prevoo MLL, Van'T Hof MA, Kuper HH, Van Leeuwen MA, Van De Putte LBA, Van Riel PLCM. Modified disease activity scores that include twenty-eight-joint counts development and validation in a prospective longitudinal study of patients with rheumatoid arthritis: MODIFIED DISEASE ACTIVITY SCORE. *Arthritis Rheum.* enero de 1995;38(1):44-8.
39. Reyes-Castillo Z, Valdés-Miramontes E, Llamas-Covarrubias M, Muñoz-Valle JF. Troublesome friends within us: the role of gut microbiota on rheumatoid arthritis etiopathogenesis and its clinical and therapeutic relevance. *Clin Exp Med.* febrero de 2021;21(1):1-13.
40. Tribole E, Resch E. Intuitive eating: a revolutionary anti-diet approach. 4th edition. New York: St. Martin's Essentials; 2020.
41. Guasch-Ferré M, Willett WC. The Mediterranean diet and health: a comprehensive overview. *J Intern Med.* septiembre de 2021;290(3):549-66.

# TFM\_Lucía Martínez Villarreal.pdf

## ORIGINALITY REPORT



## PRIMARY SOURCES

1	Submitted to Universidad Europea de Madrid Student Paper	4%
2	hdl.handle.net Internet Source	1 %
3	docplayer.es Internet Source	1 %
4	semipyp.es Internet Source	1 %
5	fundacionshe.org Internet Source	<1 %
6	repositorio.upse.edu.ec Internet Source	<1 %
7	www.jove.com Internet Source	<1 %
8	www.nutriterapiaevolutiva.com Internet Source	<1 %
9	"Proceedings of the 4th Biotechnology World Symposium", Mexican Journal of	<1 %

# Biotechnology, 2024

Publication

---

Exclude quotes      On  
Exclude bibliography      On

Exclude matches      < 21 words