

IMPACTO DE LA INTERVENCIÓN DIETÉTICA Y LA TOMA DE PROBIÓTICOS SOBRE LA MICROBIOTA, LA RESISTENCIA A LA INSULINA Y LOS NIVELES HORMONALES (ANDRÓGENOS Y FSH-LH) EN UNA POBLACIÓN.pdf

Submission date: 21-Jul-2015 09:08 PM (UTC+01:00)

Submission ID: 2718515412

File name: IMPACTO_DE_LA_INTERVENCI_C3_93N_DIET_C3_89TICA_Y_LA_TOMA_DE_PROBI_C3_93TICOS_SOBR...ENCIA_A_LA_INSULINA_Y_LOS_NIVELES_HORMONA
LH_29_EN_UNA_POBLACI_C3_93N.pdf (908.96K)

Word count: 9719

Character count: 56928

¹¹
**IMPACTO DE LA INTERVENCIÓN DIETÉTICA Y LOS
PROBIÓTICOS ⁶ SOBRE LA MICROBIOTA, LA RESISTENCIA A LA
INSULINA Y LOS NIVELES HORMONALES EN MUJERES CON
SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO**

TRABAJO FIN **DE** MÁSTER

MASTER UNIVERSITARIO EN NUTRICIÓN CLÍNICA

Curso académico 2024-2025

Autora: Irati Fagoaga Euguí

Tutora: Marina Cambor Murube

RESUMEN

El síndrome de ovario poliquístico (SOP) es una alteración endocrino-metabólica que ocurre en mujeres en edad reproductiva, que cursa con disfunción ovárica, exceso de andrógenos y una clínica característica. Además, aumenta el riesgo de desarrollar ciertos trastornos metabólicos.

Dada su alta prevalencia y falta de consenso respecto al tratamiento, se propone un ensayo clínico aleatorizado para analizar el impacto que tiene la intervención dietética junto con la toma de probióticos en la mejora de los signos y síntomas asociados al SOP, en mujeres jóvenes con resistencia a la insulina (RI) e hiperandrogenismo.

Se trata de un estudio prospectivo de 12 semanas, controlado y doble ciego en el que participarán 90 mujeres con SOP de entre 18 y 30 años. Se dividirán en tres grupos: control (placebo), control positivo (metformina) e intervención (probiótico: *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* y *Bifidobacterium lactis* en dosis total de 3×10^{10} unidades formadoras de colonias (UFC) por cápsula). Todas recibirán una intervención dietética orientada a mejorar la RI, que constará de una clase teórica y una dieta personalizada con el objetivo de que las pacientes lleven una dieta mediterránea ligeramente baja en carbohidratos y con un índice glucémico (IG) medio-bajo.

Se evaluarán variables antropométricas y clínicas (peso, talla, índice de masa corporal (IMC), hiperandrogenismo clínico, disfunción ovulatoria y morfología ovárica), hematológicas (glucosa e insulina, hormonas sexuales e índice HOMA) y de heces (microbiota intestinal analizada mediante secuenciación masiva del metagenoma humano).

Se esperan mejoras significativas en el grupo de intervención combinada de dieta + probióticos respecto a los otros grupos. Se espera que el estudio aporte nuevas perspectivas para el tratamiento efectivo y seguro del SOP sin complicaciones asociadas.

6
Palabras clave: síndrome de ovario poliquístico (SOP), probiótico, resistencia a la insulina (RI), microbiota, dieta

ABSTRACT

Polycystic ovary syndrome (PCOS) is an endocrine-metabolic disorder that occurs in women of reproductive age, characterized by ovarian dysfunction, excessive androgens and a distinctive clinical presentation. Furthermore, it increases the risk of developing some metabolic disorders.

Given the high prevalence of PCOS and the lack of agreement regarding its treatment, a randomized controlled trial is proposed on this research project, to analyse the impact of probiotic supplementation combined with a dietary intervention on the improvement of signs and symptoms associated with PCOS in young women with insulin resistance (IR) and hyperandrogenism.

A 12-week controlled prospective and doble blind study will be carried out in which 90 women with PCOS aged between 18 and 30 years will be divided into three groups: control (placebo), positive control (metformin) and intervention (probiotics: 3×10^{10} colony forming units (CFU) per capsule of *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* y *Bifidobacterium lactis*).

All participants will receive a dietary intervention aimed at improving de IR, consisted in a theorical class and a personalised diet. The aim is for participants to follow a mediterranean diet, slightly low in carbohydrates, with a medium-low glycaemic index (GI).

The evaluated variables include anthropometric and clinical variables (weight, height, body mass index (BMI), clinical hyperandrogenism, ovulatory dysfunction and ovarian morphology), hematological ones (glucose and insulin, sex hormones and HOMA index) and faecal samples (gut microbiota through high-throughput human metagenome sequencing).

In the group receiving probiotics combined with dietary intervention significant improvements are expected respect to the other groups. Also, it is expected that this study will give new perspectives on the effective and secure treatment of PCOS without associated complications.

Keywords: polycystic ovary syndrome (PCOS), probiotic, insulin resistance (RI), microbiota, diet

ÍNDICE

ÍNDICE	5
8	
1. INTRODUCCIÓN	7
1.1. SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO	7
1.1.1. ETIOLOGÍA	7
1.1.2. FISOPATOLOGÍA	7
1.1.3. EPIDEMIOLOGÍA	9
1.1.4. DIAGNÓSTICO Y CLASIFICACIÓN DEL SOP	9
1.1.5. TRATAMIENTO ACTUAL DEL SOP	10
1.2. SOP Y MICROBIOTA	11
1.2.1. SECUENCIACIÓN MASIVA DE METAGENOMA MICROBIANO	12
12	
1.3. PROBIÓTICOS	12
13	
2. OBJETIVOS	13
2.1. OBJETIVO PRINCIPAL	13
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS	13
14	
3. DISEÑO Y METODOLOGÍA	14
3.1. DISEÑO DE ESTUDIO	14
14	
3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA	14
3.2.1. SELECCIÓN DE LOS PARTICIPANTES	14
15	
3.2.2. TAMAÑO DE LA MUESTRA	15
15	
3.2.3. ASIGNACIÓN A LOS GRUPOS DE ESTUDIOS	15
15	
3.3. INTERVENCIÓN	15
3.3.1. ADMINISTRACIÓN DEL TRATAMIENTO	16
16	
3.3.2. INTERVENCIÓN DIETÉTICA	16
18	
3.4. VARIABLES DE ESTUDIO, HERRAMIENTAS DE RECOGIDA DE MUESTRAS Y ANÁLISIS MANUAL	18
3.4.1. ANTROPOMETRÍA Y CLÍNICA	18
18	
3.4.2. HEMATOLOGÍA	18
19	
3.4.4. DATOS METABÓLICOS	19
19	
3.5. ANÁLISIS DE RESULTADOS	19
20	
3.6. CONSIDERACIONES ÉTICAS	20
20	
4. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES DE LA INTERVENCIÓN	20
22	
5. LIMITACIONES DEL ESTUDIO	22
22	
6. ORGANIZACIÓN DEL TRABAJO Y RECURSOS HUMANOS	22
23	
7. RECURSOS MATERIALES Y PRESUPUESTO ECONÓMICO	23
23	
8. RESULTADOS ESPERADOS	24
24	
9. APLICABILIDAD DE RESULTADOS	26
26	

BIBLIOGRAFÍA	27
ANEXOS	30
ANEXO I. PAUTAS DIETÉTICAS	30
ANEXO II. CONSENTIMIENTO INFORMADO.....	32
ANEXO III. HISTORIA CLÍNICA Y SALUD HORMONAL DE LA PARTICIPANTE.....	34
ANEXO IV. HISTORIA DIETÉTICA – RECORDATORIO DE TRES DÍAS.....	35

1. INTRODUCCIÓN

1.1. SÍNDROME DE OVARIO POLIQUÍSTICO

El SOP es una compleja endocrinopatía metabólica que afecta a entre el 6% y el 13% de las mujeres en edad reproductiva. Esta cifra varía en función de los criterios empleados para su diagnóstico. Es la alteración endocrino-metabólica más habitual en la población femenina en edad fértil (1-3). Cursa con disfunción ovárica (oligoovulación y/o morfología poliquística) y/o producción excesiva de hormonas androgénicas ováricas suprarrenales, lo cual provoca una clínica heterogénea, caracterizada por disfunciones a nivel reproductivo, metabólico, dermo-cosmético y psicológico (1). Las pacientes con SOP tienen mayor riesgo de desarrollar trastornos metabólicos como la diabetes mellitus tipo 2 (DM2), enfermedades cardiovasculares, síndrome metabólico e infertilidad (1,4). La gravedad de estos síntomas varía según la edad, la genética, la etnia, el IMC, la toma de medicamentos y anticonceptivos o el tejido adiposo (TA) de las mujeres. Su adecuado manejo resulta imprescindible (2).

1.1.1. ETIOLOGÍA

La etiología del SOP es compleja. Se trata de un trastorno multigénico y multifactorial en el que las diferentes variantes genéticas interaccionan con factores ambientales y provocan diferentes fenotipos (4). Además, condiciones como la obesidad o el exceso de TA, la RI, la hiperinsulinemia y el hiperandrogenismo también se han asociado con el desarrollo y la exacerbación de los síntomas del SOP. El 95% de pacientes con SOP que sufren obesidad y el 75% de las pacientes con un IMC normal presentan RI en los tejidos diana (músculo esquelético, TA, hígado...) e hiperinsulinemia compensatoria medible, lo cual aumenta el riesgo de desarrollar síndrome metabólico entre 2 y 4 veces, respecto a la población general. Esto convierte a la RI en un factor importante a tener en cuenta, ya que su mejora, puede reducir significativamente la gravedad de los signos y síntomas del SOP (2).

