



Universidad de Sevilla

Facultad de Odontología



¿CAMBIA EL MICROBIOMA ORAL DURANTE LA MENOPAUSIA?

UNA REVISIÓN INTEGRADA

DOES THE ORAL MICROBIOME CHANGE DURING MENOPAUSE?

AN INTEGRATED REVIEW

Máster Oficial en Odontología Restauradora, Estética y Funcional

Autora: María Rodríguez Nieto

Tutora: Áurea Simón Soro

Sevilla, 2021



Facultad de Odontología



DRA. ÁUREA SIMÓN SORO, PROFESORA CONTRATO DE ACCESO AL SISTEMA ESPAÑOL DE CIENCIA, INVESTIGACIÓN Y TECNOLOGÍA, ADSCRITAS AL DEPARTAMENTO DE ESTOMATOLOGÍA DE LA UNIVERSIDAD DE SEVILLA, COMO TUTORA DEL TRABAJO FIN DE **MÁSTER OFICIAL EN ODONTOLOGÍA RESTAURADORA, ESTÉTICA Y FUNCIONAL.**

CERTIFICAN: QUE EL PRESENTE TRABAJO TITULADO “¿CAMBIA EL MICROBIOMA ORAL DURANTE LA MENOPAUSIA?: UNA REVISIÓN INTEGRADA” HA SIDO REALIZADO POR MARÍA RODRÍGUEZ NIETO BAJO MI DIRECCIÓN Y CUMPLE A MI JUICIO, TODOS LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA SER PRESENTADO Y DEFENDIDO COMO TRABAJO DE FIN DE MÁSTER.

Y PARA QUE ASI CONSTE Y A LOS EFECTOS OPORTUNOS, FIRMAMOS EL PRESENTE CERTIFICADO, EN SEVILLA A DÍA 8 DE JUNIO DE 2021.

D/D^a ÁUREA SIMÓN SORO
TUTOR/A



Facultad de Odontología



D/Dña. MARÍA RODRÍGUEZ NIETO con DNI 75715005V alumno/a del Máster Universitario en Odontología Restauradora, Estética y Funcional de la Facultad de Odontología (Universidad de Sevilla), autor/a del Trabajo Fin de Máster titulado: “¿CAMBIA EL MICROBIOMA ORAL DURANTE LA MENOPAUSIA?: UNA REVISIÓN INTEGRADA”

DECLARO:

Que el contenido de mi trabajo, presentado para su evaluación en el Curso 2020-2021 es original, de elaboración propia, y en su caso, la inclusión de fragmentos de obras ajenas de naturaleza escrita, sonora o audiovisual, así como de carácter plástico o fotográfico figurativo, de obras ya divulgadas, se han realizado a título de cita o para su análisis, comentario o juicio crítico, incorporando e indicando la fuente y el nombre del autor de la obra utilizada (Art. 32 de la Ley 2/2019 por la que se modifica el texto refundido de la Ley de Propiedad Intelectual, BOE núm. 53 de 2 de Marzo de 2019).

APERCIBIMIENTO:

Quedo advertido/a de que la inexactitud o falsedad de los datos aportados determinará la calificación de NO APTO y que asumo las consecuencias legales que pudieran derivarse de dicha actuación.

Sevilla a 8 de junio de 2021

Fdo.: MARÍA RODRÍGUEZ NIETO

ÍNDICE DE CONTENIDO

1. RESUMEN	1
2. INTRODUCCIÓN	3
3. OBJETIVOS	4
4. METODOLOGÍA	4
5. RESULTADOS	5
5.1. MENOPAUSIA EN CAVIDAD ORAL	5
• ¿Qué es la menopausia y cuantas fases tiene?	5
• Síntomas y signos orales en menopausia	6
• Regulación de estrógenos en los tejidos orales	7
• Cambios histológicos orales en menopausia.....	7
5.2. MICROBIOMA Y MENOPAUSIA.....	8
• Hormonas esteroideas femeninas.....	8
• Saliva	9
• Vitamina D	10
• Cortisol.....	11
5.3. IMPACTO DE LA MENOPAUSIA EN EL MICROBIOMA SUBGINGIVAL	12
• Microbioma subgingival en enfermedad periodontal.....	12
• Microbioma subgingival en salud	13
5.4. MÁS ALLÁ DE LAS BACTERIAS DEL MICROBIOMA ORAL EN MENOPAUSIA	14
• Virus del papiloma humano (VPH).....	14
• Hongos.....	14
5.5. CONEXIONES ORALES-SISTÉMICAS EN MENOPAUSIA.....	15
• Microbioma Gastrointestinal.....	16
• Microbioma Vaginal.....	16
6. DISCUSIÓN	18
7. CONCLUSIONES	21
8. BIBLIOGRAFÍA	22

1. RESUMEN

El microbioma oral se define como el genoma de los microorganismos que viven en la cavidad oral, integrado por bacterias, virus y hongos. Es uno de los más complejos y diversos del organismo. Existe evidencia científica de que el microbioma oral se ve afectado por las fluctuaciones de hormonas sexuales femeninas; estrógenos, progesterona y estradiol. Sin embargo, la relación entre la menopausia y los microorganismos comensales que habitan en la cavidad oral permanece poco estudiada. En concreto, esta revisión se centra en los cambios microbiológicos orales que se dan durante la menopausia, donde los niveles de estas hormonas esteroideas disminuyen drásticamente. Se desconoce la interacción entre las hormonas femeninas y los microorganismos en la cavidad oral a través de receptores de estrógenos (ER- β), progesterona y estradiol presentes en mucosa oral, glándulas salivares y encía. La sintomatología que acontece durante la menopausia es principalmente la sequedad oral persistente, y supone uno de los grandes retos clínicos. Otro factor implicada es la vitamina D, la cual posee efectos antiinflamatorios y antimicrobianos que protegen contra agresiones patógenas. Se analizan otros habitantes del microbioma como virus, VPH, presentando un segundo pico de detección en mujeres postmenopáusicas debido a cambios inmunológicos. Y, hongos (*Candida*), siendo la tercera infección oral más frecuente durante el climaterio. Esta revisión estudia las relaciones sistémicas del microbioma oral con el microbioma vaginal e intestinal, donde existen receptores de estrógenos, sugiriendo que su composición pueda regularse por los niveles de dichas hormonas. El microbioma oral sirve de inóculo para el intestino y según la evidencia científica, el epitelio vaginal es microscópicamente muy similar al epitelio oral. Esta revisión es un repaso de la literatura científica de los últimos 21 años, que ayudará a entender mejor los cambios que se producen durante la menopausia. Aunque se necesitan más estudios longitudinales prospectivos con técnicas metagenómicas y metatranscriptómicas que analicen en profundidad estas asociaciones.

