



PROCESO DE COORDINACIÓN DE ENSEÑANZAS DE LA
FACULTAD DE CIENCIAS DE LA UEx (P/CL009_FC)



Asunto:
Plan Docente Curso 2022-23

Código:
P/CL009_D002_BTC



UNIVERSIDAD DE EXTREMADURA

FACULTAD DE CIENCIAS

Grado en BIOTECNOLOGÍA

MEMORIA DEL TRABAJO FIN DE GRADO

**INTERACCIÓN DEL MICROBIOMA UTERINO-VAGINAL
EN LA REPRODUCCIÓN HUMANA Y EL PAPEL DE LOS
PROBIÓTICOS NATURALES**

ANA ORTIZ VALVERDE

JULIO, 2023

D. IGNACIO SANTIAGO ÁLVAREZ MIGUEL, profesor del Departamento de ANATOMÍA, BIOLOGÍA CELULAR Y ZOOLOGÍA de la Universidad de Extremadura.

INFORMA:

Que Dña. ANA ORTIZ VALVERDE ha realizado bajo su dirección el Trabajo Fin de Grado y consideran que la memoria reúne los requisitos necesarios para su evaluación.

Badajoz, 28 de Junio de 2023

Fdo. Ignacio Santiago Álvarez Miguel.

ÍNDICE

RESUMEN	7
ABSTRACT	8
INTRODUCCIÓN.....	9
1.1 Concepto y origen de la infertilidad	9
1.1.1 Influencia de la edad	9
1.1.2 Influencia de la calidad espermática.....	10
1.1.3 Influencia del consumo de fármacos y estupefacientes	10
1.1.4 Influencia de enfermedades y patologías.....	10
1.2 Concepto y evolución de las técnicas de reproducción asistida.....	11
1.2.1 Inseminación intrauterina.....	12
1.2.2 Fecundación in vitro (FIV)	12
1.2.3 Técnica de microinyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI)	13
1.2.4 Técnicas de criopreservación	14
1.2.5 Sistema de incubación Time-lapse.....	14
1.2.6 Diagnóstico de infertilidad en la actualidad: parámetros bioquímicos y biológicos.	15
1.3 Concepto y aplicación clínica de los probióticos	15
1.3.1 Influencia del microbioma en la fertilidad.....	15
1.3.2 Probióticos y sus aplicaciones	16
OBJETIVOS.....	18
MATERIALES Y MÉTODOS.....	19
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	22
4.1 Perfil del microbioma en pacientes infértiles.....	22
4.1.1 Resultados adversos en la concepción, embarazo y parto.....	22
4.1.2 Reducción de tasa de éxito en tratamientos de reproducción asistida.....	24
4.1.3 Microbioma propio de enfermedades que provocan infertilidad.....	24
4.2 Perfil del microbioma en pacientes fértiles	25
4.2.1 Importancia de Lactobacillus en la capacidad fértil.	25
4.2.2 Efectos positivos sobre la gestación y las técnicas de reproducción asistida	26
4.3 Probióticos y modulación de la fertilidad.....	27
4.3.1 Beneficios de los probióticos y requisitos funcionales	27
4.3.2 Kéfir	30
4.3.3 Kimchi	32
4.3.4 Queso	33

4.3.5 Yogur	35
CONCLUSIONES	37
BIBLIOGRAFÍA	39
ANEXOS	42

RESUMEN

La fertilidad puede ser afectada por múltiples factores, y las técnicas de reproducción asistida han evolucionado rápidamente a lo largo de estas últimas décadas, permitiendo solucionar muchos impedimentos a la concepción y embarazo que antes eran considerados imposibles de resolver. Sin embargo, aún se necesitan muchos avances sobre estos tratamientos porque aún permanecen multitud de casos de infertilidad sin remedio efectivo, o incluso, con origen incierto. De aquí deriva la necesidad de realizar una búsqueda exhaustiva de nuevos métodos y técnicas que puedan conseguirlo y, en la actualidad, se ha depositado gran atención en el microbioma uterino-vaginal. Este microbioma parece tener efecto sobre la salud y la capacidad fértil de la persona, y su modulación podría conseguir resultados exitosos en pacientes con infertilidad. Hasta ahora, la modulación del perfil microbiológico se ha conseguido a través de antibióticos, pero ya se ha estudiado la efectividad de la aplicación de probióticos. Ante estas innovaciones en los tratamientos clínicos de la fertilidad, surge la posibilidad de obtener estos beneficios a través del consumo de alimentos, es decir, en forma de probióticos naturales, que podrían resultar una solución sencilla, económica y práctica para la modulación y mejora del microbioma uterino-vaginal y, consecuentemente la fertilidad.

Palabras clave: probiótico natural, fertilidad, microbioma, útero, vagina, kéfir, yogur, queso, kimchi.

ABSTRACT

Fertility can be altered by multiple factors, and assisted reproductive technologies have evolved rapidly over the last decades, allowing to solve a lot of impediments in conception and pregnancy that were considered impossible to solve before. However, more advances are needed, as multitude of clinical cases of infertility still remain without effective remedy, even without certain origin. Hence the need to perform an exhaustive search for new methods and techniques that could achieve this and, nowadays, it has been deposited strong attention in uterine-vaginal microbiome. This microbiome seems to have an effect on human health and fertility, and its modulation could obtain successful results in infertile patients. Until now, microbiological profile modulation has been achieved through antibiotics, but probiotic application has been already studied. In view of these innovations in clinical treatment of fertility, the possibility of obtaining benefits through food consumption comes up, i.e., as natural probiotics, that could become a simple, practical and economic solution for modulation and improvement of uterine-vaginal microbiome and, consequently, fertility.

Keywords: natural probiotics, fertility, microbiome, uterus, vagina, kéfir, yogurt, cheese, kimchi.

INTRODUCCIÓN

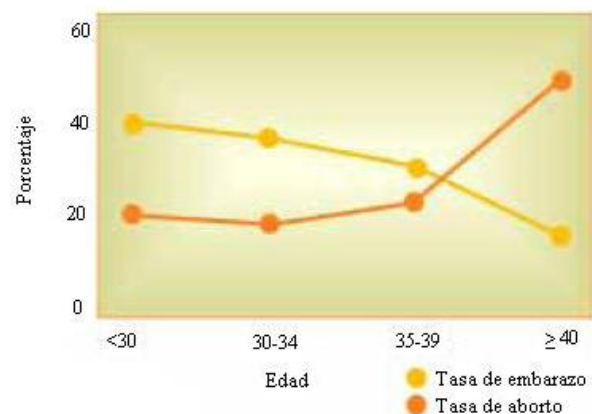
1.1 Concepto y origen de la infertilidad

En términos generales, la infertilidad se define como la incapacidad para lograr un embarazo tras un largo periodo manteniendo relaciones sexuales sin medidas anticonceptivas. Este problema, que afecta al menos a una de cada seis parejas, suele presentar un origen difícil de diagnosticar. Sin embargo, sí se conoce una serie de factores que aumentan las probabilidades de desarrollar esta patología, como lo son la edad; alteraciones en la calidad del semen; hábitos poco saludables como el tabaquismo, el alcohol y el consumo de sustancias psicoactivas; enfermedades de transmisión sexual (ETS); tratamientos con ciertos medicamentos y enfermedades como el síndrome del ovario poliquístico y la endometriosis (Brugo-Olmedo et al., 2003).

1.1.1 Influencia de la edad

Se ha comprobado que la reserva ovárica comienza a reducirse rápidamente antes del comienzo de la menopausia, de manera que las probabilidades de lograr un embarazo se reducen gradualmente a partir de los 30 años, produciéndose un aumento pronunciado de las probabilidades de que se produzca aborto a partir de los 40 años (Figura 1). Generalmente, la causa es la incapacidad de que el óvulo lleve a cabo la primera división meiótica de forma correcta, que dan lugar a la no disyunción de cromosomas homólogos y, en consecuencia, la aparición de aneuploidías e incluso euploidías que, usualmente, resultan en fenotipos letales (Brugo-Olmedo et al., 2003).

Figura 1: Relación entre la edad y el porcentaje de abortos. Brugo-Olmedo, Santiago, Chillik, Claudio, & Kopelman, Susana. (2003). Definición y causas de la infertilidad. Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología, 54(4), 227-248



1.1.2 Influencia de la calidad espermática

Por otro lado, existe un abanico de alteraciones espermáticas y seminales que reducen la fertilidad, tales como la concentración baja o ausencia de espermatozoides, proporción baja o nula de espermatozoides vivos, movilidad espermática reducida, morfología espermática anormal, presencia de anticuerpos antiespermatozoide (AAE) en el semen y fragmentación del ADN espermático (Organización Mundial de la Salud, 2001).

1.1.3 Influencia del consumo de fármacos y estupefacientes

Está demostrado que el consumo de alcohol, tabaco y sustancias psicoactivas producen variaciones en los niveles de hormonas sexuales, como la testosterona, la hormona luteinizante, prolactina... etc.; alteraciones en la calidad de los gametos masculino y femenino y enfermedades originadas por el consumo prolongado, como la disfunción eréctil, que originan un descenso en la capacidad para concebir y en la respuesta favorable a las técnicas de reproducción asistida. También reduce la fertilidad el tratamiento con ciertos medicamentos o el abuso de éstos, tales como la cimetidina (antiácido), espironolactona (diurético), antibióticos como la nitrofurantoína, inmunosupresores como la ciclosporina, tratamientos hormonales y quimioterapéuticos, entre otros (Brugo-Olmedo et al., 2003; Rojas Quintana et al., 2011).

1.1.4 Influencia de enfermedades y patologías

Dentro de las enfermedades que causan infertilidad en seres humanos se encuentran las enfermedades de transmisión sexual o ETSs. Aquellas como la clamidia, la gonorrea, tricomoniasis y la infección por micoplasma pueden ocasionar afecciones en la morfología espermática, vías seminales y testículos, además de la enfermedad inflamatoria pélvica (EIP), que genera procesos inflamatorios en diferentes zonas del aparato reproductor femenino y obstrucciones a nivel de las trompas de Falopio, que aumenta las probabilidades de originar embarazos ectópicos. Algunos virus (virus del papiloma humano (VPH), virus del herpes genital (VHS-1 y VHS-2) ...etc.) y otras ETSs, como la sífilis, pueden producir cicatrices e incluso obstrucciones que reducen las

probabilidades de un embarazo exitoso tras someterse a un tratamiento de reproducción asistida (Ariel y Reyes, 2016; Rojas Quintana et al., 2011).

Por otro lado, también existen enfermedades de orígenes varios, no necesariamente infeccioso, que suponen complicaciones en la capacidad para concebir, entre ellas el síndrome de ovario poliquístico, la endometriosis, falla ovárica prematura, pólipos... así como el varicocele, presencia de tumores, criptorquidia, orquitis y el síndrome de Klinefelter, entre algunos ejemplos (Brugo-Olmedo et al., 2003; Devoto C et al., 2000).