Por otra parte, algunos estudios apoyan como factor etiológico del SOP una posible transmisión no genética del estilo de vida, en el que la epigenética juega un papel clave. La transmisión de hábitos alimenticios o el sedentarismo inducen una reprogramación metabólica que provoca la disfunción del TA, el desarrollo de la RI e hiperandrogenismo, que deriva en un SOP. Es importante remarcar que para que esto pueda ocurrir, deberá existir un genotipo predisponente (1). Aunque todavía están en estudio, algunos de los genes que se han asociado con la incidencia del SOP son los genes INSR, IRS1-2, MTNR1A, MTNR1B, THADA, ADIPO1, CAPN10 y PPAR-γ2 (5,6).

1.1.2. FISOPATOLOGÍA

El eje hipotálamo-hipófisis-ovario es el principal mecanismo regulador de la función reproductiva femenina. En condiciones normales, se produce una secreción pulsátil de la hormona liberadora de la gonadotropina (GnRH) desde el hipotálamo.⁵ Esta GnRH produce la secreción por parte de la hipófisis, de la hormona folículo estimulante (FSH), que estimula el crecimiento y maduración de los folículos en

los ovarios. Por otro lado, la GnRH también provoca la liberación de la hormona luteinizante (LH) en la hipófisis, que estimula la producción de andrógenos por parte de los ovarios, que serán posteriormente convertidos a estrógenos bajo la influencia de la FSH. A su vez, los estrógenos y la progesterona producidos en los ovarios provocan una retroalimentación negativa del eje hipotálamo-hipófisis, regulando la secreción de las hormonas GnRH, FSH y LH.

En las mujeres con SOP, la frecuencia de la liberación de la GnRH se ve aumentada, lo que provoca a una mayor liberación de LH frente a la FSH por parte de la hipófisis, dando lugar a una mayor producción de andrógenos y a una menor maduración de los folículos (Figura 1). Esto tiene como resultado la aparición de síntomas clínicos característicos del SOP como la disfunción ovulatoria y el hiperandrogenismo (5).



Figura 1: alteración de la secreción de la GnRH, LH y FSH en el SOP. Elaboración propia, utilizando la aplicación BioRender (7)

En condiciones normales, la insulina actúa estimulando los ovarios, generando una producción normal de andrógenos. En la RI, en respuesta a la insulina excesiva, los ovarios se vuelven hiperreactivos y aumentan la secreción de andrógenos. Como resultado, la hiperinsulinemia y el hiperandrogenismo provocan la alteración del crecimiento folicular, dando lugar a una disfunción ovulatoria, irregularidad menstrual, acné, alopecia androgénica y aumento de peso (2).

La relación entre la RI, la hiperinsulinemia compensatoria y el hiperandrogenismo es bidireccional. El exceso androgénico favorece el depósito de TA abdominal y visceral, lo cual provoca la síntesis de andrógenos ováricos y suprarrenales de manera indirecta al favorecer la RI y la hiperinsulinemia compensatoria. La RI es el mecanismo más destacado en la fisiopatología del SOP, pero también influyen factores genéticos, la disfunción suprarrenal, la disfunción tiroidea y la inflamación (1,2,5). Además, la hiperinsulinemia disminuye la síntesis de globulina transportadora de hormonas sexuales (SHBG) en el hígado. La SHBG en condiciones normales se une a los andrógenos reduciendo su biodisponibilidad, por lo que menores niveles de SHBG dan lugar a mayores niveles de andrógenos libres en sangre (5).

Por otra parte, el TA es clave en la homeostasis del metabolismo y en la sensibilidad a la insulina, mediante la secreción de varias adipocinas y otras proteínas. El TA disfuncional (por hipertrofia o hiperplasia de los adipocitos o por inflamación), desencadena alteraciones metabólicas que son importantes en la fisiopatología del SOP. La inflamación del TA y la peor sensibilidad a la insulina

provocan la alteración de adipocinas y aumento de citocinas proinflamatorias y ácidos grasos no esterificados (AGNE) (Figura 2) (5,8).

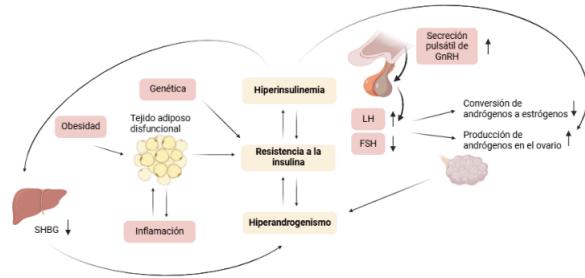


Figura 2: patogenia del SOP. Elaboración propia, utilizando la aplicación BioRender (7)

1.1.3. EPIDEMIOLOGÍA

El SOP se posiciona como el trastorno hormonal más habitual entre las mujeres en edad reproductiva. Aun así, existe una alta y preocupante tasa de infradiagnóstico, ya que se estima que hasta el 70% de las pacientes afectadas a nivel mundial no están diagnosticadas (3).

1.1.4. DIAGNÓSTICO Y CLASIFICACIÓN DEL SOP

Internacionalmente se desarrolló una "Guía Internacional basada en la Evidencia para la evolución y el manejo del Síndrome de Ovario Poliquístico" en 2018, revisada en 2023, en la que se evaluó la evidencia disponible para el manejo y el diagnóstico del SOP. Esta guía, al igual que la Organización Mundial de la Salud (OMS), recomienda utilizar para el diagnóstico del SOP una modificación de los "Criterios Rotterdam de Diagnóstico de SOP en adultos", donde se recoge que para un correcto diagnóstico de SOP se requiere la presencia de dos de las siguientes características (3,9–11):

1. Hiperandrogenismo clínico y bioquímico:
 - a. Hiperandrogenismo bioquímico: niveles elevados de testosterona total / libre. También se pueden analizar los valores la **testosterona libre calculada**, el **índice de andrógenos libres** o **testosterona biodisponible**. Se valora medir el **sulfato de dehidroepiandrosterona (DHEAS)** y la **androstenediona** si la **testosterona total o libre no está elevada**.
 - b. Hiperandrogenismo clínico: se evalúa según la escala modificada de Ferriman-Gallwey. El crecimiento del vello se clasifica de 0 a 4 en cada una de las nueve áreas del cuerpo evaluadas. En mujeres caucásicas es positiva una puntuación total igual o mayor a 8.
2. Disfunción ovulatoria: oligomenorrea (ciclos de >35 días o < 8 menstruaciones al año)
 - a. Si hay alta sospecha de SOP y no existe oligomenorrea, se debe considerar la evaluación de la progesterona sérica y de la hormona luteinizante

3. Morfología ovárica poliquística: ecografía transvaginal con frecuencia del transductor ≥ 8 MHz
- 20 folículos o más por ovario en cualquiera de los dos ovarios.
 - Volumen ovárico mayor o igual a 10cm^3 .

Según los criterios que se cumplan, existen 4 posibles fenotipos de SOP (2,9):

- Fenotipo A: hiperandrogenismo + disfunción ovulatoria + morfología ovárica poliquística
- Fenotipo B: hiperandrogenismo + disfunción ovulatoria
- Fenotipo C: hiperandrogenismo + morfología ovárica poliquística
- Fenotipo D: disfunción ovulatoria + morfología ovárica poliquística

La severidad de los síntomas varía entre los fenotipos, por lo que es importante, a la vez que se hace un correcto diagnóstico, diferenciar el fenotipo de cada mujer. La gravedad de los síntomas, la RI, el aumento del IMC y las alteraciones metabólicas se asocian estrechamente con el fenotipo A, mientras que las mujeres de fenotipo D presentan síntomas más leves. Teniendo en cuenta esto, se necesita establecer protocolos clínicos de determinación de los fenotipos del SOP para poder aplicarlos durante su diagnóstico para después realizar un mejor manejo (2).



Figura 3: Fenotipos del SOP. Figura de elaboración propia

1.1.5. TRATAMIENTO ACTUAL DEL SOP

Actualmente, el tratamiento de primera línea del SOP es el abordaje farmacológico, enfocado a tratar los síntomas y las complicaciones derivadas. Para mejorar la irregularidad menstrual y el hiperandrogenismo, el tratamiento habitual es la utilización de anticonceptivos combinados de estrógenos/progesterona. En cambio, si se dan alteraciones metabólicas importantes, se recomienda la administración de metformina. Por otra parte, para mejorar los síntomas relacionados con la infertilidad se limita la producción de estrógenos utilizando medicamentos como el letrozol (10). La mayor parte de estos fármacos están enfocados a tratar una única disfunción, lo cual entra en conflicto con la etiología multifactorial del SOP. Además, provocan efectos secundarios indeseados y su eficacia no es del todo satisfactoria (12).

En las últimas décadas también se han propuesto algunos suplementos para el tratamiento del SOP. Entre ellos, se ha empezado a valorar el uso de probióticos, pero todavía existen pocos estudios sobre el tratamiento del SOP mediante la regulación de la microbiota intestinal (12).

Además, la pérdida de peso es la recomendación habitual en estas mujeres, aunque se conoce la alta prevalencia de RI y otras complicaciones metabólicas en pacientes con SOP e IMC normal. No hay consenso en propuestas concretas de cambio de alimentación o estilo de vida (2,10).

1.2. SOP Y MICROBIOTA

La microbiota humana está compuesta por bacterias, virus, hongos y protozoos, que forman una relación simbiótica con el huésped. La mayor parte de esta microbiota se encuentra en el tracto gastrointestinal, pero también aparece en otros tejidos y órganos como en el útero o la vagina (12). Se ha visto que esta microbiota intestinal de las mujeres con SOP difiere de los controles sanos, destacando un porcentaje mayor de *Actinobacteria* ⁴ y menor de *Bacteroidetes*, así como mayor abundancia de *Bacteroides*. Estas últimas ejercen un papel importante en el desarrollo de la RI, así como de trastornos hormonales e inflamación. (13).