ABSTRACT

The oral microbiome defined as the genome of microorganisms that live in the oral cavity made up of bacteria, viruses, and fungi. It is one of the most complex and diverse in the body. There is scientific evidence that the oral microbiome is affected by female sex hormones, estrogens, progesterone, and estradiol. However, the relationship between menopause and commensal microorganisms that inhabit the oral cavity remains to this day, little studied. Specifically, this review focuses on the oral microbiological changes that occur during menopause, where the levels of these steroid hormones drop dramatically. In addition, other factors involved included, which are fundamental and until now have been little described little related to each other, such as the role of female hormones, since the presence of estrogen receptors (ER- β) has been demonstrated, progesterone and estradiol in oral mucosa and gingiva; saliva, estrogen receptors (ER- β) have been described in the salivary glands; cortisol, a stress biomarker that activates certain microorganisms. The symptoms that occur in this stage are related, persistent oral dryness being one of the significant clinical challenges. Another factor is vitamin D, which has anti-inflammatory and antimicrobial effects that protect against pathogenic attacks. Other inhabitants of the microbiome, such as virus, HPV, are analyzed, presenting the second peak of detection in postmenopausal women due to immunological changes. Fungi (*Candida*) being the third most frequent oral infection during the climacteric. The systemic relationships of the oral microbiome with the vaginal and intestinal microbiome, where there are estrogen receptors, suggest that the levels of these hormones can regulate their composition. The oral microbiome serves as an inoculum for the intestine, and according to scientific evidence, the vaginal epithelium is microscopically very similar to the oral epithelium. This review is a review of the scientific literature of the last 21 years, which will help to understand better the changes that occur during menopause. However, more prospective longitudinal studies with metagenomic and metatranscriptomic techniques are needed to analyze these associations in depth.

2. INTRODUCCIÓN

La menopausia es el periodo de la vida de la mujer donde se produce el cese permanente e irreversible de la menstruación. La edad media del inicio de la menopausia son los 50 años, aunque el proceso se establece entre los 40 y 59 años (1).

El término microbioma procede del griego *micro* (pequeño) y *bios* (vida) y se define como el conjunto de genes de los microorganismos presentes en nuestro cuerpo, este concepto tiene la particularidad de incluir el entorno y las actividades que llevan a cabo. Al conjunto de microorganismos se denomina microbiota y está integrada principalmente por bacterias, virus y hongos, siendo el microbioma humano bacteriano predominante y el de mayor influencia sobre la salud (2).

El nobel microbiólogo Joshue Lederberg fue el primer científico en proponer el término microbioma. En 2008, se estableció el proyecto de Microbioma Humano, el cual caracterizó las comunidades microbianas de 300 individuos sanos en varios nichos del cuerpo, como la piel, las fosas nasales o el tracto gastrointestinal entre otros (3). En la cavidad oral se recolectaron muestras de saliva, paladar duro, dorso de la lengua, encía queratinizada, mucosa bucal, placa supragingival, placa subgingival, amígdalas y garganta. Al finalizar, del proyecto se aislaron y secuenciaron más de 2200 cepas microbianas, de las cuales 347 se obtuvieron de la cavidad bucal (2,4).

A través de los estudios del microbioma conocemos que existe una gran diversidad oral superior a 700 especies bacterianas, dicha diversidad encontrada en la placa subgingival y supragingival, solo es superada por el intestino. En los nichos orales se establece una interacción microbioma-hospedador caracterizados por la adaptación de los microorganismos a las características histológicas y fisiológicas del ambiente. Por ejemplo, el diente es un tejido mineral, pobre en nutrientes donde hay una selección de los microorganismos especialistas en la adhesión a tejidos duros y el metabolismo de componentes de la dieta. Sin embargo, la lengua es un tejido blando donde los microorganismos pueden colonizar las papilas gustativas permitiendo el crecimiento de una microbiota más anaerobia.

El sitio menos estable al analizar las comunidades microbianas fue la placa supragingival, apoyado por la idea de que la estructura del microbioma humano probablemente esté determinada por las interacciones de un individuo con su entorno, así como la dieta, fármacos y enfermedad sistémica entre otros. Muchas de estas especies contribuyen al mantenimiento de la salud oral y otras, bajo ciertas condiciones, locales o sistémicas, pueden generar disbiosis, facilitando el desarrollo o agudización de ciertas enfermedades o afectaciones orales (2,5).

3. OBJETIVOS

El objetivo principal de esta revisión es estudiar los cambios que se producen en la microbiología y salud oral durante la menopausia, a través de la evidencia científica. Además, esta revisión aborda otros temas de interés como, la descripción de factores relacionados con el hospedador a nivel de la cavidad oral, que podrían impactar en la microbiota residente, el análisis de las poblaciones microbianas orales de bacterias, hongos y virus asociadas a la menopausia y establece la conexión sistémica del microbioma oral en nichos distantes como el vaginal y gastrointestinal durante esta etapa de la vida. Recogido en una revisión bibliográfica de los últimos 21 años.

4. METODOLOGÍA

Es una investigación basada en una revisión de la literatura científica publicada en los últimos 21 años, atendiendo a la relación entre el microbioma oral y la menopausia teniendo en cuenta otros factores que afectan a dicha relación; como el papel fundamental de la saliva, la vitamina D y su relación con otros microbiomas, vaginal e intestinal. Conformada inicialmente por un total de 67 artículos, los cuales, tras aplicar los criterios de inclusión y exclusión, se redujeron a 44 artículos científicos, publicados desde el año 2000 al año 2021, encontrados en las siguientes bases de datos: Pubmed, Medigraphic, Elsevier, ScienceDirect y Medline.

Criterios de Inclusión:

- Se seleccionaron las bases de datos descritas anteriormente por su prestigio y la relativa facilidad para acceder a los artículos.
- Se incluyeron artículos en inglés y español.

- Debieron ser publicados entre 2000 y 2021, el intervalo de tiempo es amplio debido a las escasez de publicaciones sobre microbioma oral y menopausia, es por ello que fue necesario incluir artículos relevantes publicados hace más de 10 años. Cabe destacar que en esta revisión tan solo se incluyen 12 artículos entre los años 2000 y 2010, y los 32 artículos restantes pertenecen a los últimos 11 años (2010-2021). De igual forma se incluyen los artículos originales, muchos de ellos publicados con anterioridad a la fecha tenida en cuenta en esta revisión, dada su relevancia científica.
- La población de estudio son mujeres con menopausia (entendiendo todas las fases).
- Artículos que estudien la relación entre el microbioma oral y la menopausia; cambios microbiológicos, manifestaciones orales, cambios en saliva, influencia de vitamina D y otros microbiomas (vaginal e intestinal).