1.2 Concepto y evolución de las técnicas de reproducción asistida

Las técnicas de reproducción asistida (TRAs) surgen en respuesta a la necesidad de superar los obstáculos a la fertilidad mediante tratamientos y procedimientos biomédicos y tecnológicos. Actualmente, las TRAs están muy desarrolladas y permiten a miles de personas conseguir un embarazo. Sin embargo, la introducción de estas técnicas es bastante reciente y aún no se ha logrado resolver todos los impedimentos. De hecho, es necesaria una investigación constante para conocer más factores que afecten a la fertilidad y así mejorar a su vez los métodos de reproducción asistida y las tecnologías que involucran (Wang y Sauer, 2006).

El primer ser humano concebido en el mundo a través de TRAs se logró en 1978, en Inglaterra, y en España, esto ocurrió por primera vez en 1983. En 1984, nació el primer niño por donación ovocitaria de la historia. Estos embarazos se consiguieron a través de fecundación in vitro, pero no fue hasta la siguiente década cuando se pudieron desarrollar las técnicas de microinyección intracitoplasmática de espermatozoides (abreviado en sus siglas en inglés como ICSI), el diagnóstico genético preimplantacional y la criopreservación de gametos y embriones (Wang y Sauer, 2006). Hoy en día, no sólo existen tecnologías avanzadas como el sistema time-lapse de cultivo de embriones, sino también el análisis de perfiles de parámetros bioquímicos y microbiológicos de los pacientes para lograr relacionarlos con el estado de la fertilidad y tratarlos adecuadamente (Kovacs, 2014; Rampersaud et al., 2012; Toson et al., 2022; Tsonis et al., 2021; Wasilewski et al., 2020).

1.2.1 Inseminación intrauterina

La inseminación intrauterina (en sus siglas en inglés, IUI) es una de las tecnologías más básicas de reproducción asistida, puesto que consiste en la introducción de espermatozoides en el útero. Se realiza con un catéter, cargado con el esperma, que pasa a través del cérvix y el cuello del útero, y permite superar la infertilidad ocasionada por los defectos del cuello del útero, la eyaculación retrógrada (que ocurre cuando el semen viaja hacia la vejiga, en vez de por la uretra hacia el exterior), o defectos espermáticos como baja movilidad o un número escaso de espermatozoides (Huang y Rosenwaks, 2014; NICHD, 2020).

1.2.2 Fecundación *in vitro* (FIV)

En la fecundación *in vitro* (FIV), los gametos son recogidos por separado y se ponen en contacto en laboratorio bajo condiciones favorables para lograr la fecundación. En quirófano, se practica la punción ovárica, que permite extraer los óvulos a través de una aguja de aspiración, que se inserta por el conducto vaginal y atraviesa la pared vaginal y ovárica, para punzar y aspirar los folículos que los contienen. Esta intervención se realiza posterior a un tratamiento hormonal de estimulación ovárica, en el que se administran fármacos para conseguir una mayor cantidad de óvulos (análogos a la hormona liberadora de gonadotropina (GnRH) para evitar la formación endógena de gonadotropinas y permitir un control exógeno, gonadotropinas exógenas para el desarrollo de óvulos (hormona foliculoestimulante (FSH) y hormona luteinizante (LH)), gonadotropina coriónica humana (hCG) para la maduración de los óvulos...). Los espermatozoides generalmente se obtienen por eyaculación o, en casos particulares, como en pacientes con eyaculación retrógrada, por la orina tras la eyaculación, y se concentran en laboratorio. Finalmente, los gametos se incuban hasta el momento en el que se realiza la FIV, en el cual se colocan óvulos y espermatozoides en las gotas de medio para fertilización *in vitro* (Figura 2). Después, se hace un seguimiento diario para observar si la fecundación y el desarrollo embrionario son exitosos (American Society for Reproductive Medicine, 2012; Organización Mundial de la Salud, 2001).



Figura 2: Fotografía de microscopía óptica de un óvulo rodeado de espermatozoides durante un proceso de FIV. Dpastor, bajo licencia CC BY-SA 4.0. <https://commons.wikimedia.org>.

1.2.3 Técnica de microinyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI)

En ciertos casos, la técnica FIV no puede realizarse por impedimentos a nivel gamético (movilidad y recuento espermáticos muy escasos, incapacidad del espermatozoide para penetrar en el óvulo...), por lo que se recurre a la técnica ICSI, que tiene un protocolo similar a la técnica FIV, pero difieren en la utilización de un microscopio invertido con un sistema hidráulico de manejo de un par de finas agujas. La aguja “holding” es redondeada y grande, y permite mantener el óvulo en una posición inmóvil y en una orientación adecuada para inyectar el espermatozoide con la aguja ICSI, que es más fina y afilada (Figura 3) (Crosignani et al., 2007; Unidad de Reproducción Lleida, 2015).



Figura 3: Microinyección intracitoplasmática de un espermatozoide en un óvulo con las agujas ICSI y “holding”. Eugene Ermolovich (CRM1), CC BY-SA 3.0. <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0>.

1.2.4 Técnicas de criopreservación

Para permitir la conservación de los gametos y embriones a largo plazo, resulta imprescindible la utilización de los métodos de criopreservación en el laboratorio. Los óvulos, embriones y espermatozoides se tratan con agentes crioprotectores, se introducen en pajuelas o en soportes para vitrificación (*Cryotop*) y se sumergen en tanques de nitrógeno líquido. Los agentes crioprotectores, que al congelarse no forman cristales, suelen ser penetrantes, por lo que pueden atravesar la membrana plasmática y sustituirse por el agua que estas células contienen, permitiendo la criopreservación sin formación de cristales de hielo, que pueden dar lugar a la ruptura y muerte celular. Cabe destacar que estos métodos, que mantienen viables las células incluso durante años, han facilitado la conservación de la fertilidad de pacientes que deben someterse a tratamientos de quimioterapia, así como la donación de óvulos (Ávila-Portillo et al., 2006).

1.2.5 Sistema de incubación Time-lapse

El sistema time-lapse se ha estado introduciendo recientemente en los laboratorios de reproducción asistida y está resultando un avance en la calidad del cultivo de embriones. Es un dispositivo que contiene varios módulos de cultivo enumerados, bien aislados entre sí y con control individual y automático de las condiciones físico-químicas de cada uno (Figura 4). Los embriólogos pueden realizar el seguimiento diario de los embriones sin tener que abrir los contenedores en los que se encuentran, manteniendo siempre las condiciones adecuadas de cultivo. Para conseguirlo, la máquina es capaz de realizar fotografías con una cierta regularidad para crear un vídeo time-lapse, que pueden reproducirse en la pantalla que llevan integrada. Además, los vídeos permiten ver el proceso de desarrollo que ha seguido cada embrión entre días, en vez de sólo comparar los estados puntuales que se observaban una vez al día en cultivos embrionarios comunes, lo que da más información valiosa al profesional para decidir si sigue una trayectoria normal y es viable (Kovacs, 2014).



Figura 4: Incubador de tecnología time-lapse. Dr.jayesh amin,, via Wikimedia Commons. CC BY-SA 3.0. <https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0>

1.2.6 Diagnóstico de infertilidad en la actualidad: parámetros bioquímicos y biológicos.

Actualmente, se ha ampliado el conocimiento que existe sobre las causas de la infertilidad al relacionar los valores de los diferentes parámetros bioquímicos y microbiológicos. Esto se traduce en la posibilidad de realizar sencillas pruebas de laboratorio que permitan discernir rápidamente, mediante los patrones que se observen, entre múltiples orígenes de enfermedades y patologías que ocasionen esta dificultad. En los laboratorios clínicos, son típicos los estudios hormonales (LH, FSH, progesterona...) y los estudios bacteriológicos de cultivos de muestras seminales y vaginales, pero resulta innovador la investigación sobre la relación de la infertilidad con los niveles de glúcidos, vitaminas y minerales. Sin embargo, pese a que actualmente las pruebas microbiológicas suelen utilizarse como herramienta para conocer la presencia de infecciones, también pueden servir para detectar desregulaciones en el perfil del microbioma autóctono del paciente (Rampersaud et al., 2012; Wasilewski et al., 2020).

1.3 Concepto y aplicación clínica de los probióticos

1.3.1 Influencia del microbioma en la fertilidad

El microbioma humano tiene múltiples labores, entre sus principales funciones están la estimulación e interacción con el sistema inmune, llevar a cabo los procesos de

degradación y síntesis de sustancias que las células no pueden reproducir, e interactuar con otras agrupaciones microbianas para gestionar su prevalencia y conducta. Esto significa que los microorganismos endógenos ejercen un efecto notable sobre la manera en la que las células, tejidos y órganos trabajan, por lo que influyen sustancialmente en nuestra salud (Suárez, 2015). En concreto, el microbioma presente en el aparato reproductor femenino es uno de los más estudiados del cuerpo humano, y su contenido, proporción y comportamiento poblacional bacteriano puede ejercer como un importante pilar en el diagnóstico de la infertilidad (Moreno et al., 2022; Rampersaud et al., 2012; Toson et al., 2022; Tsonis et al., 2021).

Muchos investigadores se encuentran en la labor de estudiar cómo el microbioma consigue un ambiente correcto para desarrollar un embarazo, y además, cómo corregirlo en caso de no proporcionarlo. Naturalmente, se ha optado por probar la eficacia de fármacos que puedan modular el microbioma, pero también se persigue hallar otras soluciones no químicas y/o menos agresivas, por ejemplo, la introducción directa de microorganismos en el microbioma para estabilizarlo al formar parte e interactuar con él (Gaziano et al., 2020).

1.3.2 Probióticos y sus aplicaciones

Los probióticos son productos que contienen microorganismos vivos, generalmente bacterias, cuyo consumo resulta en efectos positivos en la salud (Gaziano et al., 2020; López-Moreno y Aguilera, 2020). Adicionalmente, los probióticos pueden funcionar en combinación con prebióticos, que son sustancias no digeribles que sirven como nutrientes al microbioma de quien lo consume, modulando selectivamente el crecimiento de las diferentes poblaciones microbianas. Los productos que contienen ambos se denominan productos simbióticos. En muchas ocasiones, los probióticos se administran en forma de simbióticos, y se aplican como apoyo al tratamiento médico o como remedio a multitud de patologías y enfermedades, especialmente las relacionadas con el aparato digestivo, debido al enriquecido y diverso microbioma que habita en este tracto, sobre todo en el tramo intestinal, y la sencillez de la administración de los productos, mayoritariamente en forma de comprimidos y por vía oral. Los probióticos han estado presentes en nuestra sociedad, en varias culturas,

desde hace miles de años, en forma de probióticos naturales: alimentos fermentados como el queso, el yogur, el kéfir o el kimchi han perdurado hasta ahora en nuestra dieta, sirviendo de mucha utilidad para mantener un buen estado de salud (Gomes da Cruz et al., 2009; López-Moreno y Aguilera, 2020; Machado De Oliveira Leite et al., 2013; Park et al., 2014; Rul, 2017; Suárez, 2015).