Aunque todavía hay pocos estudios que demuestren el efecto de la microbiota sobre el desarrollo y tratamiento del SOP. Algunos estudios la relacionan con complicaciones metabólicas como la RI, la obesidad o la inflamación sistémica, por lo que también puede estar involucrada en su patogenia (14). De hecho, se ha visto que los ¹² lipopolisacáridos bacterianos (LPS) y los ácidos grasos de cadena corta (AGCC) podrían desempeñar un papel importante regulando la inflamación y el metabolismo en el SOP (15,16).

Los aspectos diagnósticos del SOP se pueden explicar mediante la ⁷ "teoría de la disbiosis de la microbiota intestinal". Ya que la disbiosis aumenta la permeabilidad intestinal y el paso de LPS a la circulación sanguínea provocando inflamación y activación del sistema inmune. Además, la disbiosis reduce los AGCC lo que provoca alteración de los receptores de insulina elevando su concentración en sangre y aumentando la síntesis de andrógenos ováricos (12,17).

La alimentación inadecuada que puede conducir a la disbiosis se caracteriza principalmente por la baja ¹² ingesta de fibra y el alto consumo de grasas (saturadas y trans) y carbohidratos refinados (como harinas blancas y azúcares); además algunos edulcorantes como la sacarina o el aspartamo también podrían influir en el desarrollo de la disbiosis (18). Estos hábitos dietéticos conducen a la disminución ⁷ de bacterias beneficiosas, como *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* y al aumento de algunas poblaciones potencialmente perjudiciales, como *Proteobacteria* o *Clostridium*. A la vez este patrón dietético conduce al aumento de adiposidad, aumento de la RI, la inflamación y por tanto, aumenta el riesgo de desarrollar SOP (2). Por tanto, la dieta occidental, alta en proteínas y grasas animales así como en ultraprocesados y baja en alimentos frescos y fibra, puede conducir a este desequilibrio y al aumento de la disbiosis intestinal.

En cambio, la dieta mediterránea, alta en fibra, antioxidantes, ácidos grasos insaturados, grasas saludables y carbohidratos complejos entre otros, puede mejorar la microbiota intestinal y por tanto la obesidad y el estado inflamatorio (12,18).

Por otra parte, existe una interacción entre las hormonas sexuales y la microbiota intestinal por diferentes vías. Por una parte, la disbiosis intestinal conduce a endotoxemia, aumenta la permeabilidad intestinal y la liberación de LPS, por lo que estimula el sistema inmune y aumenta la inflamación. Además, la alteración de los metabolitos intestinales y de los AGCC que se da en la disbiosis, también provocará el aumento de la inflamación, consiguiente RI, hiperinsulinemia e hiperandrogenismo (17).

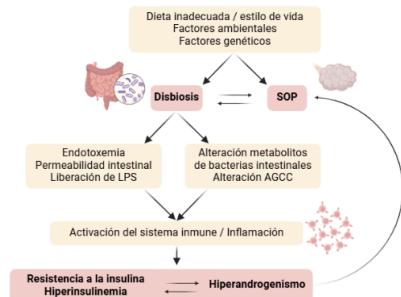


Figura 4: Relación de la disbiosis intestinal y el SOP. Elaboración propia, utilizando la aplicación BioRender (7)

1.2.1. SECUENCIACIÓN MASIVA DE METAGENOMA MICROBIANO

La secuenciación masiva del metagenoma microbiano se usa cada vez más en el diagnóstico microbiológico clínico. Esta técnica permite realizar análisis de la microbiota de muestras clínicas de una manera rápida y con un menor coste. Gracias a esta técnica, algunas enfermedades que tradicionalmente se han considerado de carácter no microbiano como puede ser el SOP, se pueden asociar a ciertos microorganismos (19).

1.3. PROBIÓTICOS

Los probióticos son suplementos dietéticos compuestos por microorganismos vivos, principalmente bacterias, que pueden modificar la microbiota intestinal y tener efectos positivos en la salud del huésped cuando se administran en cantidades correctas. Ayudan a disminuir bacterias perjudiciales y a aumentar las beneficiosas, resultando en una mejora de la sensibilidad a la insulina, la reducción de la permeabilidad intestinal, de las concentraciones de LPS y la inflamación (12,14,20).

Las cepas más utilizadas en humanos pertenecen a las familias de *Lactobacillus*, *Bacillus* y *Bifidobacterium* (14). Distintos ensayos han demostrado que la administración de probióticos puede mejorar el control glucémico, aumentar los niveles de AGCC y regular hormonas sexuales. Así como disminuir los niveles séricos de testosterona y DHEA y por tanto reducir los síntomas del SOP (20-22). Aun así los estudios son todavía limitados (20).

Por todo lo mencionado anteriormente, el correcto manejo del SOP es imprescindible. La práctica clínica actual tanto en el diagnóstico como en el manejo de este síndrome es poco consistente, con un alto grado de infradiagnóstico (el 70% de las mujeres que lo padecen no están diagnosticadas) y no se lleva a cabo de una manera adecuada, lo cual tiene un gran impacto en la salud y la calidad de vida de estas mujeres (3,9,10). Por ello, el control glucémico y hormonal es fundamental para la mejora de la clínica y la reducción de futuras complicaciones. Las terapias enfocadas a mejorar la composición de la microbiota intestinal pueden tener un potencial terapéutico en este contexto (2,12).

2. OBJETIVOS

La pregunta de investigación es la siguiente: ¿Es el uso de probióticos junto con una intervención dietética más efectivo que el uso de metformina o placebo junto con la misma intervención dietética para tratar los signos y síntomas del SOP en mujeres jóvenes con RI e hiperandrogenismo?

2.1. OBJETIVO PRINCIPAL

El objetivo principal de este ensayo clínico aleatorizado es analizar el impacto de una intervención dietética junto con la administración de probióticos sobre los signos y síntomas del SOP en mujeres jóvenes con RI e hiperandrogenismo.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Para conseguir este objetivo, se establecen unos objetivos específicos:

1. Analizar la composición de la microbiota intestinal mediante secuenciación masiva del metagenoma microbiano, a partir de una muestra de heces.
2. Evaluar la presencia y severidad de los síntomas del SOP como:
 - a. La RI, utilizando el índice HOMA (*Homeostasis Model Assessment of Insulin Resistance*) y una prueba de tolerancia oral a la glucosa de un solo paso.
 - b. Niveles elevados de andrógenos en sangre, analizando los niveles de testosterona libre y testosterona total en sangre
 - c. Signos de hiperandrogenismo clínico, utilizando la escala modificada de Ferriman-Gallwey
 - d. La alteración de la relación FSH/LH, analizando la FSH y la LH en análisis sanguíneos
3. Comparar los síntomas clínicos de mujeres con SOP con y sin intervención con probióticos
4. Proponer una alternativa terapéutica menos invasiva para las pacientes con SOP, enfocada en el abordaje dietético, evitando el uso de fármacos
5. Incorporar prácticas y principios en el marco de los Objetivos de Desarrollo Sostenible (ODS):
 - a. Priorizar la elección de alimentos sostenibles y de producción local, así como concienciar a las pacientes para reducir el desperdicio de alimentos en la medida de lo posible (ODS 12: Producción y consumo responsables)

- b. Promover la dieta saludable y sostenible (ODS 3: Salud y bienestar)

Confirmar esta hipótesis servirá para encontrar una alternativa terapéutica que se pueda aplicar en la práctica clínica, para mejorar así los signos y síntomas de las pacientes con SOP, así como su calidad de vida y prevenir futuras complicaciones.

3. DISEÑO Y METODOLOGÍA

3.1. DISEÑO DE ESTUDIO

Se llevará a cabo un estudio de intervención prospectivo; un ensayo controlado aleatorizado, paralelo y doble ciego, para estudiar el impacto de la intervención dietética y la toma de probióticos sobre la microbiota, la RI y los niveles hormonales en una población de mujeres con SOP.

3.2. POBLACIÓN Y MUESTRA

3.2.1. SELECCIÓN DE LOS PARTICIPANTES

La población de estudio serán mujeres jóvenes tanto ya diagnosticadas de SOP como de las que exista una alta sospecha de SOP. Las mujeres que formen parte del ensayo clínico deberán cumplir los siguientes criterios de inclusión:

1. Mujeres caucásicas de entre 18 y 30 años.
2. Normopeso, IMC entre 18,5 y 30 (23).
3. Diagnóstico confirmado de SOP + hiperandrogenismo clínico o bioquímico. O bien mujeres con hiperandrogenismo clínico o bioquímico + al menos una de las siguientes características:
 - a. Disfunción ovulatoria, oligomenorrea
 - b. Morfología ovárica poliquística
4. Pacientes que presenten RI.

Los criterios de exclusión en este estudio serán los enumerados a continuación:

1. IMC mayor de 30, presencia de obesidad (23).
2. IMC inferior a 18,5, bajo peso (23).
3. Presencia de comorbilidades metabólicas como la diabetes tipo I y DM2.
4. Toma de fármacos:
 - a. Fármacos que intervengan o interaccionen con la regulación de la glucemia o los niveles de insulina.
 - b. Fármacos que afecten a los niveles hormonales como los anticonceptivos orales, progesterona o inductores de la ovulación.
 - c. Antibióticos o probióticos fuera de la intervención. O su uso reciente, menos de 2 meses.
5. Embarazo o lactancia

6. Patologías digestivas que puedan afectar a la composición de la microbiota como enfermedades inflamatorias intestinales, síndrome de intestino irritable, parásitos intestinales o sobrecrecimiento bacteriano del intestino delgado (*"small intestinal bacterial overgrowth"* o SIBO).

3.2.2. TAMAÑO DE LA MUESTRA

El estudio constará de 90 participantes.