Criterios de Exclusión:

- Artículos publicados antes del año 2000.
- Redactados en otros idiomas.
- Que no estudien la relación entre el microbioma oral y menopausia, así como sus factores influyentes.
- Artículos que presentan una metodología mal explicada, incompleta y/o con información sesgada.
- Artículos que expresen los resultados de forma poco clara y concisa.

5. RESULTADOS

5.1. MENOPAUSIA EN CAVIDAD ORAL

- ¿Qué es la menopausia y cuantas fases tiene?

La menopausia es el periodo de la vida de la mujer donde se produce el cese permanente e irreversible de la menstruación. Durante este periodo se producen cambios fisiológicos como sequedad de mucosas, aumento del tejido graso y cambios en el patrón del sueño. Además, la disminución de los niveles de hormonas sexuales femeninas que se da en esta etapa se asocia con un aumento del riesgo a padecer enfermedades cardiovasculares, autoinmunes y óseas (6).

La menopausia comprende 3 fases en función de la regularidad del periodo. La premenopausia, donde se inician los trastornos menstruales pero los niveles de hormonas se mantienen; debido a esto los síntomas son de baja intensidad. Seguida de la menopausia, la cual se establece cuando el cese de la menstruación ocurre por lo menos durante 12 meses consecutivos acompañada por el declive de la actividad ovárica folicular y hormonal. Aunque no es una fase como tal, en muchos artículos se hace mención al término perimenopausia, también conocido como climaterio o transición perimenopáusica. Es el periodo de transición en la vida de una mujer que va desde que la ovulación es deficitaria hasta la postmenopausia y puede durar de 2 a 7 años (1,6). Y, por último, la postmenopausia la cual se inicia después de los 12 meses sin periodo y donde se establece toda la sintomatología intensa.

- Síntomas y signos orales en menopausia

La mucosa oral responde a la disminución de los niveles de estrógenos (7), se manifiesta por un epitelio oral delgado y seco. La sequedad oral persistente, que es el síntoma oral por excelencia, puede ser compatible con xerostomía o hiposialia, y predispone a úlceras orales, distorsión del sentido del gusto, dificultad para la fonación y la deglución. Además, las mujeres menopáusicas, pueden sufrir alteraciones en los tejidos periodontales. El biofilm de la placa en combinación con el descenso de hormonas esteroideas (estrógenos, progesterona y estradiol) producirá respuestas gingivales exageradas pudiendo dar lugar a enfermedades gingivales complejas, como la gingivoestomatitis menopáusica, cuyas lesiones se asemejan a las lesiones descamativas del liquen plano erosivo o del penfigoide benigno de la mucosa. Estos cambios gingivales pueden progresar a enfermedad periodontal (EP) si no se tratan adecuadamente. A los síntomas anteriores, se añaden la sensación de boca dolorosa (Síndrome de boca ardiente (SBA)), el mal aliento y el dolor dental y miofacial (8,9). Por último, en esta etapa, la actividad secretora de las glándulas salivales disminuye, siendo también dependiente de hormonas, lo que dificulta la capacidad de autolimpieza de mucosas y dientes, facilitando la propensión a la caries dental y a la colonización bacteriana y fúngica, siendo muy frecuente la candidiasis oral en este grupo de mujeres (7,10,11).

- Regulación de estrógenos en los tejidos orales

Numerosos estudios han demostrado que la mucosa oral, la encía y las glándulas salivales son sensibles a la acción de los estrógenos. Existen dos subtipos receptores de estrógenos (ER), alfa y beta (12). El ER- α se expresa predominantemente en los tejidos diana de estrógenos clásicos como las glándulas mamarias y el endometrio y el ER- β se expresa principalmente en tejidos que recientemente se han identificado como diana para el estrógeno, como el epitelio oral o el epitelio colónico (13,14). Pero no se puede excluir que, en determinadas condiciones, por ejemplo, de inflamación, la expresión de ER- α puede inducirse en los tejidos orales. Por el contrario, ER- β se expresa ampliamente en niveles elevados en todos los tejidos orales, afectando en el tejido gingival a los queratinocitos y los fibroblastos (15). Los ER- β se expresan también en los queratinocitos y en las células acinares y ductales de las glándulas salivales, especialmente las menores, parótida y submandibulares (16). Además, se ha demostrado que los tumores de glándulas salivales expresan ARNm de receptores de estrógenos. Respecto a otras hormonas esteroideas, se sabe que la mucosa oral humana se une a la progesterona (17) y que existen receptores de progesterona (PR) en células ductales de las glándulas salivales, pero se desconoce la localización exacta de los receptores de progesterona en la mucosa oral. De igual forma, se ha demostrado que la encía humana contiene receptores para estradiol (16).

Un hallazgo interesante publicado en un ensayo clínico, reveló que el porcentaje de ARNm de ER fue menor para mujeres postmenopáusicas comparado con mujeres jóvenes (15). Se pone de manifiesto que los estrógenos pueden actuar a través de los ER- β en la fisiología de los tejidos orales. Y explica los cambios que sufre el epitelio oral y la saliva en cuanto a secreción y composición en esta fase de la vida de la mujer (7,18).

- Cambios histológicos orales en menopausia

Los estrógenos, modulan la maduración epitelial en los órganos diana. En particular, los estrógenos pueden influir en la citodiferenciación del epitelio escamoso estratificado y en la síntesis y mantenimiento de las fibras de colágeno de la cavidad oral. Se ha demostrado que los receptores de estrógeno están presentes en los osteoblastos relacionados con el metabolismo óseo y en los fibroblastos del periostio, lámina propia y del ligamento

periodontal. Lo que demuestra la acción directa de las hormonas sexuales en diferentes tejidos periodontales (14). Lo que conduce a un epitelio más delgado y atrófico, propenso a cambios inflamatorios. Por ello, clínicamente las mujeres menopaúsicas pueden presentar síntomas de malestar bucal como, sensación de ardor, sequedad oral y disminución de la secreción salival (7). La progesterona también tiene efectos sobre el periodonto, ya que puede desempeñar un papel importante en el acoplamiento de la resorción y formación ósea (16). Por todo lo anterior, se ha considerado que las hormonas sexuales femeninas pueden desempeñar un papel influyente en la tasa de renovación ósea y la cicatrización de heridas (6). Debido a esto último, durante la menopausia, las mujeres pueden sufrir un retraso en la cicatrización (7).