Por tanto, la utilización de probióticos naturales para tratar el microbioma y, consecuentemente, las patologías que derivan de su desestabilización, resultarían una solución económica, práctica y sencilla.

OBJETIVOS

El objetivo de este TFG será realizar una actualización bibliográfica de la relación existente entre el perfil microbiológico del tracto uterino-vaginal y la capacidad fértil en seres humanos y, adicionalmente, evaluar la capacidad de los probióticos naturales para mejorar la fertilidad y la respuesta de los pacientes a las técnicas de reproducción asistida.

Con este propósito, se procederá a la recopilación del material bibliográfico para analizarlo y poder responder a las siguientes cuestiones:

- 1- El microbioma uterino-vaginal difiere entre pacientes fértiles e infértiles. Existencia de una relación entre la respuesta positiva a tratamientos de reproducción asistida, así como el éxito en la concepción y embarazo, y los microorganismos encontrados en pacientes fértiles, y viceversa.
- 2- Beneficios generales de los probióticos en la fertilidad. Ventajas de la utilización de probióticos frente a antibióticos.
- 3- Determinación de los microorganismos que ejercen efectos favorecedores sobre la capacidad fértil y qué tipo de funciones probióticas ejercen.
- 4- Localizar los probióticos naturales que contienen estos microorganismos beneficiosos para la fertilidad y conocer otros microorganismos y efectos positivos adicionales propios de estos alimentos.

Siguiendo estos objetivos específicos, se orienta así la búsqueda de una nueva solución económica, sencilla y eficaz a los obstáculos de la infertilidad por disbiosis microbiológica uterino-vaginal en los probióticos naturales, como alternativa o apoyo a los antibióticos.

MATERIALES Y MÉTODOS

Con el propósito de obtener resultados contrastados, se necesitó la recopilación de textos científicos provenientes de bases de datos fiables. La búsqueda se realizó en los portales web PubMed, Google Scholar y SciELO y se utilizaron operadores booleanos. Las diferentes combinaciones de términos en el proceso fueron: "(técnicas reproducción asistida NOT animal)", "(TRA NOT animal)", "(fertility AND probiotics)", "(microbioma AND fertility)", "(microbioma AND fertility AND probiotics)", "(fermented AND probiotics)", "(natural probiotics AND fertility)", "(uterus microbioma AND fertility)", "(uterus microbioma AND human)", "(vaginal AND uterus AND microbioma)", "(dairy AND probiotics AND microbioma)", "(dairy AND probiotics NOT intestinal)". De esta búsqueda, se obtuvieron 38 artículos. Siguiendo los siguientes criterios, se reducen a 13 artículos (sumados después a referencias adicionales agregadas para la confección del marco teórico de la introducción, aumentando a 28 las referencias bibliográficas para este trabajo) (Figuras 5, 6 y 7):

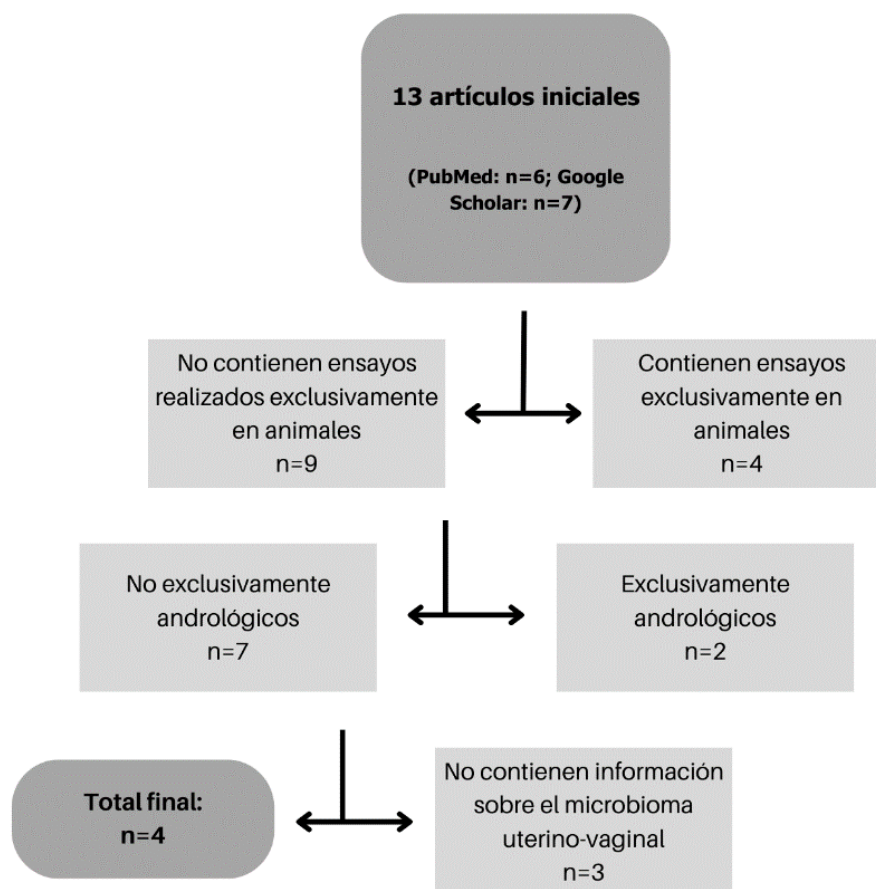


Figura 5: Árbol de búsqueda para artículos sobre microbiota y fertilidad

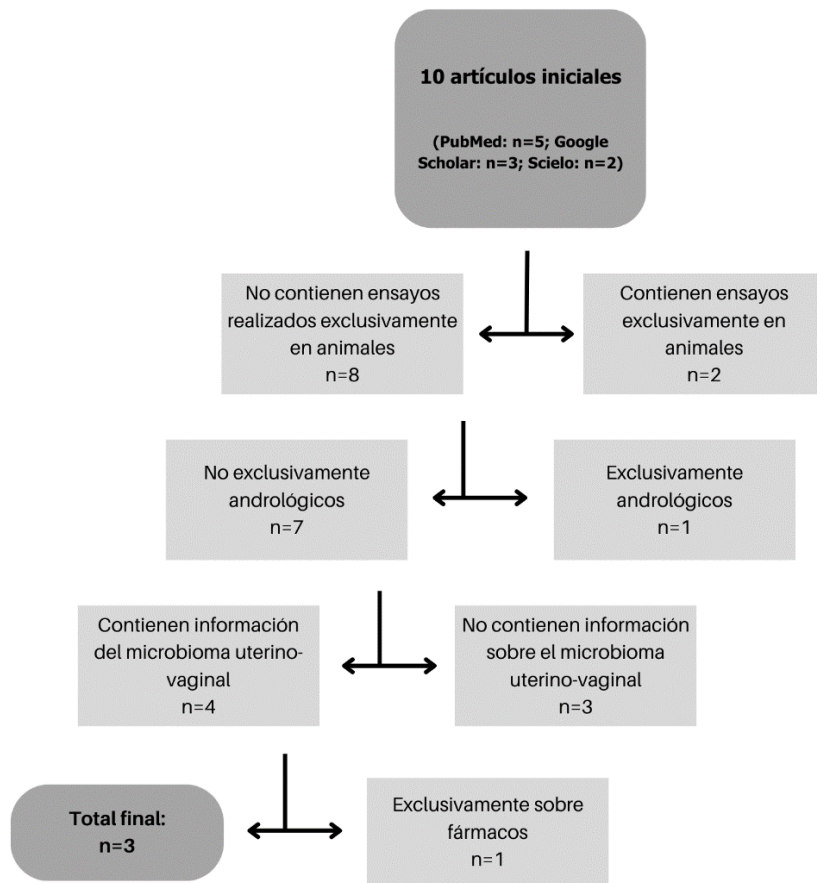


Figura 6: Árbol de búsqueda para artículos sobre probióticos y fertilidad

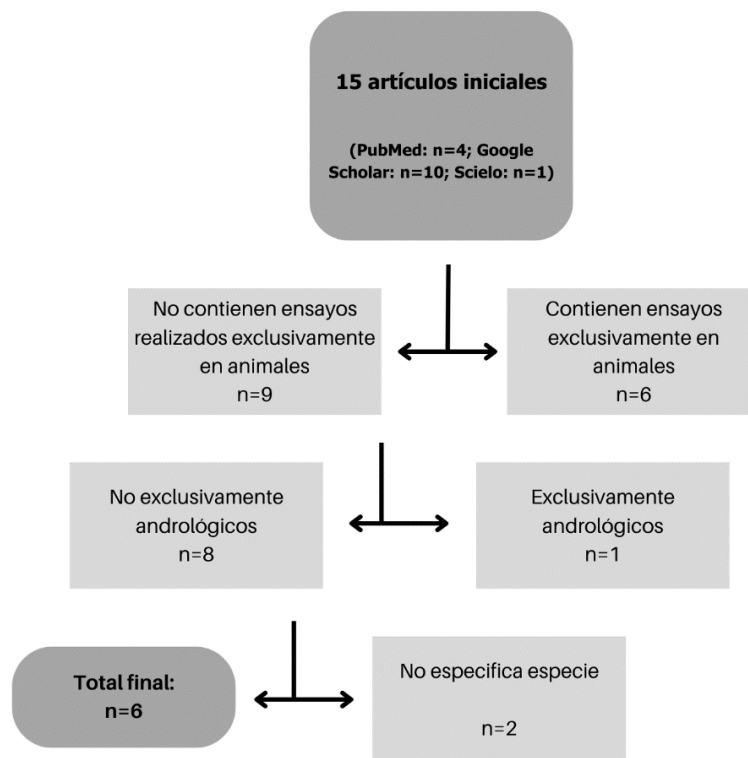


Figura 7: Árbol de búsqueda para artículos sobre probióticos naturales

La información de algunos artículos se relacionaba con el microbioma presente en otras zonas del cuerpo, en vez del microbioma uterino-vaginal, generalmente siendo la presente en el aparato digestivo. Ciertos artículos describían estudios realizados en animales y no en seres humanos, y es el microbioma humano en el que este trabajo se centra. También se encontraron artículos sobre probióticos naturales que reducían la especificidad de la información brindada al no especificar la especie de los microorganismos estudiados, lo cual podría causar un problema de generalización y ausencia de calidad de la información expuesta en este trabajo. Adicionalmente, algunos estudios sobre la modulación del microbioma y mejora de la fertilidad volcaban su investigación sobre la demostración de la eficacia de ciertos fármacos, en lugar de hacerlo sobre probióticos. Finalmente, se encontraron artículos que exponen información que proviene exclusivamente de ensayos andrológicos, cuando es la información de ensayos ginecológicos la resulta necesaria para la realización de este trabajo. Por estas razones, todos los artículos que cumplían estas características quedaron descartados.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Se entiende como microbioma saludable aquel que está compuesto por comunidades microbianas diferenciadas que hacen posible la implantación del embrión y el correcto desarrollo del embarazo aún en presencia de bacterias patogénicas (Toson et al., 2022). Distinguimos, por tanto, entre aquellas comunidades microbianas que favorecen la concepción y embarazo y aquellas que no lo hacen.