3.2.3. ASIGNACIÓN A LOS GRUPOS DE ESTUDIOS

Las pacientes de este ensayo clínico se dividirán en tres grupos de estudio:

1. Grupo control: administración de placebo + intervención dietética dirigida a mejorar la RI mediante la alimentación.
2. Grupo de intervención: administración de un probiótico + intervención dietética dirigida a modular la RI.
3. Grupo de control positivo: administración de metformina. Este grupo servirá como control respecto al tratamiento de referencia actual.

Las participantes se asignarán aleatoriamente en una proporción de 1:1:1 a los grupos mencionados anteriormente. Por tanto, las cohortes de estudio serán las siguientes:

1. Grupo control (n = 30)
2. Grupo de intervención (n = 30)
3. Grupo de control positivo (n = 30)

Los participantes se asignarán de manera aleatoria a los grupos mediante el servicio web de aleatorización *"Randomizer"* (Instituto de Informática Médica, Estadística y Documentación, Universidad Médica de Graz, Austria; disponible en: <https://www.randomizer.at/>).

3.3. INTERVENCIÓN

El reclutamiento de las pacientes se llevará a cabo en la Clínica Universidad de Navarra. El reclutamiento tendrá una duración de un mes. Además, también se reclutarán las pacientes que cumplen los criterios de inclusión y exclusión y hayan tenido visitas ginecológicas en la Clínica Universidad de Navarra de Madrid durante el último trimestre y que hayan firmado el consentimiento. Se contactará con ellas para ver si tienen interés en entrar en el estudio.

El estudio se llevará a cabo en la Universidad Europea, donde se realizarán las primeras entrevistas, mediciones y tomas de muestras, además de las siguientes revisiones.

La intervención tendrá una duración de 12 semanas (84 días) en las que se administrará el probiótico, el placebo o la metformina a las participantes, junto con el cambio en la dieta.

3.3.1. ADMINISTRACIÓN DEL TRATAMIENTO

A continuación, se detalla la composición de cada una de las intervenciones:

- Probiótico que se diseñará para este estudio: cápsulas con la mezcla de *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus thermophilus* y *Bifidobacterium lactis*, que mejoran control glucémico, aumentan los niveles de AGCC y ayudan en la regulación de las hormonas sexuales, disminuyendo los niveles de **testosterona** y DHEA en sangre (21). Cada cápsula de probiótico proporcionará 3×10^{10} UFC de estas tres cepas viables, en cantidades de 1×10^{10} UFC de cada cepa mencionada anteriormente. (20-22). El probiótico se administrará en cápsulas gastro-resistentes.
- Placebo: comprimido capsular con características físicas similares al probiótico en cuanto a sabor, olor y forma. No contiene probióticos, solamente el excipiente: maltodextrina (31).
- Metformina: se administrará la metformina. Cada cápsula contiene 850mg de metformina.

Las participantes del estudio dispondrán del tratamiento completo contenido en tres botes distintos en función del grupo al que pertenezcan. Los botes que contienen las cápsulas probióticas y de placebo son idénticas, solamente se diferencian por el código asignado, "A" para el probiótico, "B" para el placebo y "C" para la metformina. Todas las participantes deberán tomar dos cápsulas por día. Una cápsula junto con el desayuno y la segunda cápsula con la cena. Se administrará a las participantes 3 botes de 60 cápsulas, un total de 180 cápsulas habiendo así 12 cápsulas extra.

3.3.2. INTERVENCIÓN DIETÉTICA

Todas las mujeres que participen en el estudio recibirán una intervención dietética además del tratamiento independientemente del grupo al que pertenezcan. La intervención dietética consistirá en una clase teórica de 2 horas sobre la alimentación y nutrición para que puedan obtener unos conocimientos básicos impartidos por una nutricionista y entender la importancia de una adecuada y adaptada nutrición en el desarrollo del SOP. Además, a todas las participantes se le pautará una dieta personalizada por una nutricionista teniendo en cuenta sus hábitos, gustos y alergias o intolerancias. La dieta será normocalórica, aunque podría tener un aporte ligeramente hipocalórico en pacientes que presenten sobrepeso (IMC igual o mayor a 25 Kg/m^2). La dieta se basará en la dieta ¹² mediterránea que incluye el abundante consumo de alimentos vegetales, grasas insaturadas (siendo el aceite de oliva la principal fuente de grasas), carbohidratos complejos ricos en fibra de bajo IG, vitaminas, minerales y antioxidantes y en cambio, un consumo moderado de proteínas de origen animal, azúcares refinados, grasas saturadas y alimentos ultraprocesados (24). A continuación se detallan las características de esta dieta mediterránea en la pirámide (Figura 5). Además, las pautas se enfocarán al buen control glucémico, minimizando los alimentos de IG alto y priorizando los de IG medio y bajo. Los alimentos que aporten carbohidratos se combinarán siempre con grasas y proteínas de calidad para conseguir un mejor control glucémico. Se reducirá ligeramente el aporte de carbohidratos (40-45% del aporte energético total) y la proporción de proteínas y grasas será de 20-25% y 30-35% respectivamente. Se

priorizarán los alimentos frescos y de calidad, minimizando todo lo posible aimentos preparados, de mala calidad y ultraprocesados. (ANEXO I).

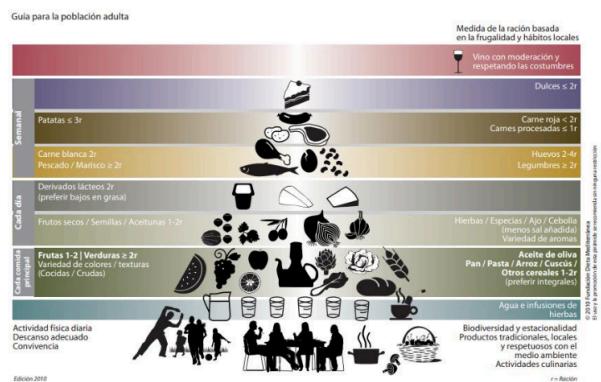


Figura 5: Pirámide de la Dieta Mediterránea. Fuente: Fundación Dieta Mediterránea (25)

A) Entrevista Inicial: En esta entrevista se llevarán a cabo las siguientes acciones:

- Explicación detallada del ensayo clínico y firma del consentimiento informado (ANEXO II).
- Anamnesis con especial importancia al apartado de "salud menstrual", donde se recogerán datos acerca de la edad de menarqua, duración habitual de los ciclos y duración de los últimos 3 ciclos, previa toma de anticonceptivos orales, embarazos previos etc. (ANEXO III).
- Recogida de la historia dietética, con un recordatorio de consumo de alimentos de 3 días para conocer los hábitos dietéticos actuales de las participantes (ANEXO IV).
- Recogida de las primeras medidas y muestras de los parámetros en tiempo basal, justo antes de la intervención.

B) Inicio de la intervención: Las participantes seleccionadas para el estudio deberán volver al centro a recoger los botes de probióticos, placebo o metformina, recibir la clase teórica de nutrición y las pautas dietéticas personalizadas y se dará comienzo a la intervención.

C) Visita intermedia: Se realizará una visita a mitad de la intervención, en la semana 6 para volver a recoger los datos y las muestras de la misma forma que se hizo en la primera visita. De nuevo, se analizarán las muestras recogidas y se calcularán las mismas variables. Se revisará si ha surgido cualquier duda o problema. De esta manera se asegurará un buen seguimiento.

D) Última visita: Al finalizar la intervención, en la semana 12, se hará una tercera y última visita, igual que las anteriores, para la última recogida de datos y muestras. También se recogerá la información sobre las enfermedades sufridas o la toma de fármacos si fuese el caso.

3.4. VARIABLES DE ESTUDIO, HERRAMIENTAS DE RECOGIDA DE MUESTRAS Y ANÁLISIS MANUAL

Las variables de análisis de este estudio son las que se mencionan a continuación. Se detalla también cómo se va a llevar a cabo la recogida de datos y muestras para poder analizarlas y cuáles son los equipos que se utilizarán para esto.

3.4.1. ANTROPOMETRÍA Y CLÍNICA

- Peso en kilogramos (Kg): báscula convencional
- Talla en centímetros (cm): tallímetro convencional
- IMC en Kg/m^2 = peso (Kg) / talla (m)² (23):
 - o Valores normales: 18,5-30 Kg/m^2
 - o Bajo peso: <18,5 Kg/m^2
 - o Obesidad: >30 Kg/m^2
- Hiperandrogenismo clínico: escala modificada de Ferriman Gallwey
 - o Resultados positivos en mujeres caucásicas: puntuación mayor a 8
- Disfunción ovulatoria, oligomenorrea: cuestionario salud hormonal (ANEXO III)
 - o Ciclos menstruales de más de 35 días o menos de 8 menstruaciones al año.
- Morfología ovárica poliquística: ecografía transvaginal. Frecuencia del transductor ≥ 8 MHz;
 - o Resultados positivos: 20 o más folículos por ovario en cualquiera de los dos ovarios o un volumen ovárico mayor o igual a 10cm³

3.4.2. HEMATOLOGÍA

- Glucosa e insulina: extracción de sangre y almacenamiento en tubo amarillo con gel separador.
 - o Valores normales de glucosa en sangre en ayunas: entre 70 y 99 mg/dl
 - o Valores normales de insulina en sangre en ayunas: entre 5 y 25 U/ml
- FSH, LH y testosterona total: extracción de sangre y almacenamiento en tubo amarillo con gel separador.
 - o Valores normales de FSH en sangre:
 - Fase folicular: 3 a 9 $\mu\text{U}/\text{ml}$
 - Pico ovulatorio: 4,55-22 $\mu\text{U}/\text{ml}$
 - Fase lútea: 1,8,5 $\mu\text{U}/\text{ml}$
 - o Valores normales de LH en sangre:
 - Fase folicular: 1,68 a 15 $\mu\text{U}/\text{ml}$
 - Pico de ovulación: 21,9 a 103,03 $\mu\text{U}/\text{ml}$
 - Fase lútea: 0,61 a 16,3 $\mu\text{U}/\text{ml}$
 - o Valores normales de testosterona total en sangre: 0,13-0,53 ng/ml

- Índice HOMA: se calcula mediante la fórmula:
$$\frac{[\text{insulina en ayunas } (\mu\text{U}/\text{ml}) \times \text{glucosa en ayunas } (\text{mg/dL})]}{405}$$
 (26).
 - o Los puntos de corte del índice HOMA varían según la raza, edad, género, otras comorbilidades, etc. Consideramos resultados positivos valores mayores a 4,65 o mayores a 3,6 si el IMC es mayor a 27,5 (26,27).
- Relación FSH/LH: utilizando los valores de FSH y LH previamente medidos.
 - o En pacientes con SOP aumenta la proporción de LH/FSH por lo que se comparará la relación entre estas dos hormonas previo y posterior a la intervención.