Un hallazgo interesante, es que se ha demostrado que los microorganismos orales metabolizan las hormonas esteroideas. Por ejemplo, el metabolismo de la progesterona, aumenta en el tejido gingival inflamado (19). Además, se ha demostrado en estudios *in vitro* que la progesterona tiene un efecto bacteriostático o bactericida dependiente de la dosis contra *Neisseria* y *Staphylococcus spp* (20). Otras especies como, *T. denticola* utiliza esteroides derivados del huésped como factores de crecimiento, fenómeno que puede relacionarse con su virulencia. De la misma forma, el estrógeno y la progesterona actúan como factores de crecimiento sustitutivos de la vitamina K, un nutriente importante para especies de *Bacteroides* como *P. intermedia*, *nigrecens* y *Capnocytophaga*, las cuales aumentan en el tejido gingival cuando el estradiol y la progesterona se elevan (9).

5.2. MICROBIOMA Y MENOPAUSIA

- Hormonas esteroideas femeninas

Las hormonas esteroideas femeninas (estrógenos, progesterona y estradiol) ejercen un efecto proinflamatorio sobre la encía (15). A pesar de que estos niveles de hormonas disminuyen drásticamente durante la menopausia. Existen etapas como la transición menopáusica, en la que se produce un aumento, que se relaciona a su vez con un incremento en la inflamación, alteración de la microanatomía y de la comunidad bacteriana gingival y subgingival. Dando lugar a una colonización preferencial de *Bacteroides*, especialmente *P. intermedia*. Se han encontrado especies de *P. intermedia*

y *P. nigrescens* tanto en surcos periodontales sanos, como en bolsas periodontales en mayor cantidad. Además, en esta especie existe transmisión intrafamiliar y materna (19).

Esta especie gram negativa ha revelado ciertos mecanismos virulentos, como su actividad proteolítica, que puede ser responsable de provocar la propagación de infecciones odontogénicas. También produce un potente lipopolisacárido, que se ha demostrado que estimula la osteoclastogénesis y la producción de betalactamasas, que confiere resistencia a los antibióticos y protegen del fármaco a las bacterias susceptibles a la penicilina en la biopelícula. Otro factor de virulencia recientemente identificado es un exopolisacárido que parece conferir resistencia a la fagocitosis por leucocitos polimorfonucleares. Todos estos factores de virulencia juegan un papel importante en la patogenia de las enfermedades a nivel oral, como la enfermedad periodontal (19).

- Saliva

Una función importante del sistema de defensa salival, basado en proteínas, es controlar la colonización bacteriana de la boca. Por tanto, cambios cuantitativos y cualitativos en la saliva pueden alterar la homeostasis de la salud oral pudiendo dar lugar a cambios en la composición bacteriana de la saliva (15,21,22). Según Belström et al., los pacientes con severa hiposalivación no difieren en los perfiles bacterianos comparados con aquellos con flujos salivales normales. Sin embargo, este estudio tiene en cuenta una población de 30 adultos mayores de 18 años, faltaría por determinar el papel de la menopausia de acuerdo a los perfiles bacterianos y la hiposalivación (23).

Dado que además se han encontrado receptores de estrógenos β en las glándulas salivales, las mujeres pueden ser más susceptibles a los cambios salivales. Sobre todo se manifiesta en lo referente a la sensación de sequedad oral, que en ocasiones puede ir acompañado de ardor bucal (SBA) (18,24).

Algunos estudios han analizado como influye la menopausia en el flujo salival, pH y función gustativa. Se ha encontrado que la tasa de flujo salival disminuye tras la menopausia, aunque no se encontraron diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo, los valores del pH han sido significativamente más bajos en mujeres postmenopáusicas. Esto puede explicar porque ciertas condiciones orales se dan con más

frecuencia en esta etapa, afectaciones como el SBA, la candidiasis oral y la estomatitis entre otros (18).

- Vitamina D

La vitamina D y su hormona activa, la 1,25 dihidroxivitamina D [1,25-(OH)₂D], tienen propiedades antimicrobianas y antiinflamatorias, que junto a su influencia en la salud ósea, pueden influir a nivel oral (25). Más recientemente, se ha demostrado que la 1,25-(OH)₂D, aumenta la transcripción de péptidos antimicrobianos que luchan contra bacterias orales patógenas (26). Estos datos sugieren que el estado de la vitamina D puede influir en las enfermedades orales, como la enfermedad periodontal. Por tanto, concentraciones altas de 1,25-(OH)₂D están asociadas con menos bacterias orales patógenas. Confiriendo protección frente a patologías orales mediante tres mecanismos; manteniendo la salud del hueso maxilar y mandibular, reduciendo la inflamación bucal y promoviendo la producción de péptidos antimicrobianos, como la catelicidina (27).

Varios estudios han estudiado la relación entre la infección y la pérdida ósea oral, de acuerdo con una disminución en los niveles de vitamina D y aparición de osteoporosis. Las infecciones por *P. gingivalis*, *T. forsythensis*, *P. intermedia* y *C. rectus* se asociaron con una mayor probabilidad de tener pérdida ósea oral. Por el contrario, las especies de control, *S. sanguis* y *Capnocytophaga spp.* fueron las únicas especies más prevalentes entre las mujeres sanas. Además, *F. nucleatum*, *E. saburreum* y *Capnocytophaga spp* no se asociaron significativamente con pérdida severa de hueso oral y *S. sanguis*, en concreto, protegió contra dicha pérdida. Al menos uno de los cinco patógenos periodontales establecidos (*P. gingivalis*, *T. forsythensis*, *F. nucleatum*, *P. intermedia* y *C. rectus*) infectó a 6 de cada 10 participantes del estudio (28). En la misma línea, hay estudios que han sido capaces de detectar *T. forsythia* y *C. rectus* en el 100% de las muestras, seguidas de *F. nucleatum*, *P. gingivalis* y *A. actinomycetemcomitans*. Esto demuestra la prevalencia de la enfermedad periodontal en este grupo de pacientes (29,30). Sin embargo, la relación entre las concentraciones plasmáticas de la 1,25-(OH)₂D y las bacterias orales patógenas no son significativas. Si bien es cierto, que se ha demostrado que las mujeres con bacterias orales patógenas tienen, en promedio, una mayor proporción de dientes que sangran y una mayor profundidad de bolsa periodontal (25).

- Cortisol

El cortisol salival es un biomarcador que se usa para examinar la respuesta al estrés humano. Hay que tener en cuenta el efecto del estrés en las mujeres menopáusicas, debido a todos los cambios psicofisiológicos que experimentan al entrar en esta nueva etapa biológica. Se ha sugerido que los microorganismos orales pueden responder directamente a la presencia de hormonas del estrés, un campo denominado “endocrinología microbiana” (2,31).