4.1 Perfil del microbioma en pacientes infértiles.

4.1.1 Resultados adversos en la concepción, embarazo y parto.

Se ha observado que la presencia elevada de *Haemophilus*, *Klebsiella*, *Neisseria*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Bifidobacterium*, *Chryseobacterium*, *Gardnerella* y *Atopobium*, (estas dos últimas comúnmente halladas en el tracto vaginal, aunque *Gardnerella* también está presente en el endometrio, y asociadas las dos con vaginosis bacteriana, enfermedad que provoca una respuesta inflamatoria del sistema inmune que puede afectar a la fertilidad), conduce al aborto del embarazo (Moreno et al., 2022; Rampersaud et al., 2012; Toson et al., 2022; Tsonis et al., 2021). *Gardnerella*, *Haemophilus* y *Klebsiella*, que se encontró en el microbioma en casos de embarazo químico (aquel embarazo que termina tras pocas semanas abruptamente en aborto), también están presentes, además de *Propionibacterium* (que predomina, junto con *Streptococcus* y *Pseudomonas*, en el análisis de muestras de casos que, posteriormente, resultaron en abortos espontáneos), en pacientes que no dieron a luz de forma exitosa (Moreno et al., 2022; Toson et al., 2022). Adicionalmente, *Lactobacillus* tiende a no establecer relaciones con *Gardnerella*, *Staphylococcus* y *Streptococcus* (ambos observados generalmente en vagina y útero en pacientes con endometriosis), o *Chryseobacterium* en pacientes que no lograron la concepción (Moreno et al., 2022; Tsonis et al., 2021).

Streptococcus (particularmente, *Streptococcus viridans*), *Staphylococcus*, *Chryseobacterium*, *Corynebacterium*, *Fingoldia*, *Escherichia* y *Atopobium* también estuvieron presentes en los casos que se dieron problemas reproductivos durante el

embarazo y no resultaron en nacimiento vivo (el feto muestra signos de vida tras el nacimiento) (Tabla 1) (Moreno et al., 2022; Tsonis et al., 2021).

Authors	Population	Sample Size	Average Age (Years)	Ethnicity	Sampling	Microbiome Analysis	Microbiota Findings
Diaz-Martinez et al., 2021	Women undergoing IVF with frozen-thawed euploid ET	Total: 48 CP: 21 NP: 27	39.4	Not reported, conducted in Spain	Tao Brush IUMC Endometrial Sampler	Illumina® MiSeq™ system platform for NGS of 16S rRNA gene—hypervariable region V3-V4	Pregnant and non-pregnant women with comparable alpha and beta diversity of endometrial microbiota.
Franasiak et al., 2016	Women undergoing single euploid ET	Total: 33 OGP: 18 NP: 15	35.9	79% Caucasian 15% Asian 3% African American 3% Hispanic	Distal portion of ET catheter tip	Ion Torrent NGS of 16S rRNA gene—hypervariable regions V2-4-8 and V3-6, 7-9	No differences between OGP and no OGP.
Hashimoto et al., 2019	Women undergoing thawed ET	Total: 99 CP: 53 OGP: 40 CM: 5 NP: 46	35.2	Japanese	EF samples aspirated with a Kitazato IUI catheter	Illumina® MiSeq™ system platform for NGS of 16S rRNA gene—hypervariable region V4	Pregnancy, implantation, and miscarriage rates were comparable between LD and NLD groups. Pregnancy in patients with complete absence of <i>Lactobacillus</i> was reported.
Kyono et al., 2018	Women undergoing thawed ET	Total: 92 CP: 50 CM: 11 NP: 42	36.9	Asian: 90 Japanese 1 Korean 1 Chinese	EF samples collected using Kitazato IUI catheter	Illumina® MiSeq™ system platform for NGS of 16S rRNA gene—hypervariable region V4	Pregnancy rates slightly higher in LDM group, although the difference was not statistically significant.
Moore et al., 2000	Women undergoing IVF treatment	Total: 91 LB: 27 No LB: 64	35.3	Not reported, conducted in the USA	Distal portion of ET catheter tip	Culture plates and biochemical tests	Increased LB rates associated with recovery of H ₂ O ₂ -producing <i>Lactobacillus</i> . Decreased LB rate when samples were positive for <i>Streptococcus viridans</i> .
Moreno et al., 2016	Infertile women undergoing ART treatment	Total: 32 LB: 12 CM: 5 NP: 15	39.3	Not reported, conducted in Spain	EF was aspirated using Wallace catheter	454 pyrosequencing of 16S rRNA gene—hypervariable region V3-V5	NLD endometrial microbiota associated with poorer clinical outcomes (decreased implantation, pregnancy, OGP, and LB rates).
Moreno et al., 2020	Patient with primary infertility and previous unsuccessful IVF cycles	One woman (case report)	28	Not reported, conducted in Spain	EF was aspirated with a double lumen embryo transfer catheter	Ion S5 XL system for NGS of 16S rRNA gene—hypervariable regions V2-4-8 and V3-6, 7-9	Higher bacterial community diversity and lower <i>Lactobacillus</i> abundance before spontaneous abortion. Increased numbers of <i>Lactobacillus</i> before the healthy pregnancy, as <i>Lactobacillus iners</i> was the most prevalent bacteria.

Tabla 1: Estudios que asocian el microbioma uterino con los resultados reproductivos. Tsonis, O. y Gkrozou, F. y Paschopoulos, M. (2021). Microbiome affecting reproductive outcome in ARTs. *Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction*, 50(3), 102036. <https://doi.org/10.1016/J.JOGOH.2020.102036>

4.1.2 Reducción de tasa de éxito en tratamientos de reproducción asistida

En un estudio, pacientes sometidos a tratamientos de reproducción asistida, aquellos con presencia de *Gardnerella* llegaron a presentar menor respuesta al tratamiento (Toson et al., 2022). En otro estudio, al menos un 25% de los que sufrieron fallo repetido en la implantación del embrión presentó *Gardnerella* en la misma proporción que *Burkholderia* (Tsonis et al., 2021). También parece que la alta colonización del tracto útero-vaginal por *Atopobium vaginae*, *G. vaginalis*, *Streptococcus*, *Staphylococcus* y *Enterobacteriaceae* se asocia con bajo éxito en tratamientos con técnicas ICSI. Adicionalmente, en tratamientos de IVF, la aparición de *Staphylococcus* spp. y *Escherichia* en este microbioma se asocia con menor tasa de éxito de esta técnica de reproducción asistida (Tsonis et al., 2021). En general, las técnicas de reproducción asistida pueden llegar a resultar menos efectivas en casos de control hormonal, como ocurre con la estimulación ovárica durante ciclos menstruales o el uso de anticonceptivos orales, porque generan cambios en el perfil microbiano y modificar la proporción de poblaciones microbianas como *E. coli*, *Candida* spp., *Atopobium* y *Prevotella*. Parece, además, que las proporciones de *Prevotella* spp., *Sneathia* spp., *Propionibacterium*, *Pseudomonas* y *Sphingobium* son moduladas en consecuencia de las variaciones hormonales propias de un ciclo menstrual natural (Toson et al., 2022; Tsonis et al., 2021).

4.1.3 Microbioma propio de enfermedades que provocan infertilidad

Neisseria se muestra como bacterias patogénicas presentes en los perfiles microbianos de personas con endometriosis, detectándose especies como *Neisseria gonorrhoeae* en útero y vagina. En pacientes con endometritis crónica que no lograron el embarazo, los investigadores también hallaron *Neisseria* (Moreno et al., 2022; Tsonis et al., 2021). *Neisseria gonorrhoeae* suele encontrarse en casos de corioamnionitis (infección polimicrobiana de membranas fetales, placentarias y fluido amniótico), así como *G. vaginalis*, *Ureaplasma urealyticum*, *Chlamydia trachomatis*, *Peptostreptococcus*, *Bacteroides* spp. y *Mycoplasma hominis* (Rampersaud et al., 2012). Por otra parte, en el 75-80% de casos de meningitis neonatal, se ha observado un origen de la infección

provocado por la transmisión vertical de *E. coli*, pudiendo provenir ésta incluso de su transferencia desde el microbioma intestinal al vaginal (Rampersaud et al., 2012).

Chlamydia trachomatis también está en el microbioma uterino-vaginal de personas con endometriosis, al igual que *Ureaplasma urealyticum* y *Prevotella bivia* (esta última observada además en pacientes con enfermedad de inflamación pélvica, y ambas en pacientes con endometritis crónica), y los pacientes con vaginosis bacteriana son propensos a sufrir colonización de esta bacteria (Toson et al., 2022; Tsonis et al., 2021). Los pacientes con endometriosis también pueden sufrir una relación inversa entre *Anaerococcus* y *Fingoldia* respecto a *Lactobacillus*, estando este último en menor proporción con respecto a los dos anteriores (Tsonis et al., 2021).

Otros géneros bacterianos hallados en pacientes con endometriosis fueron: *Enterococcus faecalis*, *Mycoplasma* spp., *Enterococcus* en altas concentraciones, *Moraxellaceae*, *Streptococcaceae*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas*, *Vagococcus*, *Proteobacteria* y *E. coli* en mayor proporción, entre otros. (Toson et al., 2022; Tsonis et al., 2021). En casos de endometritis crónica, fueron también hallados géneros tales como *Anaerococcus*, *Bifidobacterium*, *Dialister*, *Phyllobacterium* y *Sphingomonas* en mayor concentración (Toson et al., 2022).