Se recogerán las muestras en la Universidad Europea en las visitas correspondientes y se transportarán a un laboratorio de análisis de sangre externo.

3.4.3. HECES

Muestra de heces. Se les administrará a los participantes un envase de 100ml aséptico de un solo uso para recogida de heces junto con espátula. La muestra deberá ser llevada a la Universidad Europea la misma semana de la primera visita (28).

3.4.4. DATOS METABÓLICOS

Se hará un test de tolerancia oral a la glucosa de un solo paso a los participantes para valorar la respuesta de la insulina. Primero se medirá la glucemia en ayunas (previa analítica). Después las participantes tomarán una solución que contenga 75g de glucosa. Se tomarán muestras de sangre 1 y 2 horas después y se medirán los niveles de glucosa en sangre (29). Se considerarán resultados normales de glucosa en sangre los siguientes (30):

- Ayunas (muestra de sangre 1): 60-99 mg/dl
- 1 hora (muestra de sangre 2): menos de 200 mg/dl
- 2 horas (muestra de sangre 3): menos de 140 mg/dl
 - De 140 a 199 mg/dl se considerará que hay una deficiencia de la tolerancia a la glucosa (14)
 - Valores mayores a 200 mg/dl significarán presencia de diabetes

3.5. ANÁLISIS DE RESULTADOS

SPSS Statistics será el software que se utilizará en el análisis estadístico.

En primer lugar, se hará un análisis descriptivo de los resultados en el que se calcularán las variables continuas, parámetros como la media y la desviación estándar. Y para las variables categóricas, el porcentaje respecto al total.

Se compararán las variables continuas de dos maneras. Por una parte, se realizarán comparaciones con T de Student o U de Mann Whitney en función de su distribución (según la prueba de normalidad de Shapiro-Wilk):

- Control Vs. Control Positivo
- Control Vs. Probióticos
- Control positivos Vs. Probióticos

Por otra parte, se llevará a cabo un análisis de varianza de una vía (ANOVA) para comparar los tres grupos de la intervención a la vez.

En los dos casos se harán aproximaciones con un nivel de significación al 95% de confianza.

Para las variables categóricas se utilizará Chi Cuadrado también al 95% de confianza.

3.6. CONSIDERACIONES ÉTICAS

Antes de llevar a cabo esta intervención deberá someterse a una evaluación por parte de un Comité de Ética de la Investigación con medicamentos (CEIm) en el marco de la Declaración de Helsinki de 1975, siguiendo las leyes nacionales y locales de la legislación española.

Será imprescindible asegurar el anonimato y la confidencialidad de los datos personales y médicos de las pacientes. Para ello, se utilizarán códigos y únicamente el equipo investigador autorizado podrá acceder a estos datos.

Todas las participantes deberán de firmar un informe de consentimiento informado (anexo II) en el que se les informará de manera adecuada y detallada acerca de la intervención: cuáles son los objetivos, los procedimientos que se llevarán a cabo, los posibles riesgos y beneficios, etc.

Se deberá de vigilar y controlar el desarrollo de efectos adversos y siempre se deberá de velar por la seguridad de las participantes, adaptando las medidas necesarias de cese de la intervención en caso de que fuera necesario.

4. CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES DE LA INTERVENCIÓN

A continuación se detalla el cronograma de la intervención:

Tabla 1. Cronograma de actividades a desarrollar

3 meses anteriores al inicio de la intervención	<ul style="list-style-type: none"> - Reclutamiento de las pacientes en la Clínica Universidad de Navarra, aplicando los criterios de inclusión y exclusión - Asignación de un código a cada una de las pacientes - Asignación de las pacientes a los grupos de estudio mediante el servicio web de "Randomizer" - Producción de las cápsulas de probióticos y placebo
2 semanas antes del inicio	<ul style="list-style-type: none"> - Recibimiento de las pacientes en la Universidad Europea. Será por la mañana a primera hora, las pacientes deberán ir en ayunas

de la intervención	<ul style="list-style-type: none"> - Primera entrevista en la que se explicará detalladamente en qué consiste la intervención - Firma del documento de consentimiento informado (ANEXO II) - Anamnesis e historia dietética de cada participante (ANEXO III y ANEXO IV) - Toma de medidas antropométricas y muestras de sangre. Facilitar a las participantes envases de recogida de heces que deberán llevar a la Universidad Europea esa misma semana - Realización del test de tolerancia oral a la glucosa - Análisis de las muestras de sangre y heces y comprobación del cumplimiento de los criterios de inclusión y exclusión
Semana previa al inicio de la intervención	<ul style="list-style-type: none"> - Vuelta a la Universidad Europea de todas las pacientes que cumplan los criterios para seguir en el estudio - Intervención dietética. Clase teórica acerca de la importancia de la alimentación y la nutrición en el SOP impartida por una nutricionista - Pautar dieta personalizada a cada participante de manera individual, por nutricionistas. Explicación de la dieta - Distribuir los probióticos, placebo y metformina a las pacientes e inicio de la intervención - Distribuir dos botes de recogida de heces para traerlas en las próximas visitas
Día 1 de la intervención	<ul style="list-style-type: none"> - Inicio de la intervención - Inicio de la aplicación de las pautas dietéticas + toma de probióticos / placebo / metformina - Documentación de problemas de salud o toma de fármacos
Semana 6 de la intervención	<ul style="list-style-type: none"> - Visita a mitad de la intervención en la Universidad Europea para: <ul style="list-style-type: none"> - Recogida de anamnesis e historia dietética (ANEXO III y ANEXO IV) - Toma de medidas antropométricas - Toma de muestras de sangre para repetir las mediciones - Repetir el test de tolerancia oral a la glucosa - Recogida de la muestra de heces traída de casa - Tener constancia de cualquier problema que haya podido surgir e intentar ponerle solución - Análisis de las muestras de sangre y heces y análisis de resultados
Semana 12 y última de la intervención	<ul style="list-style-type: none"> - Visita final en la Universidad Europea. Se repetirá el mismo procedimiento de la semana 6 - Análisis de las muestras de sangre y heces y análisis de resultados
Después de la intervención durante 2 semanas	<ul style="list-style-type: none"> - Análisis de datos, de los resultados de la intervención mediante SPSS Statistics y conclusiones

5. LIMITACIONES DEL ESTUDIO

Este estudio de intervención presenta varias limitaciones. Una de ellas es el riesgo de la pérdida de participantes y por tanto la reducción del tamaño muestral durante el estudio. Es posible que algunas de las participantes no cumplan el protocolo, no sigan las recomendaciones dietéticas, no tomen la suplementación de manera adecuada, no acudan a las visitas o por otras causas externas deban abandonar el estudio, reduciendo así la potencia estadística de este estudio. Será importante llevar un seguimiento cercano.

Además, se debe tener en cuenta la alta variabilidad individual tanto de la microbiota, como de la dieta. Por lo que la respuesta a los probióticos puede ser muy diversa. Para intentar corregir esto será imprescindible dar pautas dietéticas sencillas y claras incidiendo en la implicación de la alimentación en esta patología durante la clase teórica, así como controlar factores de confusión tales como el consumo de alcohol, tabaco, etc.

En cuanto al manejo de las muestras, es importante asegurar una correcta extracción, almacenamiento y análisis de las mismas (tanto de sangre como de heces) para evitar errores en los resultados. Para ello, se contará con un equipo debidamente especializado.

Además, hay que tener en cuenta que tanto los probióticos, como la metformina así como la intervención dietética pueden afectar a la modulación de la microbiota intestinal y de los parámetros bioquímicos por lo que puede haber una interacción cruzada entre las intervenciones y puede resultar difícil aislar los efectos del probiótico ante el tratamiento farmacológico. Aun así, dada la importancia de la alimentación en el desarrollo y curso del SOP y teniendo en cuenta que estas pacientes presentan RI, no sería ético no realizar la intervención dietética, por lo que se asumirá esta limitación.

6. ORGANIZACIÓN DEL TRABAJO Y RECURSOS HUMANOS

El equipo de trabajo constará de un **director** que será quien supervise que todo dentro del estudio se está llevando a cabo de manera correcta y de las directrices necesarias en cada momento.

Además, se necesitarán dos **enfermeras** para llevar a cabo la correcta recogida, manejo y transporte al laboratorio de análisis de las muestras biológicas. Constarán de la ayuda de un técnico de laboratorio. También realizarán el test de tolerancia oral a la glucosa.

Las tareas de recogida de datos y anamnesis, realización de mediciones antropométricas, así como el historial dietético serán realizadas por tres **nutricionistas** en cada una de las visitas. Quienes también estarán encargados de desarrollar la clase teórica sobre nutrición y de preparar los planes nutricionales para cada una de las participantes. Las nutricionistas realizarán también el análisis de datos.