En un ensayo clínico llevado a cabo en 200 mujeres postmenopáusicas con trastornos psicósomáticos de cabeza y cuello como estomatitis aftosa, dolor facial atípico, liquen plano oral, SBA, glosopirosis y xerostomía. Reveló que, los niveles de cortisol en saliva en este grupo fueron estadísticamente significativos. Demostrando niveles más altos en mujeres postmenopáusicas con trastornos psicósomáticos, aumentando dichos niveles con la duración de la postmenopausia (32).

Un análisis funcional metatranscriptómico reciente, sobre el efecto del cortisol relacionado con el estrés sobre los microorganismos orales, identificó que los miembros del filo *Fusobacteria* se vuelven más activos en presencia de cortisol. Entre ellos, una especie previamente relacionada con la gingivitis, *Leptotrichia goodfellowii*, es sustancialmente más activa. La exposición al cortisol en el microbioma oral cambia el perfil de actividad de toda la comunidad bacteriana, incluida la sobrerrepresentación de la respuesta inmune del huésped, la proteólisis, el transporte de oligopéptidos, el metabolismo del hierro y el ensamblaje de flagelos. Estas actividades se han relacionado previamente con la disbiosis funcional y la progresión de la periodontitis (2).

5.3. IMPACTO DE LA MENOPAUSIA EN EL MICROBIOMA SUBGINGIVAL

La cavidad oral se compone de diferentes hábitats microbianos incluidos labios, dientes, surco gingival, lengua, mejillas, paladar y amígdalas (Figura 1), que son colonizadas por cientos de bacterias, virus y hongos (33). Estos organismos poseen un comportamiento muy dinámico y tienden a adaptarse a una amplia gama de entornos, dando lugar a múltiples interacciones con otras especies microbianas mientras se agregan en biopelículas sobre las superficies bucales (9,34).

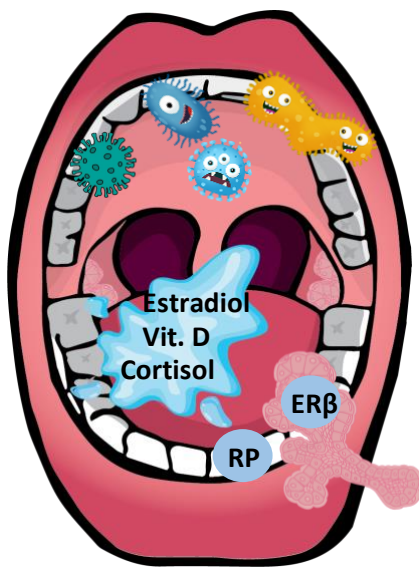


Figura 1. Diagrama de la cavidad oral en relación con los receptores de estrógeno (ER-β), progesterona (RP) y estradiol, vitamina D y cortisol presentes en saliva y la microbiota bacteriana, formando todo parte del microbioma oral humano.

- Microbioma subgingival en enfermedad periodontal

La mayoría de los estudios han analizado los microbiomas subgingivales de mujeres menopáusicas y postmenopáusicas y los han relacionado con la presencia y/o severidad de la enfermedad periodontal (EP). En los casos de EP se han identificado patógenos periodontales clásicos como, *Tannerella forsythia*, *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, *Bacteroidales* y *Fusobacterium nucleatum*, entre otros. Y, su prevalencia aumenta de acuerdo con el empeoramiento de la enfermedad periodontal (5).

Se han descrito especies recientemente identificadas como patógenos periodontales en el microbioma oral, que se han encontrado en niveles elevados en nuestro grupo de estudio como son, *Anaeroglobus geminatus*, que tiene la capacidad de perturbar la ecología microbiana subgingival y favorecer el desarrollo de periodontitis (35), *Fretibacterium fastidiosum*, la cual demostró la mayor diferencia en términos de prevalencia entre salud y enfermedad periodontal (EP) grave en mujeres mayores, *Porphyromonas endodontalis*

y filotipos no cultivados, como *Desulfobulbus sp HOT 041*. Otro hallazgo complementario importante, es que algunos de los factores de virulencia regulados positivamente en la EP provienen de organismos que tradicionalmente no han sido considerados como patógenos, además de confirmar la importancia de los patógenos clásicos (2,31,36).

Por tanto, muchos de los organismos subgingivales asociados con la enfermedad periodontal en mujeres mayores son comparables a la microbiota subgingival observada en estudios de individuos jóvenes con EP. La excepción notable es la ausencia de *A. actinomycetemcomitans*, asociada con enfermedad periodontal agresiva, la cual es una condición infrecuente en adultos mayores y por tanto esta especie bacteriana no es frecuente en nuestro grupo de estudio (5).

- Microbioma subgingival en salud

Se han estudiado los microorganismos presentes en mujeres sin o con una leve enfermedad periodontal. En este grupo, se encuentran especies como *Lautropia Mirabilis*, seguida de *Rothia Aeria* y *Leptotrichia goodfellowii*. Y, existen especies que están presentes en el microbioma subgingival de las mujeres menopáusicas, sin importar la presencia o ausencia y/o severidad de la enfermedad periodontal, y son, *Veillonela dispar*, *Veillonela párvula*, *Streptococcus oralis* y *Bifidobacterium dentium* (2). También destacan otras como, *Actinomyces naeslundii*, *Campylobacter concisus*, *Actinomyces oris* y especies de *Gemella 1754-94*, las cuales son más abundantes entre mujeres sin enfermedad periodontal (5,19,35).

Una característica relevante analizada, es la relación entre *Bifidobacterium dentium* y la supresión de *P. gingivalis*, un patógeno virulento de periodontitis, esto podría explicar porque *P. gingivalis* se encuentra en una abundancia relativamente baja en esta cohorte de mujeres mayores sin enfermedad periodontal (35).

Por otro lado, la evidencia sugiere que *V. parvula* tiene sinergia con la especie *Lachnoanaerobaculum saburreum* cuya abundancia es alta en mujeres menopáusicas, y la energía que produce, contribuye de forma crítica a la formación de la biopelícula subgingival humana (35). Hasta ahora, el género *Gemella*, no se había definido como un

género del microbioma central, forma parte de comunidades bacterianas salivales, se agota en presencia de caries y aumenta con buena higiene bucal (37,38).

Podemos concluir que, la microbiota oral de los adultos mayores es diversa, con la mayoría de los taxones pertenecientes a cuatro principales filos bacterianos, *Actinobacteria*, *Bacteroides*, *Firmicutes* y *Proteobacterias* (5). Se ha sugerido la relación *Firmicutes-Bacteroides* como un posible indicador general del estado del hábitat microbiano en el envejecimiento humano. Y, se observa una tendencia hacia mayores proporciones de *Firmicutes* en este grupo de mujeres menopáusicas (35).