4.2 Perfil del microbioma en pacientes fértiles

4.2.1 Importancia de *Lactobacillus* en la capacidad fértil.

Un microbioma saludable, que estimule la fertilidad, es capaz de mostrarse con una composición diferente de una persona a otra, es decir, dos personas pueden tener composiciones microbianas diferentes en el tracto uterino-vaginal y ser ambas perfectamente viables para permitir el adecuado desarrollo de un embarazo. Por ejemplo, el microbioma parece ser diferente entre pacientes que hacen uso de dispositivos intrauterinos (DIU) y aquellos que no. En pacientes *virgo intacta*, se observó *Lactobacillus* spp. y una dominancia de *Jonquetella* y *Fusobacterium*, y en un estudio del microbioma de pacientes de distintos grupos étnicos, en etnias asiáticas se observó mayor predominio de *Acinetobacter*, *Cloacibacterium*, *Comamonadaceae*, *Pseudomonas*, *Moraxellaceae*, *Propionibacteriaceae*, y *Pseudomonadaceae*, mientras

que, para las europeas, el endometrio presentó mayor proporción de *Acinetobacter*, *Corynebacterium*, *Cutibacterium*, *Escherichia*, *Staphylococcus* y *Streptococcus* (Toson et al., 2022). En otro estudio, *Prevotella*, *Corynebacterium*, *Megasphaera* y *Sneathia* destacan en pacientes de etnias hispánicas y africanas (Tsonis et al., 2021). Por otro lado, las diferencias existentes parecen disminuir a más avanzada sea la edad (Toson et al., 2022).

Sin embargo, para la inmensa mayoría de investigaciones científicas en fertilidad, existe un punto de fuerte convergencia: Una proporción mayoritaria, en comparación con otras poblaciones microbianas, de *Lactobacillus*, se relaciona claramente con una adecuada capacidad fértil (Moreno et al., 2022; Toson et al., 2022; Tsonis et al., 2021).

En el microbioma útero-vaginal saludable, suelen abundar *L. iners*, *L. crispatus*, *L. gasseri* y *L. jensenii*, entre otros (Toson et al., 2022; Tsonis et al., 2021), y *Lactobacillus* tiende a no establecer interacciones con *Chryseobacterium*, *Staphylococcus* y *Haemophilus*, pero sí con *Streptomyces*, aunque, en pacientes que no lograron el embarazo, se observó relaciones con *Bifidobacterium* y *Atopobium* (Moreno et al., 2022; Toson et al., 2022). Por otra parte, en pacientes con endometriosis, endometritis crónica y vaginitis bacteriana aeróbica, se observó poca concentración de *Lactobacillus* (Rampersaud et al., 2012; Tsonis et al., 2021).

4.2.2 Efectos positivos sobre la gestación y las técnicas de reproducción asistida

Se ha observado éxito en la gestación y parto tras haber pasado por un aborto espontáneo en pacientes con poca diversidad bacteriana y una alta dominancia de *Lactobacillus* (Moreno et al., 2022). Su abundancia, con respecto a otras bacterias disbióticas, está presente en casos de embarazo satisfactorio y nacimiento vivo (Moreno et al., 2022; Toson et al., 2022).

Un estudio sugiere que *Lactobacillus* actúa como biomarcador del éxito en tratamientos de reproducción asistida, mientras que *Atopobium*, *Bifidobacterium*, *Chryseobacterium*, *Gardnerella*, *Haemophilus*, *Klebsiella*, *Neisseria* y *Streptococcus* suelen informar de lo contrario (Toson et al., 2022). En caso de que *Lactobacillus* no

forme al menos un 90% de toda el microbioma uterino-vaginal, se generan resultados adversos en la aplicación de técnicas de reproducción asistida (Tsonis et al., 2021). Un bajo porcentaje de *Lactobacillus* se relaciona con una menor probabilidad de implantación embrionaria en tratamientos de reproducción asistida de FIV, mientras que su dominancia se asocia con mayor éxito en técnicas de FIV e ICSI (Moreno et al., 2022; Tsonis et al., 2021). La falta de dominancia de *Lactobacillus* se reflejó en pacientes con endometriosis que estaban siendo tratados con técnicas de FIV (Toson et al., 2022).

Además, se ha comprobado que el consumo de anticonceptivos orales con progestina, así como la estimulación ovárica en tratamientos de reproducción asistida, llegan a producir la disminución de la diversidad de *Lactobacillus* presente en este microbioma, aunque, en un ciclo menstrual natural, aumenta su concentración a lo largo de la fase folicular, llegando a su pico máximo en la fase lútea (Toson et al., 2022).

4.3 Probióticos y modulación de la fertilidad

4.3.1 Beneficios de los probióticos y requisitos funcionales

Cuando se trata de paliar los síntomas de la disbiosis del microbioma útero-vaginal, es muy común que, en un contexto clínico, se receten antibióticos, debido a su demostrada capacidad para reducir estos problemas. Sin embargo, entre otros inconvenientes, los antibióticos pueden generar alta resistencia a los antibióticos, que se traduce en mayor tasa de recurrencia (finalizado el tratamiento, la disbiosis vuelve a producirse poco después), así como efectos adversos sobre los microorganismos beneficiosos presentes. De este modo, los probióticos, que poseen evidencia científica de su efecto positivo sobre problemas de fertilidad, surgen como una alternativa válida para tratar la disbiosis, o también como apoyo a los tratamientos antibióticos para reducir los efectos secundarios (Bastani et al., 2012; Gaziano et al., 2020; López-Moreno y Aguilera, 2020).

La manera en la que los probióticos consiguen su efecto beneficioso se basa en varios mecanismos de actuación, tales como la ocupación de sitios específicos de adhesión en la superficie epitelial (impidiendo que puedan ser ocupados por otros

microorganismos patógenos), mantenimiento de un pH ácido que evita el crecimiento de microorganismos patógenos, producción de peróxido de hidrógeno y bacteriocinas (proteínas de bajo peso molecular con actividad microbicida), degradación de poliaminas y producción de sustancias surfactantes antiadhesivas (Bastani et al., 2012).

Aquellos probióticos con fines terapéuticos deben ser seguros de utilizar en seres humanos (no generar efectos adversos), mantenerse estables (tanto en el formato de producto en el que el probiótico se encuentre, como tras su consumo o aplicación) y ser eficaces, es decir: ser capaces de alcanzar los tejidos de interés, colonizarlos y reducir la presencia de microorganismos patogénicos (Bastani et al., 2012; Gaziano et al., 2020). Generalmente, los microorganismos que cumplen estas características suelen categorizarse como GRAS, siglas de "*generally regarded as safe*", y son microorganismos de uso altamente frecuente, de los cuales se conoce su capacidad para ser cultivados en el microbioma humano (Gaziano et al., 2020).

Los probióticos pueden ser aplicados vía oral, tópica, vaginal o rectal, de manera que puedan llegar a los tejidos de interés a través de la ruta ascendente (los microorganismos suben a través de los genitales, por ejemplo, tras ser excretados por el recto, al tracto uterino-vaginal, tal y como lo hacen otras bacterias colonizadoras de este tracto), ruta hematológica (a través de la sangre) o ruta de transferencia a través de los nódulos linfáticos. Las diferentes vías han sido estudiadas pero aún no parece estar claro cuál es la más efectiva para eliminar la disbiosis aunque, siendo la vaginal la más directa, es la vía oral la más popular, ya que una ruta natural de colonización (los microorganismos pueden transferirse a través de los tejidos del tracto gastrointestinal hasta el tracto útero-vaginal) (Tabla 2) (Bastani et al., 2012; Gaziano et al., 2020; López-Moreno y Aguilera, 2020; Rampersaud et al., 2012).

Type	Strain	Dose	Period	Health condition	Effect	Ref.
Yoghurt	Lactobacillus acidophilus	1.0 × 10 ⁸ CFU	Once daily for 2 month	Bacterial vaginosis, candidiasis	Reduction in BV episodes at 1 mo was 60% for probiotic yoghurt vs 25% for pasteurized	[45]
Capsules	Lactobacillus rhamnosus GR-1 plus Lactobacillus fermentum RC-14 or L. rhamnosus	10 ⁸ CFU	Each day for 28 days	Bacterial vaginosis	Normal vaginal flora was restored using specific probiotic strains administered orally	[41]
Skim milk	Lactobacillus rhamnosus GR-1 and Lactobacillus fermentum RC-14	10 ⁸ CFU	Given twice daily for 14 days	Bacterial vaginosis	Treatment correlated with a healthy vaginal flora in up to 90% of patients	[46]
Capsule	1- L. rhamnosus GR-1/ L. fermentum RC-14 2- L. rhamnosus GR-1/L. fermentum RC-14 3- L. rhamnosus GR-1/L. fermentum RC-14	8 × 10 ⁸ CFU 1.6 × 10 ⁹ CFU 6 × 10 ⁹ CFU	Day orally for 28 days	History of BV	Through 6 weeks after treatment with probiotics, Nugent score decreased, indicative of BV resolution	[43]
Capsule	L. rhamnosus GR-1 + L. fermentum RC-14	>10 ⁸ CFU	Once-daily for 60 days	Bacterial vaginosis	Probiotics colonized the vagina properly and the Nugent score normalized after the treatment	[47]
Capsules	Lactobacillus rhamnosus GR-1 and Lactobacillus fermentum RC-14	10 ⁸ CFU	60 days	Urogenital infections	Lactobacilli counts increased while yeast and coliforms decreased significantly after supplementation	[48]
Capsule	Lactobacillus reuteri RC-14 Lactobacillus rhamnosus GR-1	10 ⁸ CFU	Twice daily from days 1 to 30	Bacterial vaginosis	88% were cured in the antibiotic/probiotic group compared to 40% in the antibiotic/placebo group [p < 0.001]. High counts of Lactobacillus sp. Colonized the vagina properly	[49]
Capsules	Lactobacillus rhamnosus GR-1 and Lactobacillus reuteri RC-14	1.0 × 10 ⁹ CFU	BID for 30, after 500 mg metronidazole BID PO for 7 d	Bacterial vaginosis	BV cure rate was 88% in probiotic group vs. 40% in placebo group	[42]
Capsules	Lactobacillus rhamnosus GR-1 and Lactobacillus reuteri RC-14	2.5 × 10 ⁹ CFU	BID PO for 14 days	Bacterial vaginosis	The median difference in Nugent scores between baseline and the end of the study was 3 in the intervention group and 0 in the control group	[50]

Tabla 2: Efectos de la administración oral de probióticos sobre la vaginosis bacteriana entre 1990 y 2011. Bastani, P. y Homayouni, A. y Tabrizian, V. G. y Ziyadi, S. (2012). Dairy Probiotic Foods and Bacterial Vaginosis: A Review on Mechanism of Action. Probiotics. <https://doi.org/10.5772/50083>

Un gran ejemplo de productos probióticos consumidos por vía oral son los probióticos naturales que, además, resultan económicos por ser alimentos, e incluso, fabricables de forma casera, como el *kimchi* (Park et al., 2014). Sin embargo, para que estos puedan realizar su efecto probiótico, debe asegurarse la correcta colonización, por lo que los microorganismos deben llegar intactos a los tejidos de interés. Para ello, estos productos probióticos deben contener una cantidad mínima aproximada de 10⁸ microorganismos viables, y éstos deben resistir el pH ácido del tracto gastrointestinal y secreciones intestinales (Bastani et al., 2012; López-Moreno y Aguilera, 2020). Las especies o cepas que contienen suelen ser combinaciones de varias, en vez de contener una sola, ya que ejercen un mejor efecto de forma conjunta (Bastani et al., 2012).