Se deberá contar con la colaboración de un **médico ginecólogo** para realizar las ecografías transvaginales y recetar la metformina a las participantes del grupo de metformina + intervención dietética.

7. RECURSOS MATERIALES Y PRESUPUESTO ECONÓMICO

Los recursos materiales y humanos necesarios para llevar a cabo este estudio de intervención y que supondrán un gasto económico se detallan en la siguiente tabla (Tabla 2).

Parte del material, como ordenadores o ecógrafos, será cedido para el estudio tanto por la Universidad Europea como por la Clínica Universidad de Navarra, por lo que no tendrá un gasto económico.

Tanto los análisis sanguíneos y de la microbiota como el test de tolerancia oral a la glucosa se realizarán en cada visita, por lo que su importe se debe multiplicar por tres (antes de la intervención, a mitad de la intervención y tras la intervención).

Se estima que el estudio tendrá una duración de 4 meses (fase de reclutamiento, intervención y análisis de los resultados) por lo que se deberá contar con la participación y el sueldo del director y los nutricionistas por estos 4 meses. En cambio, se contará con el apoyo de las enfermeras, el técnico de laboratorio y el médico / ginecólogo puntualmente en las visitas de las participantes.

Tabla 2. Presupuesto económico

RECURSOS	DETALLES	TARIFA ESTIMADA	TOTAL (euros)
(euros)			
Materiales			
- De laboratorio y recogida de muestras	Guantes, kits, tubos, agujas...	300-500	300-500
- Antropométricos	Báscula, tallímetro, cinta métrica	80-100	80-100
- De oficina	Bolígrafos y cuadernos	20-40	20-40
	Ordenadores	0, prestados por la Universidad Europea	0
- De ecografía	Ecógrafo transvaginal con frecuencia del transductor ≥ 8 MHz	0, prestado por la Clínica Universidad de Navarra	0
- Test de tolerancia oral a la glucosa	Soluto, análisis de sangre, etc.	40-50 x 90 participantes x 3 veces	10.800-13.500
Suplementos, fármacos			
- Probiótico, incluido producción	Botes de 60 cápsulas	20 por bote x 3 botes x 30 participantes	1.800
	Botes de 60 cápsulas	3,5-5 por bote x 3 botes x 30 participantes	315-450

- Metformina	Gratis o casi gratis si es recetado, o genérico	3 botes x 30 participantes	0-300
Ánalisis de sangre, laboratorio externo			
- Básica	Glucosa, insulina	20-40 x 90 participantes x 3 veces	5.400-10.800
- Hormonales	FSH, LH, testosterona x 90 participantes x 3 veces	30-50 x 90 participantes x 3 veces	8.100-13.500
Transporte de muestras al laboratorio			
Ánalisis de la microbiota		Secuenciación masiva del metagenoma humano x 90 participantes x 3 veces	40.500-81.000
Software estadístico	Licencia básica de SPSS	Un máximo de 6 meses	40-50
Recursos humanos			
- Director	1 director	2.500/mes x 5 meses	12.500
- Enfermeras	2 enfermeras x 3 días	150/día x persona	900
- Técnico de laboratorio	1 técnico de laboratorio x 3 días	150/día	450
- Nutricionistas	3 nutricionistas	2.000/mes x persona x 5 meses	30.000
- Médico /ginecólogo	1 médico / ginecólogo x 3 días	200/día	600
Otros	Gastos administrativos, impresiones...	100-200	100-200
TOTAL (euros)			112.405-167.490

Además será conveniente añadir un 10% para posibles imprevistos o complicaciones y un 10% para la difusión de resultados en publicaciones, congresos etc., por lo que será un presupuesto final de entre **134.886-200.907 euros**.

8. RESULTADOS ESPERADOS

Se espera observar una mayor mejoría de la RI, parámetros bioquímicos y hormonales y por tanto de la regularidad menstrual en el grupo de intervención con probióticos, en comparación con los grupos de control y metformina, apoyando los resultados recogidos en la revisión sistemática de Pooneh et al. (2023), donde basándose en distintos ensayos clínicos, justifican que la suplementación con probióticos es efectiva en la mejora de estos parámetros relacionados con el SOP (14). De la misma manera, Kaur et al. en 2022 también demostraron que el tratamiento probiótico junto con

modificaciones en la dieta mejoró de manera significativa la relación LH/FSH, los niveles androgénicos, la RI y por tanto la regularidad del ciclo menstrual en mujeres con SOP (31).

También se prevé observar un aumento de la diversidad y proporción de la microbiota intestinal en el grupo de pacientes tratado con probióticos tal y como se ha demostrado en diversos estudios de intervención con probióticos como el que llevaron a cabo Kaur et al. en 2022 (31).

Por otro lado, se espera que los hábitos dietéticos de las pacientes en los tres grupos mejoren gracias a la información adquirida y a lo aprendido durante la intervención, lo cual se evaluará mediante los hábitos dietéticos referidos por las pacientes en la última visita.

En cuanto a los parámetros antropométricos, la mejora del patrón alimentario basándose en la dieta mediterránea, la disminución de carbohidratos refinados y el control de los carbohidratos consumidos, se espera que de como resultado la mejora de la composición corporal de manera indirecta (24). Esto se ha demostrado en numerosos estudios, como por ejemplo en el que llevaron a cabo en 2019 Barrea et al. o en 2022 Kaur et al. en los que la composición corporal en mujeres con SOP mejoró después de una adecuada intervención dietética (24,31).

En lo que se refiere al estado metabólico, se espera observar un mejor control glucémico y una menor RI tras la intervención, reflejada en un índice HOMA menor y una mejor tolerancia oral a la glucosa (2,21). Gracias al mejor control glucémico, se verá reducida la hiperinsulinemia compensatoria, estimada por la insulina en ayunas. Estos resultados se esperan en los tres grupos gracias a la mejora del patrón dietético, pero se prevé que el efecto sea mayor en el grupo de probióticos, ya que, tal y como proponen Marsh et al. (2010) no está claro el mayor beneficio en la mejora de la RI en mujeres con SOP con el uso de metformina en comparación con una adecuada intervención dietética, y en cambio, como demostraron Kaur et al. (2022) si que se ha visto una mayor mejora en estos parámetros gracias a la toma de probióticos junto con la modificación de la dieta (31,32).

Además, se prevé contemplar el descenso de la inflamación del TA. Se anticipa observar estos resultados de nuevo en los tres grupos, respaldando los resultados obtenidos en el estudio llevado a cabo por Castro-Baquero et al. (2023) en el que observaron que la reducción de la adiposidad visceral como resultado del cambio a un patrón alimentario mediterráneo mejora parámetros inflamatorios y de adiponectinas (33). Se espera que la mejora sea más acentuada en el grupo de probióticos, teniendo en cuenta resultados observados en estudios anteriores como en el que realizaron Karamali et al. (2018), que estudiaron la disminución de la inflamación reflejado en parámetros como la proteína C reactiva plasmática (34). De manera bidireccional, esto tendrá un impacto positivo en la RI, la inflamación general y la secreción de hormonas tal y como se ha detallado en la fisiopatología del SOP (1).

Desde el punto de vista hormonal, en base a los estudios de Kaur et al. (2022) que evidenciaron que el tratamiento con probióticos junto con una intervención dietética adecuada mejoró parámetros hormonales de las mujeres con SOP, se espera una disminución de los andrógenos (testosterona libre

y testosterona total) circulantes, al igual que un mejor equilibrio del estado hormonal general, reflejado en una mejor proporción de FSH/LH en el grupo de probióticos (31). Esto se estima que derivará a su vez en la mejora de los signos clínicos del SOP como el hirsutismo o la disfunción ovulatoria, mejorando así la calidad de vida de las participantes (1,13).

Gracias a la intervención dietética así como a la toma de probióticos, se espera que la microbiota intestinal de todas las participantes mejore aumentando la proporción de *Lactobacillus* y *Bifidobacterium* dando como resultado una disminución del estado inflamatorio derivado de la microbiota (12–14,18) Esto contribuirá tanto al equilibrio hormonal como a un mejor estado metabólico teniendo en cuenta estudios realizados anteriormente como el que llevaron a cabo Kaur et al. en 2022 (31). Esta mejoría se estima que sea mayor en el grupo de probióticos por la toma de estos.

9. APPLICABILIDAD DE RESULTADOS

Pese a la alta prevalencia del SOP, su enfoque terapéutico sigue sin estar claro, lo que deriva en el incorrecto manejo de esta condición en muchas de las mujeres que lo sufren. Esto impacta significativa y negativamente en la calidad de vida de estas pacientes, dando como resultado signos físicos que pueden condicionar la percepción de la imagen corporal y su autoestima, desequilibrios hormonales y alteraciones metabólicas. A esto se le suma que la mayoría de tratamientos farmacológicos que se usan en la actualidad como la metformina, presentan limitaciones en lo que se refiere a su eficacia sostenida, tolerancia y adherencia.

¹ Pese a que la metformina es el tratamiento de primera línea actual en mujeres con SOP y RI, es cierto que en algunos estudios como en el que llevaron a cabo por Marsh et al. (2010) no se han observado mayores beneficios de la toma de metformina respecto a otras intervenciones como la dietética.

Por todo esto, el presente estudio propone una intervención más completa basada en el cambio de los hábitos dietéticos y la intervención con probióticos, como una alternativa no farmacológica útil y viable para abordar el SOP de manera integral.

Se espera que los resultados de este estudio contribuyan al desarrollo de estrategias eficientes para mejorar los signos y síntomas del SOP. Así como para mejorar la calidad de vida de las pacientes al retirar el componente farmacológico, evitando los efectos secundarios derivados de su uso.