5.4. MÁS ALLÁ DE LAS BACTERIAS DEL MICROBIOMA ORAL EN MENOPAUSIA

- Virus del papiloma humano (VPH)

A lo largo del climaterio tienen lugar una serie de cambios psicológicos y fisiológicos, hormonales e inmunológicos, que hacen a la mujer más susceptible a desarrollar infecciones. Algunos estudios han observado que el VPH presenta un segundo pico de detección en mujeres postmenopáusicas, siendo los tipos no oncogénicos los más frecuentes. Uno de los factores predisponentes, además de la actividad sexual, es una pobre-moderada proliferación linfocítica, aumentando el riesgo de aparición del VPH 1,7 veces (39). Lo cual podría suponer que algunas de estas nuevas infecciones fuesen realmente “latentes” reactivadas.

La mucosa oral es una de las localizaciones afectadas por este virus epiteliotrópico, puesto que sus células tienen una alta capacidad proliferativa, receptores de superficie que favorecen la adhesión inicial del virus y que, junto a sus características ambientales, dan lugar a un entorno ideal para el desarrollo del VPH. En un estudio con mujeres diagnosticadas con VPH, se detectó en un 30% en lengua y un 15% en periodonto, pudiendo suponer zonas latentes para la persistencia del virus (40).

- Hongos

Otra infección que destaca durante el climaterio, por ser la tercera en frecuencia, es la candidiasis. *Candida spp.*, es la levadura más aislada en menopausia y postmenopausia, seguida por *C. albicans* (1). El uso de antibióticos, inmunosupresión local o sistémica,

xerostomía, diabetes mellitus y tabaquismo, favorecen su crecimiento (1). En sus diferentes manifestaciones clínicas (pseudomembranosa, eritematosa, hiperplásica, queilitis angular) se ha aislado *C. albicans* en un 70-80% (41). Que a su vez se relaciona con *Streptococcus mutans*, incrementando su virulencia; y con *Peptostreptococcus micros* en infecciones endodónticas persistentes. Aunque suele ser asintomática, puede acompañarse de sensación de ardor, lo que podría llevar a confusión con el SBA.

El síndrome de la boca ardiente (SBA) se da de forma predominante en mujeres postmenopáusicas (24). Hay estudios que detectan presencia positiva de *C. albicans* en un 45,16% de los afectados. Sin embargo, no puede confirmarse que sea un factor asociado a su etiología. Aunque el compartir factores predisponentes como el uso prolongado de medicamentos y la presencia de prótesis removibles podría dar lugar a confusión.

5.5. CONEXIONES ORALES-SISTÉMICAS EN MENOPAUSIA

Los receptores de las mucosas para las hormonas ováricas se encuentran en la nasofaringe, el tracto gastrointestinal y el sistema urogenital femenino (42). Y, se ha sugerido que la composición de la microbiota oral, vaginal e intestinal puedan regularse por los niveles de estrógenos (Figura 2) (43,44).

Existe una conexión entre la colonización del tracto oral, gastrointestinal y genitourinario, y es que se han encontrado algunas cepas de *Lactobacillus* colonizando boca, vagina y recto simultáneamente. Estas cepas podrían ser capaces de pasar del intestino a la vagina, siendo la ruta más común la del peritoneo. Las especies más frecuentes identificadas en este género fueron *L. casei/paracasei*, las cuales fueron más abundantes en las muestras orales, seguidas de *L. jensenii*, *L. iners* y *L. salivarius* (20,45).

Las mujeres menopáusicas han mostrado una baja diversidad de *Lactobacillus*, debido a esto se han aislado un alto número de colonias de *Enterococos* en muestras orales, vaginales y rectales, dominando así la microflora de las bacterias del ácido láctico. Esta situación puede ser atribuida, a la disminución en la motilidad intestinal y/o a la atrofia genitourinaria que ocurre en la menopausia, la cual se asocia con una disminución en

la secreción de estrógenos conduciendo al agotamiento de *Lactobacillus*, aumento de pH y aumento de la colonización por *Enterobacterias* (45,46).

- Microbioma Gastrointestinal

Se estima que la flora gastrointestinal está compuesta por más de 1000 especies, predominantemente bacterias anaerobias y es colonizada en condiciones fisiológicas por especies de *Lactobacillus*, *Enterobacteria*, *Clostridia* y *Fusobacteria*. Estas bacterias suponen un normal funcionamiento intestinal (45). Los tipos de comunidades observados en el intestino son predictivos de la comunidad observada en la cavidad bucal y viceversa (47). La microbiota oral sirve de inóculo para el intestino y los microorganismos que encuentran las condiciones adecuadas en la boca dan lugar a distintos tipos de comunidades a nivel gastrointestinal, de este modo, la inoculación de *P. gingivalis* en modelos experimentales conduce a un cambio en la microbiota intestinal (48).

La presencia o ausencia de estrógenos puede ser capaz de alterar el equilibrio de la microbiota intestinal pudiendo dar lugar a enfermedad. Y, cuando este equilibrio se altera por falta de estrógenos es capaz de reestructurarse. Otro punto interesante respecto al microbioma intestinal y la menopausia es que se ha descubierto que este puede influir en la homeostasis ósea. Britton et al., pusieron de manifiesto que ratones ovariectomizados en tratamiento con *L.reuteri* obtuvieron una protección significativa frente a la pérdida ósea (49).

- Microbioma Vaginal

Durante la premenopausia, los niveles de glucógeno libre son significativamente más altos, por ello esta fase se correlaciona positivamente con niveles más altos de *Lactobacillus*. Los niveles altos de glucógeno libre promueven un mayor grosor del epitelio escamoso estratificado y de la capa protectora de moco de la vagina. Mientras que las mujeres postmenopáusicas tienen niveles más bajos de *Lactobacillus* por la disminución del glucógeno libre. Además, en mujeres con atrofia vaginal, se observa ausencia de flora bacteriana (20,50).

Las mujeres con signos y síntomas más severos de sequedad vaginal, dispareunia (coito doloroso) y dolor vaginal tienden a tener una mayor diversidad de microbiota vaginal que no está compuesta predominantemente por *Lactobacillus*. Cuando aumenta la diversidad

bacteriana, las especies detectadas incluyen *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Peptoniphilus* y *Bacillus* (20). La especie *Prevotella* es constituyente del tracto genital femenino y la cavidad bucal, contribuyendo a infecciones polimicrobianas como vaginosis bacteriana y periodontitis (42).