4.3.2 Kéfir

El kéfir es una bebida fermentada de leche, originada en el Cáucaso septentrional, obtenida a través de la fermentación con bacterias lácticas y levaduras, que se encuentran en simbiosis en los granos de kéfir (Figura 8). Estos granos contienen un microbioma estable y específico encerrado dentro de una matriz de polisacáridos, conocido como kefirán, y proteínas coaguladas de la leche (Figura 9). Tras el proceso fermentativo, que convierte al kéfir en un producto especial por realizarse con múltiples microorganismos diferentes, se obtiene una gran variedad de compuestos, entre los que destacan el ácido láctico, el etanol (el kéfir obtenido contiene un pequeño grado alcohólico) y el CO₂. Después de fermentar la leche, los granos de kéfir pueden recuperarse y reutilizarse para más procesos fermentativos. Este alimento probiótico tiene beneficios científicamente comprobados, tales como actividad antimicrobiana, inmunomoduladora, anticancerígena... etc. (Machado De Oliveira Leite et al., 2013).

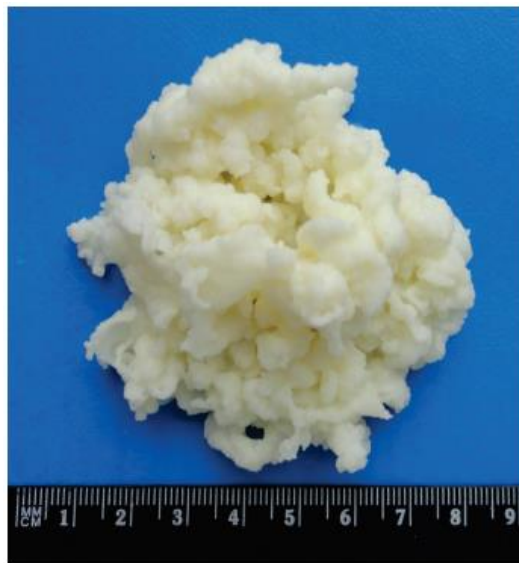


Figura 8: Granos de kéfir. Machado De Oliveira Leite, A. y Lemos Miguel, M. A. y Peixoto, R. S. y Soares Rosado, A. y Silva, J. T. y Margaret, V. y Paschoalin, F. (2013). *Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage.* www.sbmicrobiologia.org.br

Los microorganismos que forman parte de los granos de kéfir son, en general, *Lactobacillus* (predominante y responsable de la mayor parte del ácido láctico, acidez, CO₂ y etanol (lactobacilos heterofermentativos) producido), *Lactococcus* (*L. lactis* subsp. *lactis*, *L. lactis* subsp. *cremoris*), levaduras fermentadoras y no fermentadoras de lactosa (responsables de parte de la producción de etanol y CO₂, como *S. cerevisiae*, *Torulaspota delbrueckii*, *Pichia fermentans*, *S. turicensis*, *Geotrichum candidum*,

Kluyveromyces marxianus, *Dekkera anomala*... entre otras) y bacterias acéticas (*Acetobacter spp.*), y proporcionan una actividad antimicrobiana contra *Candida albicans*, *Shigella sonnei*, *Staphylococcus aureus*, *E. coli*, *Bacillus subtilis*, *S. aureus* y *E. faecalis*. Se debe, principalmente, a la acción de compuestos producidos por estas levaduras y bacterias, como los ácidos orgánicos, las bacteriocinas, peróxido de hidrógeno, diacetilo, etanol y CO₂ (Machado De Oliveira Leite et al., 2013).

Los *Lactobacillus* presentes en el kéfir, tales como *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. helveticus*, *L. kefiranofaciens* subsp. *kefiranofaciens*, *L. kefiranofaciens* subsp. *kefirgranum*, *L. acidophilus*, *L. kefiri*, *L. parakefiri*, *L. fermentum* (asociado con mayor tasa de éxito en tratamientos de FIV y la restauración del microbioma vaginal sano), *L. brevis* y, predominantemente, *L. lactis* (usualmente, *L. lactis* subsp. *lactis biovar diacetylactis*) muestran actividad antimicrobiana hacia *E. coli*, *Shigella flexneri* y *Y. enterocolitica*, entre otros (Machado De Oliveira Leite et al., 2013; Tsonis et al., 2021).

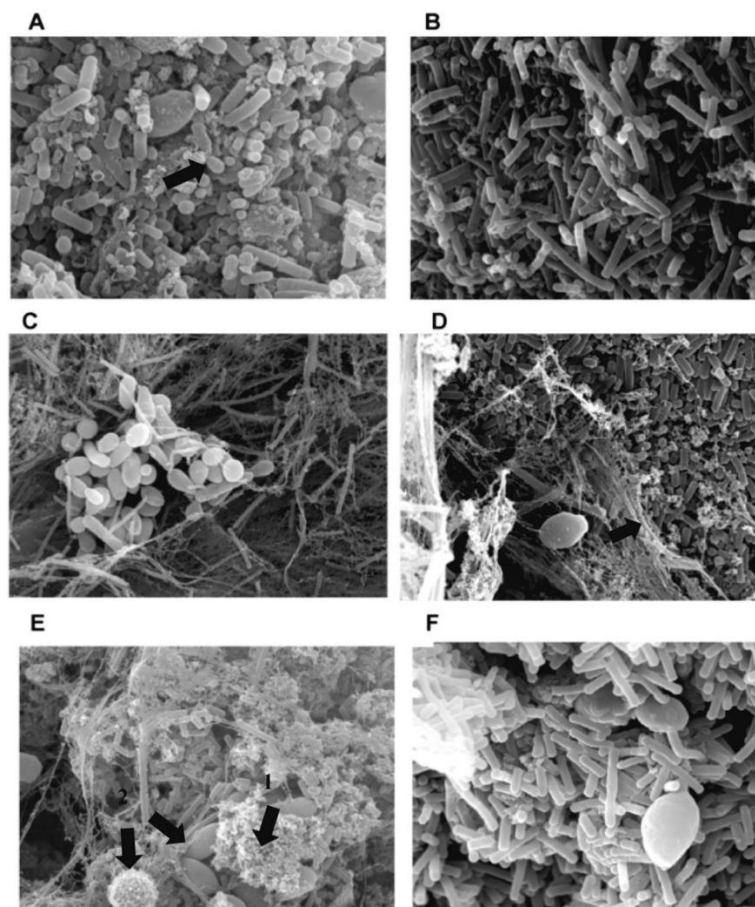


Figura 9: Fotografía de microscopía electrónica de barrido del grano de kéfir. A,C,D: Zona externa del grano; B,D,F: Zona interna del grano. Flechas: A: Cocos; D: Polisacárido kefirán; E1: Proteína coagulada; E2: Levaduras. Machado De Oliveira Leite, A. y Lemos Miguel, M. A. y Peixoto, R. S. y Soares Rosado, A. y Silva, J. T. y Margaret, V. y Paschoalin, F. (2013). *Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage*. www.sbmicrobiologia.org.br

4.3.3 Kimchi

Con origen en Korea, *kimchi* es un término utilizado de forma general para referirse a un grupo amplio de alimentos compuestos por verduras fermentadas, que llevan siendo consumidos desde el siglo III o IV d.C. En un comienzo, el rábano era la verdura que se utilizaba frecuentemente para cocinar *kimchi* pero, más adelante, comenzó a hacerse con repollo chino, también llamado repollo *baechu*, lo que dio el nombre al *kimchi* más popular hasta la actualidad, el *kimchi baechu* (Figura 10). Este probiótico natural, al que se le atribuyen cualidades beneficiosas como antioxidante, anticancerígena, antiarterosclerótico y antidiabético, se suele cocinar de forma casera. Para ello, el repollo es tratado previamente con una salmuera, y mezclado con otras verduras y especias (ajo, pimiento rojo, jengibre, cebollino, azúcar...) cortadas en rodajas o picadas, tras lo cual se fermenta, principalmente con *Lactobacillus* (Park et al., 2014).



Figura 10: Plato de kimchi baechu. Jeremy Keith, CC BY 2.0, <https://creativecommons.org/licenses/by/2.0>, via Wikimedia Commons

De los *Lactobacillus*, destacan *L. brevis*, encontrado también en el kéfir, *L. plantarum*, que ayuda a mantener un microbioma urogenital sano y un pH que evite infecciones vaginales (en concreto, *L. plantarum* KC21 posee resistencia a ácidos gástricos y bilis, lo que se traduce en mayor concentración de células viables tras atravesar la vía oral, así como fuerte actividad bactericida contra microorganismos patógenos) y *L. lactis*, también presente en el kéfir, cuyas cepas *L. lactis* subsp. *lactis* A164 y *L. lactis* subsp. *lactis* H-559 muestran una producción de bacteriocinas contra *S. aureus* (López-Moreno y Aguilera, 2020; Machado De Oliveira Leite et al., 2013; Park et al., 2014).

Además de *Lactobacillus*, el *kimchi* contiene otros microorganismos, como *Leuconostoc mesenteroides* y *Streptococcus thermophilus*, que también muestran actividad antipatogénica (Figura 11) (Park et al., 2014).