Los resultados podrían indicar que la combinación de hábitos dietéticos adecuados, junto con la administración de un probiótico multicepa adecuado podría ayudar a aminorar de manera significativa los signos y síntomas del SOP, mejorando los parámetros metabólicos, hormonales y clínicos.

Este estudio es relevante para la práctica clínica así como para la salud pública, ya que brinda un nuevo enfoque en el manejo del SOP, correcto y sostenible en el tiempo, en línea con recomendaciones sobre salud y estilo de vida actuales. Si se logra confirmar estos resultados, este nuevo enfoque, podría ser una herramienta terapéutica prometedora y segura para las pacientes con SOP y RI.

BIBLIOGRAFÍA

1. Ortiz-Flores AE, Luque-Ramírez M, Escobar-Morreale HF. Síndrome de ovario poliquístico en la mujer adulta. *Med Clin (Barc)*. 2019;152(11):450-7.
2. Johnson C, Garipoğlu G, Jeanes Y, Frontino G, Costabile A. The role of diet, glycaemic index and glucose control in polycystic ovary syndrome (PCOS) management and mechanisms of progression. *Curr Nutr Rep*. 2025;14(1):8.
3. World Health Organization. Síndrome del ovario poliquístico [Internet]. Geneva: WHO; [citado 26 de febrero de 2025]. Disponible en: <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/polycystic-ovary-syndrome>
4. Escobar-Morreale HF. Polycystic ovary syndrome: definition, aetiology, diagnosis and treatment. *Nat Rev Endocrinol*. 2018;14(5):270-84.
5. Albardan L, Platat C, Kalupahana NS. Role of omega-3 fatty acids in improving metabolic dysfunctions in polycystic ovary syndrome. *Nutrients*. 2024;16(17):2961.
6. Shaaban Z, Khoradmehr A, Amiri-Yekta A, Nowzari F, Jafarzadeh Shirazi MR, Tamadon A. Pathophysiologic mechanisms of insulin secretion and signaling-related genes in etiology of polycystic ovary syndrome. *Genet Res (Camb)*. 2021;2021:7781823.
7. BioRender [Internet]. [citado 27 de febrero de 2025]. Disponible en: <https://app.biorender.com/>
8. Bril F, Ezeh U, Amiri M, Hatoum S, Pace L, Chen YH, et al. Adipose tissue dysfunction in polycystic ovary syndrome. *J Clin Endocrinol Metab*. 2023;109(1):10-24.
9. Teede HJ, Misso ML, Costello MF, Dokras A, Laven J, Moran L, et al. Recommendations from the international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. *Hum Reprod*. 2018;33(9):1602-18.
10. Teede HJ, Tay CT, Laven J, Dokras A, Moran LJ, Piltonen TT, et al. Recommendations from the 2023 international evidence-based guideline for the assessment and management of polycystic ovary syndrome. *Fertil Steril*. 2023;120(4):767-93.
11. Christ JP, Cedars MI. Current guidelines for diagnosing PCOS. *Diagnostics (Basel)*. 2023;13(6):1113.
12. Duan L, An X, Zhang Y, Jin D, Zhao S, Zhou R, et al. Gut microbiota as the critical correlation of polycystic ovary syndrome and type 2 diabetes mellitus. *Biomed Pharmacother*. 2021;142:112094.

13. Guo J, Shao J, Yang Y, Niu X, Liao J, Zhao Q, et al. Gut microbiota in patients with polycystic ovary syndrome: a systematic review. *Reprod Sci.* 2022;29(1):69-83.
14. Angoorani P, Ejtahed HS, Ettehad Marvasti F, Taghavi M, Mohammadpour Ahranjani B, Hasani-Ranjbar S, et al. The effects of probiotics, prebiotics, and synbiotics on polycystic ovarian syndrome: an overview of systematic reviews. *Front Med (Lausanne).* 2023;10:1141355.
15. de Medeiros Garcia Torres M, Lanza DCF. A standard pipeline for analyzing the endometrial microbiome. *Reprod Sci.* 2024;31(8):2163-73.
16. Wang T, Sha L, Li Y, Zhu L, Wang Z, Li K, et al. Dietary α -linolenic acid-rich flaxseed oil exerts beneficial effects on polycystic ovary syndrome through sex steroid hormones-microbiota-inflammation axis in rats. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2020;11:284.
17. Singh S, Pal N, Shubham S, Sarma DK, Verma V, Marotta F, et al. Polycystic ovary syndrome: etiology, current management, and future therapeutics. *J Clin Med.* 2023;12(4):1454.
18. Chae YR, Lee YR, Kim YS, Park HY. Diet-induced gut dysbiosis and leaky gut syndrome. *J Microbiol Biotechnol.* 2024;34(4):747-56.
19. Hernández M, Quijada NM, Rodríguez-Lázaro D, Eiros JM. Aplicación de la secuenciación masiva y la bioinformática al diagnóstico microbiológico clínico. *Rev Argent Microbiol.* 2020;52(2):150-61.
20. Shamasbi SG, Ghanbari-Homayi S, Mirghafourvand M. The effect of probiotics, prebiotics, and synbiotics on hormonal and inflammatory indices in women with polycystic ovary syndrome: a systematic review and meta-analysis. *Eur J Nutr.* 2020;59(2):433-50.
21. Tiderencel A. Probiotics for the treatment of type 2 diabetes: a review of randomized controlled trials. *Diabetes Metab Res Rev.* 2020;36(5):e3213.
22. He Y, Wang Q, Li X, Wang G, Zhao J, Zhang H, et al. Lactic acid bacteria alleviate polycystic ovarian syndrome by regulating sex hormone related gut microbiota. *Food Funct.* 2020;11(6):5192-204.
23. Wu Y, Li D, Vermund SH. Advantages and limitations of the body mass index (BMI) to assess adult obesity. *Int J Environ Res Public Health.* 2024;21(6):757.
24. Barrea L, Arnone A, Annunziata G, Muscogiuri G, Laudisio D, Salzano C, et al. Adherence to the mediterranean diet, dietary patterns and body composition in women with polycystic ovary syndrome (PCOS). *Nutrients.* 2019;11(10):2278.
25. Fundación Dieta Mediterránea ¿Qué es la dieta mediterránea? [Internet]. [citado 21 de abril de 2025]. Disponible en: <https://dietamediterranea.com/nutricion-saludable-ejercicio-fisico/>

26. Gastaldelli A. Measuring and estimating insulin resistance in clinical and research settings. *Obesity (Silver Spring)*. 2022;30(8):1549-63.
27. Tang Q, Li X, Song P, Xu L. Optimal cut-off values for the homeostasis model assessment of insulin resistance (HOMA-IR) and pre-diabetes screening: developments in research and prospects for the future. *Drug Discov Ther*. 2015;9(6):380-5.
28. Fiallos AVD la T, Rodríguez JO, Aroca SS. Condiciones para la toma de muestras de heces. *Rev Científ Arbitrada Multidisciplinaria PENTACIENCIAS*. 2023;5(6):526-30.
29. Sampac. Manual obtención y manejo muestras [Internet]. [citado 19 de marzo de 2025]. Disponible en: https://sampac.es/images/site/documentacion/protocolos/otros/Manual_Obtencion_y_Manejo_Muestras_1.pdf
30. MedlinePlus. Prueba de tolerancia a la glucosa - que no están embarazadas [Internet]. [citado 25 de marzo de 2025]. Disponible en: <https://medlineplus.gov/spanish/ency/article/003466.htm>
31. Kaur I, Suri V, Sachdeva N, Rana SV, Medhi B, Sahni N, et al. Efficacy of multi-strain probiotic along with dietary and lifestyle modifications on polycystic ovary syndrome: a randomised, double-blind placebo-controlled study. *Eur J Nutr*. 2022;61(8):4145-54.
32. Marsh KA, Steinbeck KS, Atkinson FS, Petocz P, Brand-Miller JC. Effect of a low glycemic index compared with a conventional healthy diet on polycystic ovary syndrome. *Am J Clin Nutr*. 2010;92(1):83-92.
33. Castro-Barquero S, Casas R, Rimm EB, Tresserra-Rimbau A, Romaguera D, Martínez JA, et al. Loss of visceral fat is associated with a reduction in inflammatory status in patients with metabolic syndrome. *Mol Nutr Food Res*. 2023;67(4):2200264.
34. Karamali M, Eghbalpour S, Rajabi S, Jamilian M, Bahmani F, Tajabadi-Ebrahimi M, et al. Effects of probiotic supplementation on hormonal profiles, biomarkers of inflammation and oxidative stress in women with polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. *Arch Iran Med*. 2018;21(1):1-7.
35. Fux Otta C, Wior M, Iraci GS, Kaplan R, Torres D, Gaido MI, et al. Clinical, metabolic, and endocrine parameters in response to metformin and lifestyle intervention in women with polycystic ovary syndrome: a randomized, double-blind, and placebo control trial. *Gynecol Endocrinol*. 2010;26(3):173-8.