Se han descrito cinco estados comunitarios de microbiota vaginal en mujeres menopáusicas. Cuatro de estos estados comunitarios están dominados por especies de *Lactobacillus*, compuesta predominantemente por *L. crispatus*, *L. gasseri*, *L. iners* y *L. jenseii*. La otra comunidad se define como el estado de diversidad dominado por bacterias anaerobias, incluidas *Prevotella*, *Dialister*, *Atopobium*, *Gardnerella* y *Megasphaera* (42).

Se ha demostrado que el epitelio oral y vaginal son microscópicamente similares en cuanto a la ultraestructura y la distribución de sus filamentos de queratina. Al igual que en lo referente a su permeabilidad al agua y a una serie de sustancias químicas. No se han encontrado diferencias estadísticamente significativas entre el número de capas de células epiteliales de ambas mucosas. Los patrones de queratinización y la distribución de las laminillas lipídicas en los espacios intercelulares son similares. La composición lipídica de los epitelios fue igual excepto en los esteres del colesterol y las glicosilceramidas que, son mayores en el epitelio bucal. La falta de estimulación hormonal en la mujer postmenopáusica se refleja en el epitelio vaginal, y dada sus similitudes microscópicas podría afectar de igual manera al epitelio bucal (37).

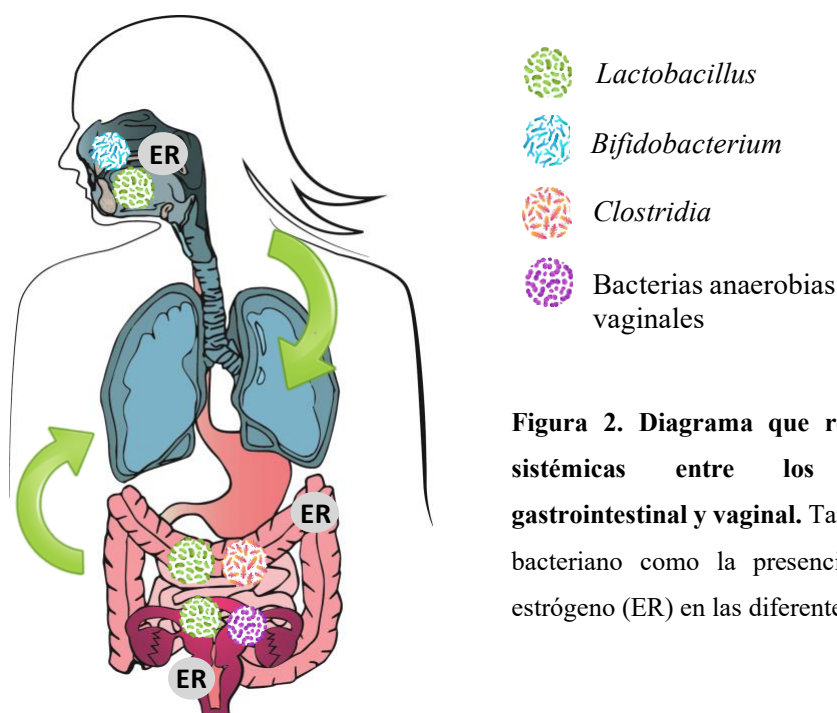


Figura 2. Diagrama que relaciona las conexiones sistémicas entre los microbiomas oral, gastrointestinal y vaginal. Tanto a nivel de microbioma bacteriano como la presencia de los receptores de estrógeno (ER) en las diferentes mucosas.

6. DISCUSIÓN

El microbioma oral cambia durante la menopausia y va acompañado de ciertas manifestaciones clínicas. Una de las características más relevantes es la disminución de los niveles de hormonas sexuales femeninas; estrógeno, progesterona y estradiol. Que dan lugar a cambios microbiológicos (actúan como metabolitos), histológicos (modulan la maduración epitelial) y clínicos que ocurren durante y tras la menopausia (7,10,14).

Se ha demostrado que la mucosa oral, la encía, los tejidos periodontales y las glándulas salivales responden a esta disminución hormonal, ya que estos tejidos contienen receptores de estrógenos (ER- β), receptores de progesterona (PR) en glándulas salivales y mucosa oral y receptores de estradiol en encía. Aunque la localización exacta de los RP y los receptores de estradiol no ha sido tan ampliamente estudiada como la de los ER (16,18,24).

Por tanto, el epitelio oral en las mujeres menopaúsicas puede tener un aspecto delgado, atrófico, seco y propenso a cambios inflamatorios (7). Los estudios publicados hasta el momento, muestran que los valores de pH salival son significativamente más bajos en mujeres postmenopáusicas. También reflejan la disminución en la tasa de flujo salival en este grupo pero sin ser esta, estadísticamente significativa hasta la fecha (15). La actividad secretora salival es dependiente de hormonas, y es lógico pensar que, al disminuir dichos niveles, la saliva también lo haga en mayor o menor medida. Además, la sequedad oral persistente, es el caballo de batalla de muchas mujeres en esta etapa y la predispone a otras afectaciones orales que alteran su calidad de vida.

La saliva contiene otro parámetro que afecta al microbioma oral, el cortisol, un biomarcador del estrés humano (2). Cuyos niveles aumentan en mujeres postmenopáusicas con trastornos orales, en las que el estrés domina muchas facetas de su vida. Al mismo tiempo hace que ciertas especies como *Leptotrichia goodfellowii*, relacionada con la gingivitis, se vuelva más activa en su presencia, alterando así la ecología del microbioma oral (32). De esta forma, se relaciona con la disbiosis y la progresión de ciertas enfermedades orales como la enfermedad periodontal. Por tanto, el estrés debe ser tenido en cuenta como un factor de desequilibrio no solo emocional sino también microbiológico, que requiere un manejo multidisciplinar.

Los microorganismos orales son capaces de metabolizar hormonas esteroideas, lo que puede afectar a la virulencia de ciertas especies como *T. denticola*, *P.intermedia* y *P.nigrecens*. Mientras que, en otros casos, hormonas como la progesterona tiene efecto bacteriostático o bactericida frente a especies de *Neisseria* y *Staphylococcus sp.* Esto quiere decir, que para determinadas especies los niveles de hormonas suponen un aliciente o un bloqueo de su actividad oral patógena (9,19).

Un factor protector frente a las bacterias orales patógenas que aparece en el microbioma oral es la vitamina D y su hormona activa, la 1,25-(OH)₂D. Aunque los estudios demuestran que la asociación entre ambas no es estadísticamente significativa. La capacidad protectora de esta sobre el microbioma oral si esta probada en relación a las medidas agudas de enfermedad periodontal en mujeres postmenopáusicas, como el sangrado gingival (25). De esta forma, las mujeres postmenopáusicas con osteoporosis, la cual es muy frecuente en este grupo de edad, perderían o verían reducida esa propiedad protectora que confiere la vitamina D y a su vez podrían verse afectadas por una mayor profundidad de bolsa periodontal, dientes sangrantes e inflamación oral promoviendo la patogenicidad de ciertas bacterias orales (26). En definitiva, podrían verse afectadas las medidas agudas, haciendo más propenso a este grupo de mujeres a la enfermedad periodontal y por tanto a un cambio en el microbioma oral, aunque se necesitan más estudios para establecer causalidad en este campo.