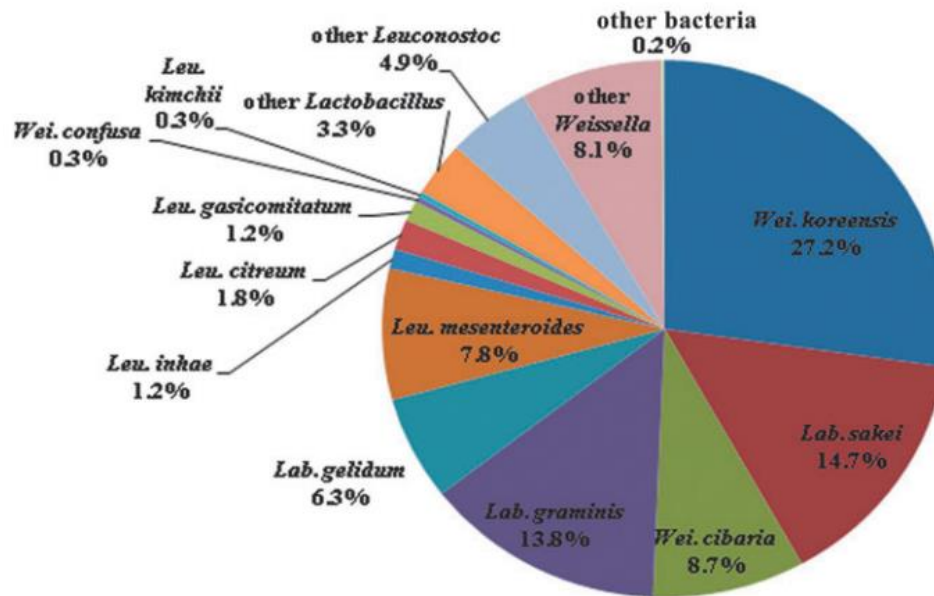


Figura 11: Comunidad de bacterias lácticas en los 13 kimchi comerciales más populares. Park, K. Y. y Jeong, J. K. y Lee, Y. E. y Daily, J. W. (2014). Health benefits of kimchi (korean fermented vegetables) as a probiotic food. En *Journal of Medicinal Food* (Vol. 17, Número 1, pp. 6-20). <https://doi.org/10.1089/jmf.2013.3083>

4.3.4 Queso

El queso es uno de los probióticos naturales más famosos a nivel mundial. Es un producto de la fermentación de la leche con bacterias ácido lácticas (que son mayoritariamente responsables de la formación de ácido láctico a partir de lactosa, lo que reduce el pH de la leche y permite que se produzca la cuajada) y, en algunos casos, con levaduras y mohos. Este microbioma, a su vez, está muy influenciado por la manera en la que se fabrica el queso, desde el tipo de leche usada, al método de manufactura y curado. Es en esta última etapa en la que se genera el perfil organoléptico del queso, porque los microorganismos producen enzimas, en concreto, proteasas y lipasas, que hidrolizan las grasas y proteínas en monómeros (ácidos grasos y aminoácidos) (Hayaloglu, 2016).

Particularmente, este alimento se caracteriza por su gran capacidad como vector de microorganismos a través del tracto gastrointestinal, gracias a su función como buffer contra la acidez, su menor potencial redox que otros productos fermentados de la

leche y una estructura protectora de las bacterias, basada en una matriz densa y de alto contenido lipídico (Gomes da Cruz et al., 2009; Hayaloglu, 2016). Estudios afirman que el queso Cheddar protege mejor a las bacterias de los ácidos gástricos que el yogur, y se observó en ensayos clínicos que era tan efectivo como éste a la hora de transportar a lo largo de todo el tracto gastrointestinal los microorganismos presentes en el producto, cualidad que también se observó en el *Requeijão* portugués o el Queso fresco argentino. Sin embargo, los microorganismos que tienen un impacto beneficioso en nuestra salud suelen tener menor capacidad para producir ácidos y agentes proteolíticos, lo que se traduce en un perfil organoléptico más sencillo y menos intenso. Es por eso por lo que, de todos los formatos de quesos, los quesos frescos resultan los más adecuados para ser productos probióticos (Gomes da Cruz et al., 2009; Hayaloglu, 2016).

Entre los microorganismos probióticos más utilizados en la fabricación del queso están *Lactobacillus acidophilus*, *L. reuteri* y *L. rhamnosus*, relacionados con mayor tasa de éxito en tratamientos de FIV; *L. casei*, probiótico con alta resistencia al pH del entorno gástrico altamente utilizado para modular la infertilidad disbiótica y *L. delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, presente también en la composición microbiológica del kéfir (Gomes da Cruz et al., 2009; Hayaloglu, 2016; López-Moreno y Aguilera, 2020; Machado De Oliveira Leite et al., 2013; Tsonis et al., 2021). *L. rhamnosus* y *L. casei* pueden encontrarse en los quesos curados como *Cheddar*, Parmesano, Manchego o *Idiazabal*, aunque *L. casei* también se encuentra en quesos azules, como los quesos Gorgonzola, Roquefort o de Cabrales, y quesos curados en salmuera, como *Feta*, *Domiaty* y *Beyaz*. Los quesos curados, los quesos azules y los quesos hilados (tales como *Provolone*, *Mozzarella* y *Kasseri*) también albergan *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*. Los quesos suizos como Emmental, *Comte* o *Maasdam* contienen *L. casei*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus* y *L. rhamnosus* (Hayaloglu, 2016).

Otros microorganismos con actividad antimicrobiana observados en el queso incluyen *L. plantarum* (quesos curados, quesos curados en salmuera y quesos azules); *Kluyveromyces marxianus* (quesos curados, azules y quesos con corteza enmohecida, tales como Camembert o Brie); *L. brevis* (quesos curados en salmuera y quesos curados); *L. lactis* subsp. *cremoris* (quesos curados, quesos curados en salmuera,

quesos holandeses (*Gouda*, *Edam*) y quesos azules); *Geotrichum candidum* (quesos azules, quesos de pasta blanda y corteza lavada (*Tilsit*, *Munster* (Figura 12), *Limburger*) y quesos con corteza enmohecida); *Saccharomyces cerevisiae* (quesos curados en salmuera, quesos azules y quesos con corteza enmohecida) y *Pichia spp.* (quesos azules) (Gaziano et al., 2020; Hayaloglu, 2016; López-Moreno y Aguilera, 2020).



Figura 12: Bloque de queso Munster. Brion VIBBER, CC BY-SA 3.0, <http://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0/>, via Wikimedia Commons

4.3.5 Yogur

Este probiótico natural tiene sus primeras trazas de existencia en la Historia alrededor del año 5000 a.C. de la mano de los pueblos nómadas de Oriente Medio y, a lo largo de la historia, se ha ido expandiendo por todo el mundo, gracias a sus propiedades paliativas y curativas (Anexo 1). En el siglo XX se comenzó a comercializar y, hoy en día, este producto es consumido por, al menos, un 30% de la población mundial. Es creado a partir de la fermentación de la leche que, al acidificarse, forma la cuajada. De forma tradicional, el proceso se realiza a unos 40-45°C y haciendo uso de dos bacterias, *S. thermophilus* y *L. bulgaricus*, aunque actualmente, el yogur se produce en condiciones altamente controladas, añadiendo ingredientes adicionales (frutas, sabores artificiales, azúcares, colorantes, estabilizadores, emulsionantes... etc.) y mayor variedad microbiana, especialmente *Lactobacillus*, como *B. bifidum*, *L. acidophilus* y *L. bulgaricus*, aunque es recomendable añadir también prebióticos para garantizar una mayor viabilidad celular durante su periodo de conservación antes de su consumición (Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001; Rul, 2017).

Se ha comprobado la función del yogur como anticancerígeno, antiinflamatorio, antidiabético y antihipertensivo, además de ayudar a prevenir enfermedades cardiovasculares y la obesidad. Adicionalmente, varias investigaciones científicas señalan que el yogurt tiene propiedades antipatogénicas contra microorganismos como *S. mutans* y *E. coli.*, que provienen de la producción de ácidos orgánicos (reducen el pH y alteran el potencial redox), peróxido de hidrógeno, bacteriocinas, antibióticos y ácidos biliares deconjugados, así como de su la capacidad para estimular el sistema inmune y su competitividad por sitios de adhesión y nutrientes con microorganismos patogénicos. En un estudio, se observó que las heces de los sujetos que consumieron yogurt contenían mayor porcentaje de *Lactobacillus* y menor proporción de *Bacteroides* (Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001; Rul, 2017).

Hay que tener en cuenta que, para que el yogurt pueda actuar como probiótico natural, debe conservarse refrigerado a la temperatura recomendada por el fabricante y antes de la fecha de consumo preferente indicada (Lourens-Hattingh y Viljoen, 2001).

CONCLUSIONES

- 1- En pacientes con infertilidad, resulta evidente la presencia habitual de microorganismos tales como *Atopobium*, *Neisseria*, *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Gardnerella*, *E. coli*... etc. que, a su vez, se relacionan con la respuesta negativa a tratamientos de reproducción asistida, incapacidad para concebir o desarrollar un embarazo y tasa mayor de abortos.
- 2- En general, la proporción mayoritaria de los microorganismos mencionados en el punto anterior no es deseable en el microbioma uterino-vaginal de aquellos pacientes que buscan tener hijos, pero también en un microbioma saludable, puesto que estos microorganismos abundan en personas que sufren enfermedades como vaginosis bacteriana, endometriosis, endometritis bacteriana... o enfermedades infecciosas que afecten al feto, como la corioamnionitis o la meningitis fetal.
- 3- Aunque el perfil del microbioma uterino-vaginal fértil puede variar dependiendo del individuo, no hay duda de que la presencia mayoritaria de *Lactobacillus* contribuye claramente al microbioma saludable favorable a la concepción, embarazo y nacimiento vivo.
- 4- El consumo de probióticos, usualmente realizado por vía oral, parece tener un efecto positivo sobre la modulación del microbioma y, consecuentemente, sobre la disbiosis y la capacidad fértil del paciente, siempre y cuando los microorganismos que contenga el probiótico sean microorganismos GRAS.
- 5- Algunos microorganismos con beneficios probióticos como *L. plantarum*, *L. brevis*, *L. rhamnosus*, *L. casei*, *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *bulgaricus*, *L. lactis* subsp. *cremoris* o *L. acidophilus* están presentes en alimentos como el kéfir, el kimchi, el queso o el yogurt, que son alimentos fermentados que llevan fabricándose, algunos habitualmente de forma casera, desde hace miles de años.

- 6- Estos probióticos naturales poseen una matriz protectora (como proteínas coaguladas) y una variedad de microorganismos adicionales en simbiosis (como las levaduras *Torulaspota delbrueckii*, *Geotrichum candida*, *Kluyveromyces marxianus*, *Pichia fermentans*, *S. cerevisiae*... entre otras), que también tienen funciones antipatogénicas y facilitan la supervivencia y viabilidad para colonizar los tejidos del huésped al atravesar el tracto gastrointestinal.

- 7- Pese a que los probióticos naturales tienen un gran potencial como apoyo al tratamiento antibiótico o incluso como tratamiento alternativo para tratar la disbiosis del microbioma uterino-vaginal y modular la fertilidad, son necesarios más estudios clínicos que corroboren estas propiedades, especialmente aquellos estudios que relacionen la fertilidad humana con el consumo habitual de probióticos naturales.