ANEXOS

ANEXO I. PAUTAS DIETÉTICAS

ALIMENTOS ACONSEJADOS Y DESACONSEJADOS:

ALIMENTOS	PRIORIZAR	EVITAR
Cereales y harinas	Cereales integrales y harinas integrales (pan integral, pasta integral...)	Cereales blancos, harinas blancas, harinas refinadas...
	Cereales blancos junto con alimentos ricos en fibra (verdura, fruta...)	(bollería, galletas, dulces, pan blanco, pan de molde...)
Tubérculos	Patata y boniato cocido, asado... si ha pasado 12h en la nevera tras cocerse mejor	Fritos
Lácteos	Naturales	Azucarados
Carne	Blanca (pollo, pavo, conejo) y cortes magros como el lomo de cerdo. Roja de calidad con menor frecuencia.	Carnes procesadas de (chorizos, salchichas, embutido, hamburguesas...)
	Fiambres o carnes procesadas de calidad (pechuga de pavo, pollo, jamón cocido, jamón, hamburguesas...)	Fritos y empanados
Pescado/marisco	Todos los demás	Palitos de pescado, palitos de cangrejo, nuggets de pescado... Fritos, rebozados
Huevos	A la plancha, revueltos, duros, escalfados...	Frito
Verduras y hortalizas	Todas	-
Fruta	Todas, en entero Ojo dátiles	Frutas deshidratadas, escarchadas, macedonias, zumos, batidos...
Frutos secos	Crudos, tostados sin sal	Fritos, con sal etc.
Grasas	Aceite de oliva virgen extra, aguacate, semillas, frutos secos...	Aceites refinados, mantecas (ultraprocesados, bollería, snacks...)
Bebidas	Agua, infusiones, café, agua con gas, kombucha	Refrescos, zumos, bebidas energéticas, batidos, alcohol
Otros	Canela, vainilla... (edulcorantes)	Azúcar, azúcares, miel, melaza...
	Técnicas de cocinado limpias: vapor, horno, papillote, plancha, hervidos, salteado...	Fritos, rebozados, empanados...

Otros **factores que afectan al índice glucémico** (hacen que este aumente / disminuye):

- **Fibra:** retrasa el acceso de las enzimas que degradan los hidratos de carbono complejo y disminuye su absorción. A mayor fibra, menor IG.
- **Cocción:** a mayor hidratación y mayor cocción con calor, mayor IG. Se recomiendan cocciones al dente o "duras" en otros productos.
- **Enfriamiento tras calor:** cuando el almidón somete a calor y luego se vuelve a enfriar, se forma almidón resistente, que no se degrada y absorbe. A mayor cantidad de almidón resistente, menor IG baja. Se recomienda hacerlo en la pasta, el arroz o la patata (cocerlo el día anterior, guardarla en la nevera)
- **Maduración:** a mayor maduración, mayor IG. Elige frutas en su punto de madurez y no demasiado pasadas.
- **Combinaciones:** en comidas que combinen los hidratos de carbono con alimentos con grasas y proteínas saludables, menor IG.
- **Textura:** los alimentos enteros o en trozos grandes se absorben más lentamente que los líquidos. Mejor porciones enteras que zumos.

OPCIONES / IDEAS DE COMIDAS Y COLACIONES

DESAYUNOS:

- Yogur natural / griego natural + fruta + frutos secos
- Tostada de pan integral + aceite + tomate + jamón / pavo
- Tortitas de harina integral de avena + plátano + huevo + leche
- Tortilla francesa / de espinacas + tortitas de arroz + fruta

CENAS: verdura + proteína (+ hidratos de carbono complejos)

- Crema de verduras + pollo a la plancha con arroz integral
- Ensalada mixta + pescado al horno con patata
- Lentejas + quinoa con setas
- Sopa de verduras + guiso de conejo con zanahoria y patata
- Ensalada completa de pasta, con huevo duro y atún
- ...

Postre y pan igual que a mediodía

COLACIONES

- Fruta
- Frutos secos
- Tortitas de arroz integral / sarraceno / quinoa
- Yogur natural
- Hummus de garbanzo con palitos de zanahoria
- Guacamole con palitos de zanahoria
- Tomatitos Cherry

Y depende del hambre que haya, se pueden hacer combinaciones entre ellos

Postres:

- Fruta
- Compota de manzana casera / manzana asada con canela
- Yogur natural
- Una onza de chocolate negro (>75%)

Pan: un trozo pequeño para acompañar (30-40g), mejor pan integral

ANEXO II. CONSENTIMIENTO INFORMADO

CONSENTIMIENTO INFORMADO

Datos personales del voluntario

Yo, D./Dña. _____ con DNI nº _____ declaro bajo mi responsabilidad que he leído hoja de información sobre el estudio de intervención nutricional en el que se me ha invitado a participar y acepto mi inclusión.

Seguimiento del procedimiento legal de información

Se me ha hecho entrega de una copia de la hoja de información y de este consentimiento informado y se me ha explicado detalladamente, en un lenguaje comprensible y sin tecnicismos las características y el propósito del estudio, de los posibles beneficios y riesgos asociados y, además, lo he comprendido. Se me ha facilitado tiempo y ocasión para formular las preguntas sobre el estudio que se me han planteado y éstas han sido correctamente solventadas.

Confirmación de anonimización

Conozco que mi identidad se mantendrá codificada en todo momento para mantener el anonimato.

Voluntariedad

Sé que tengo la opción de abandonar el estudio en cualquier momento sin dar cuenta de la causa.

Fin investigador

Entiendo que el propósito del estudio consiste en la evaluación de la población objeto del proyecto con fines de investigación.

Acceso a resultados obtenidos

Comprendo que, una vez terminado el estudio y si deseo conocer el resultado de mis pruebas, tendré que solicitarlo a través de mi identificación legal para proteger mi privacidad en todo momento

Obtención de autorización para cada una de las acciones que se van a llevar a cabo

Yo Doy/ No Doy mi consentimiento voluntario para que se me recojan datos acerca de hábitos dietéticos, de estilo de vida, médicos, antropométricos (peso, altura y circunferencias) y cualquier otro no invasivo para la consecución de este ensayo.

Yo Doy/ No Doy mi consentimiento voluntario para que se lleve a cabo las extracciones sanguíneas y se recojan muestras de mi saliva, orina y heces para realizar las determinaciones analíticas que sean necesarias en este estudio que sean puestas a disposición del centro x responsable de analizar la biodisponibilidad de los productos del estudio.

Yo Doy/ No Doy mi consentimiento voluntario para que los datos de salud disociados de mi identidad (codificados) se puedan utilizar por parte de colaboradores externos de otros grupos de investigación que estén incluidos en este proyecto.

Autorización para contacto posterior

Yo Doy/ No Doy mi consentimiento voluntario para que se me mantenga informado a través de mi correo electrónico y/o teléfono sobre futuros estudios clínico-nutricionales en los que pueda colaborar.

Autorización para pruebas posteriores dentro del mismo estudio o línea de investigación

Yo Doy/ No Doy mi consentimiento voluntario para que, en caso de que sobrase, se guarde acorde la ley vigente de conservación parte de mis muestras biológicas con los datos disociados y que estas puedan ser utilizadas con posterioridad para realizar pruebas complementarias asociadas a este proyecto.

ANEXO III. HISTORIA CLÍNICA Y SALUD HORMONAL DE LA PARTICIPANTE

HISTORIA CLÍNICA

Datos personales y de contacto			
Nombre		Apellidos	
Fecha de nacimiento		Edad	
Oficio		Turno de trabajo	
Población		Estado civil	
Teléfono		Email	
Datos antropométricos			
Talla			
Peso	Peso actual		
	Peso máx. registrado		
	Peso min. registrado		
Datos clínicos, antecedentes y hábitos			
Enfermedades		Dietas anteriores	
Tratamientos farmacológicos		Suplementación	
Operaciones		Alergias / intolerancias	
Antecedentes	Personales		
	Familiares		
Datos analíticos relevantes			
Sistema digestivo	Trastornos digestivos		
	Frecuencia defecatoria		
Actividad física		Frecuencia	
Estrés / ansiedad		Sueño	
Tabaco		Alcohol / drogas	
Salud menstrual			
Edad de menarquía		Diagnóstico	
Tratamientos			
Nº de menstruaciones al año			
Duración del ciclo			
Síntomas menstruales: dolor inflamación, mareos...			
Síntomas asociados: acné, hirsutismo, alopecia...			
Embarazos y/o abortos			

ANEXO IV. HISTORIA DIETÉTICA – RECORDATORIO DE TRES DÍAS

HISTORIA DIETÉTICA

Hábitos dietéticos			
Come solo / acompañado		Quién cocina	
Nº de comidas que se realizan al día			
Alimentos que evita y razón (aversiones, malas digestiones...)			
		Horario	Dónde se realizan
Horario de comidas y dónde se realizan entre semana	Desayuno		
	Media mañana		
	Comida		
	Merienda		
	Cena		
	Recena / otros		
Horario de comidas y dónde se realizan el fin de semana	Desayuno		
	Media mañana		
	Comida		
	Merienda		
	Cena		
	Recena / otros		
Recordatorio de 3 días			
		Hora	Alimentos
Día 1 (entre semana)	Desayuno		
	Media mañana		
	Comida		
	Merienda		
	Cena		
	Recena / otros		
Día 2 (entre semana)	Desayuno		
	Media mañana		
	Comida		
	Merienda		
	Cena		
	Recena / otros		
Día 3 (fin de semana)	Desayuno		
	Media mañana		
	Comida		
	Merienda		
	Cena		
	Recena / otros		
NOTAS			

IMPACTO DE LA INTERVENCIÓN DIETÉTICA Y LA TOMA DE PROBIÓTICOS SOBRE LA MICROBIOTA, LA RESISTENCIA A LA INSULINA Y LOS NIVELES HORMONALES (ANDRÓGENOS Y FSH-LH) EN UNA POBLACIÓN.pdf

ORIGINALITY REPORT



PRIMARY SOURCES

1	repository.uia.ac.cr:8080	1%
2	www.fasgo.org.ar	<1%
3	ebuah.uah.es	<1%
4	repository.unican.es	<1%
5	baixardoc.com	<1%
6	mail.polodelconocimiento.com	<1%
7	cybertesis.unmsm.edu.pe	<1%
8	openaccess.uoc.edu	<1%

9	huggingface.co	<1 %
10	ipi.oregonstate.edu	<1 %
11	digibuo.uniovi.es	<1 %
12	hdl.handle.net	<1 %
13	Submitted to BENEMERITA UNIVERSIDAD AUTONOMA DE PUEBLA BIBLIOTECA Student Paper	<1 %
14	webooks.co	<1 %

Exclude quotes On

Exclude bibliography On

Exclude matches < 21 words