BIBLIOGRAFÍA

- American Society for Reproductive Medicine. (2012). *Reproducción con Donante (Donación de espermatozoides, óvulos, embriones y vientre de alquiler): Guía para pacientes*.
https://www.reproductivefacts.org/globalassets/rf/news-and-publications/bookletsfact-sheets/spanish-fact-sheets-and-info-booklets/reproduccion_con_donante-spanish.pdf
- Ariel, E. y Reyes, G. (2016). Infecciones de transmisión sexual: Un problema de salud pública en el mundo y en Venezuela. *Comunidad y Salud*, 14(2), 63-71.
http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1690-32932016000200008&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Ávila-Portillo, L. M. y Madero, J. I. y López, C. y León, M. F. y Acosta, L. y Gómez, C. y Delgado, L. G. y Gómez, C. (2006). Fundamentos de criopreservación. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*, 57(4), 291-300.
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-74342006000400008&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Bastani, P. y Homayouni, A. y Tabrizian, V. G. y Ziyadi, S. (2012). Dairy Probiotic Foods and Bacterial Vaginosis: A Review on Mechanism of Action. *Probiotics*. <https://doi.org/10.5772/50083>
- Brugo-Olmedo, S. y Chillik, C. y Kopelman, S. (2003). Definición y causas de la infertilidad. *Revista Colombiana de Obstetricia y Ginecología*, 54(4), 227-248.
http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-74342003000400003&lng=en&nrm=iso&tlng=es
- Crosignani, P. G. y Bonduelle, V. y Braude, P. y Collins, J. y Devroey, P. y Evers, J. L. H. y Fauser, B. C. J. M. y Liebaers, I. y Palermo, G. D. y Templeto, A. y Baird, D. T. y Cohen, J. y Crosignani, P. G. y Diczfalusy, E. y Diedrich, K. y Fraser, L. y Gianaroli, L. y Glasier, A. y Ragni, G. y ... Crosignani, P. G. (2007). Intracytoplasmic sperm injection (ICSI) in 2006: evidence and evolution. *Human reproduction update*, 13(6), 515-526. <https://doi.org/10.1093/HUMUPD/DMM024>
- Devoto C, E. y Madariaga A, M. y Lioi C, X. (2000). Factores causales de infertilidad masculina: Contribución del factor endocrino. *Revista médica de Chile*, 128(2), 184-192.
<https://doi.org/10.4067/S0034-98872000000200008>
- Gaziano, R. y Sabbatini, S. y Roselletti, E. y Perito, S. y Monari, C. (2020). Saccharomyces cerevisiae-Based Probiotics as Novel Antimicrobial Agents to Prevent and Treat Vaginal Infections. *Frontiers in Microbiology*, 11, 718. <https://doi.org/10.3389/FMICB.2020.00718/BIBTEX>
- Gomes da Cruz, A. y Buriti, F. C. A. y Batista de Souza, C. H. y Fonseca Faria, J. A. y Isay Saad, S. M. (2009). Probiotic cheese: Health benefits, technological and stability aspects. En *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 20, Número 8, pp. 344-354).
<https://doi.org/10.1016/j.tifs.2009.05.001>
- Hayaloglu, A. A. (2016). Cheese: Microbiology of Cheese. En *Reference Module in Food Science*. Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-08-100596-5.00675-2>
- Huang, J. Y. J. y Rosenwaks, Z. (2014). Assisted reproductive techniques. *Methods in molecular biology (Clifton, N.J.)*, 1154, 171-231. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0659-8_8

- Kovacs, P. (2014). Embryo selection: the role of time-lapse monitoring. *Reproductive Biology and Endocrinology : RB&E*, 12(1). <https://doi.org/10.1186/1477-7827-12-124>
- López-Moreno, A. y Aguilera, M. (2020). Probiotics Dietary Supplementation for Modulating Endocrine and Fertility Microbiota Dysbiosis. *Nutrients*, 12(3). <https://doi.org/10.3390/NU12030757>
- Lourens-Hattingh, A. y Viljoen, B. C. (2001). Yogurt as probiotic carrier food. En *International Dairy Journal* (Vol. 11).
- Machado De Oliveira Leite, A. y Lemos Miguel, M. A. y Peixoto, R. S. y Soares Rosado, A. y Silva, J. T. y Margaret, V. y Paschoalin, F. (2013). *Microbiological, technological and therapeutic properties of kefir: a natural probiotic beverage*. www.sbmicrobiologia.org.br
- Moreno, I. y Garcia-Grau, I. y Perez-Villaroya, D. y Gonzalez-Monfort, M. y Bahçeci, M. y Barrionuevo, M. J. y Taguchi, S. y Puente, E. y Dimattina, M. y Lim, M. W. y Meneghini, G. y Aubuchon, M. y Leondires, M. y Izquierdo, A. y Perez-Olgiati, M. y Chavez, A. y Seethram, K. y Bau, D. y Gomez, C. y ... Simon, C. (2022). Endometrial microbiota composition is associated with reproductive outcome in infertile patients. *Microbiome*, 10(1), 1-17. <https://doi.org/10.1186/S40168-021-01184-W/FIGURES/7>
- NICHD. (2020). *Técnicas de reproducción asistida (ART)*. <https://espanol.nichd.nih.gov/salud/temas/infertility/informacion/tratamientos-art#f1>
- Organización Mundial de la Salud. (2001). *Manual de laboratorio de la OMS para el examen del semen humano y de la interacción entre el semen y el moco cervical* (4.ª ed.). Editorial Médica Panamericana. <https://apps.who.int/iris/handle/10665/101594>
- Park, K. Y. y Jeong, J. K. y Lee, Y. E. y Daily, J. W. (2014). Health benefits of kimchi (korean fermented vegetables) as a probiotic food. En *Journal of Medicinal Food* (Vol. 17, Número 1, pp. 6-20). <https://doi.org/10.1089/jmf.2013.3083>
- Rampersaud, R. y Randis, T. M. y Ratner, A. J. (2012). Microbiota of the upper and lower genital tract. *Seminars in Fetal and Neonatal Medicine*, 17(1), 51-57. <https://doi.org/10.1016/J.SINY.2011.08.006>
- Rojas Quintana, P. y Medina Tío, D. y Torres Ajá, L. (2011). Infertilidad. *MediSur*, 9(4), 340-350. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1727-897X2011000400012&lng=es&nrm=iso&tlng=es
- Rul, F. (2017). *Yogurt: microbiology, organoleptic properties and probiotic potential*.
- Suárez, J. E. (2015). Microbiota autóctona, probióticos y prebióticos. *Nutricion Hospitalaria*, 31. <https://doi.org/10.3305/nh.2015.31.sup1.8701>
- Toson, B. y Simon, C. y Moreno, I. (2022). The Endometrial Microbiome and Its Impact on Human Conception. *International Journal of Molecular Sciences 2022*, Vol. 23, Page 485, 23(1), 485. <https://doi.org/10.3390/IJMS23010485>
- Tsonis, O. y Gkrozou, F. y Paschopoulos, M. (2021). Microbiome affecting reproductive outcome in ARTs. *Journal of Gynecology Obstetrics and Human Reproduction*, 50(3), 102036. <https://doi.org/10.1016/J.JOGO.2020.102036>

Unidad de Reproducción Lleida. (2015). *La microinyección intracitoplasmática de espermatozoides (ICSI)*. <https://fivlleida.cat/es/la-microinyeccion-intracitoplasmatica-de-espermatozoides-icsi/>

Wang, J. y Sauer, M. V. (2006). In vitro fertilization (IVF): a review of 3 decades of clinical innovation and technological advancement. *Therapeutics and Clinical Risk Management*, 2(4), 355. <https://doi.org/10.2147/TCRM.2006.2.4.355>

Wasilewski, T. y Łukaszewicz-Zajac, M. y Wasilewska, J. y Mroczko, B. (2020). Biochemistry of infertility. *Clinica chimica acta; international journal of clinical chemistry*, 508, 185-190. <https://doi.org/10.1016/J.CCA.2020.05.039>

ANEXOS

Anexo 1. Ejemplos de productos lácteos probióticos presentes en el mercado global.

Product	Country	Culture	Prebiotic additive	Reference
AB milk products	Denmark	A + B		Tamime et al. (1995)
Acidophilus bifidus yogurt	Germany	A + B + Yogurt culture		Tamime et al. (1995)
BA 'Bifidus active'	France	<i>B. longum</i> + Yogurt culture		Tamime et al. (1995)
Bifidus milk	Germany	<i>B. bifidum</i> or <i>B. longum</i>		Tamime et al. (1995)
Bifidus yogurt	Many countries	<i>B. bifidum</i> or <i>B. longum</i> + Yogurt culture		Tamime et al. (1995)
Bifighurt	Germany	<i>B. longum</i> + <i>S. thermophilus</i>		Tamime et al. (1995)
Bifilak(c)t	USSR	A + B		Tamime et al. (1995)
Biobest	Germany	<i>B. bifidum</i> or <i>B. longum</i> + Yogurt culture		Tamime et al. (1995)
Biokys (= Femilact)	Czechoslovakia	A + B + <i>Pediococcus acidilactici</i>	Contains 'biogerm' grain	Tamime et al. (1995)
Biomild	Germany	A + B		Tamime et al. (1995)
Mil-Mil	Japan	A + B + <i>B. breve</i>		Tamime et al. (1995)
Bioghurt	Germany	A + B + <i>S. thermophilus</i>		Tamime et al. (1995)
Cultura	Denmark	A + B		Hoier (1992)
Philus	Norway	A + B		Hoier (1992)
BA live	Sweden	A + B + <i>S. thermophilus</i>		Hoier (1992)
A-38	United Kingdom	A + B + Yogurt culture		Hoier (1992)
Acidophilus milk	Denmark	A + B + Mesophilic LD culture		Hoier (1992)
Kyr	Sweden	A + B + Mesophilic LD culture		Hoier (1992)
Ofilus	Italy	A + B + Yogurt culture		Hoier (1992)
BIO	France	A + B + <i>S. thermophilus</i>		Hoier (1992)
Biogarde	France	A + B + Yogurt culture		Hoier (1992)
ABC Ferment	Germany	A + B + <i>S. thermophilus</i>		Hoier (1992)
	Germany	A + B + <i>L. casei</i>	Inulin	Holzappel, Schillinger, Du toit and Dicks (1997)
AKTIFIT plus	Switzerland	A + B + <i>L. casei</i> GG + <i>S. thermophilus</i>	Oligofructose	Holzappel et al. (1997)
Symbalance	Switzerland	A + B + <i>L. reuteri</i> + <i>L. casei</i>	Inulin	Holzappel et al. (1997)
Mona fysig	Netherlands	<i>L. acidophilus</i>	Inulin	Holzappel et al. (1997)
Actimell	Germany	<i>L. casei</i>		Holzappel et al. (1997)
LC-1	Germany	<i>L. acidophilus</i>		Holzappel et al. (1997)
LA-7 plus	Bauer	A + B	Oligofructose	Holzappel et al. (1997)
Vifit	Germany	<i>L. casei</i> GG	Oligofructose	Holzappel et al. (1997)
Primo	Germany	BactoLab cultures		Holzappel et al. (1997)
Zabady	Egypt	<i>B. bifidum</i> + Yogurt culture		Keব্য (1996)

^aA: *L. acidophilus*, B: Bifidobacteria, Yogurt culture: *S. thermophilus* and *L. bulgaricus*.

Lourens-Hattingh, A. y Viljoen, B. C. (2001). Yogurt as probiotic carrier food. En *International Dairy Journal* (Vol. 11).