Muchos de los microorganismos subgingivales asociados con enfermedad periodontal en mujeres menopáusicas son comparables a la microbiota subgingival de mujeres jóvenes con la misma enfermedad, por lo cual los patógenos periodontales en este sentido no nos ofrecen información diferencial respecto a nuestro grupo de estudio (33,34). Sin embargo, sí se han aislado nuevas especies bacterianas patógenas en niveles elevados en mujeres menopáusicas que hasta ahora no se habían observado como *Anaeroglobus geminatus*, *Fretibacterium fastidiosum*, *Porphyromonas endodontalis* y filotipos no cultivados, como *Desulfobulbus sp HOT 041* (5,35,36).

En el microbioma subgingival asociado a salud, también se han aislado especies más frecuentes en nuestro grupo de estudio como *Lautropia Mirabilis*, seguida de *Rothia Aeria*, *Leptotrichia goodfellowii*, *Veillonela dispar*, *Veillonela párvula*, *Streptococcus*

oralis, *Bifidobacterium dentium*, *Actinomyces naeslundii*, *Campylobacter concisus*, *Actinomyces oris* y especies de *Gemella* 1754-94. (2,35). Muchas de estas especies tienen un papel definido en el microbioma, como *Bifidobacterium dentium*, asociada con la supresión de *P. gingivalis*, que se encuentra disminuida en esta cohorte de mujeres sin enfermedad periodontal. Otras especies como *V. parvula*, se asocia con *Lachnoanaerobaculum saburreum* y la energía obtenida, contribuye a la formación de la biopelícula subgingival. Y especies del género *Gemella*, las cuales forman parte de comunidades bacterianas salivales y se agotan en presencia de caries. Estas especies bacterianas asociadas a enfermedad y a salud, si abren la puerta a nuevas investigaciones hacia bacterias orales específicas en menopausia (19,35).

Respecto a otros habitantes del microbioma oral, la lengua y el periodonto son algunas de las localizaciones preferentes del virus del papiloma humano (VPH) a nivel oral. Además de la actividad sexual, la pobre o moderada proliferación linfocítica aumenta el riesgo de aparición del VPH, esto podría afectar a las mujeres menopáusicas en parte debido al envejecimiento. El papel de la menopausia en relación con el VPH necesita más investigación al respecto (39,40).

Otro habitante del microbioma oral muy frecuentemente aislado en menopausia y postmenopausia, son los hongos, en concreto *Candida spp*, seguido de *C. albicans*. La candidiasis oral se puede acompañar de ardor bucal, síntoma que comparte con el SBA, según algunos estudios, las pacientes que padecen SBA tiene un alto porcentaje de muestras positivas a *C. albicans*. Esto supone que las mujeres postmenopáusicas sobretodo, ya que en esta fase se establece la sintomatología intensa, padezcan con más frecuencia ambas enfermedades orales. Pero se necesitan más estudios para confirmar o descartar, si el SBA pudiera ser un factor etiológico para la candidiasis oral en mujeres postmenopáusicas (1,41).

El microbioma oral, vaginal e intestinal contienen receptores de estrógenos y por tanto parte de su regulación depende de dichos niveles (44). A nivel microbiológico existe una conexión entre los tres microbiomas, y son las cepas de *Lactobacillus* que existen colonizando boca, vagina y recto simultáneamente (48). Pero no son las únicas, el microbioma intestinal esta formado por otras especies de *Enterobacteria*, *Clostridia* y *Fusobacteria* (48,46). A nivel vaginal, las mujeres con signos más severos de sequedad,

aumentan su diversidad microbiana pero no es el *Lactobacillus* la especie predominante, sino otras anaerobias como *Prevotella*, *Porphyromonas*, ambas aisladas también en la cavidad oral, *Peptoniphilus* y *Bacillus* (20). Por último se ha demostrado que el epitelio oral y vaginal son microscópicamente similares, lo que constituye un hallazgo muy relevante, ya que durante y tras la menopausia el epitelio vaginal sufre múltiples cambios lo que podría ser extrapolable al epitelio oral (42) . Incluso en lo referente a ciertas terapias usadas en esta fase como la de reemplazo hormonal (TRH). Además se ha propuesto utilizar muestras de epitelio vaginal como sustituto del epitelio bucal en ciertos estudios *in vivo* e *in vitro* (37,50).

7. CONCLUSIONES

Esta revisión bibliográfica se centra en el análisis de todos los factores que influyen en la relación entre el microbioma oral y la menopausia. La disminución en los niveles de hormonas esteroideas, es clave y supone un cambio drástico en la microbiota oral residente y de ahí se derivan muchos signos y síntomas orales, así como sistémicos que acontecen en esta etapa de la vida de la mujer.

Todas las mujeres llegaremos a este punto de inflexión en nuestra biología, algunas pasarán de puntillas, pero otras sufrirán cambios, que afectarán en menor o mayor medida a su calidad de vida. Para comprender lo que ocurre en esta etapa es imprescindible la investigación, y así, poder establecer relaciones causales claras. A partir de las cuales se podrán definir terapias efectivas. Por tanto, son necesarios estudios longitudinales prospectivos, destacando la importancia del análisis metagenómico y metatranscriptómico, ya que aún quedan muchas bacterias orales que no se han cultivado. De esta forma podremos comparar los microbiomas de población mayor y joven de mujeres para determinar el papel de la menopausia, descartando el envejecimiento, ya que la edad por si sola no determina el microbioma oral humano.

8. BIBLIOGRAFÍA

1. Guevara-Cervantes JF. Micosis superficiales en el climaterio. Estudio en pacientes pre- menopáusicas, menopáusicas y posmenopáusicas. 2015;7.
2. Teles F, Wang Y, Hajishengallis G, Hasturk H, Marchesan JT. Impact of systemic factors in shaping the periodontal microbiome. *Periodontol 2000*. febrero de 2021;85(1):126-60.
3. The Human Microbiome Project Consortium. Structure, function and diversity of the healthy human microbiome. *Nature*. junio de 2012;486(7402):207-14.
4. Yamashita Y, Takeshita T. The oral microbiome and human health. *J Oral Sci*. 2017;59(2):201-6.
5. Genco RJ, LaMonte MJ, McSkimming DI, Buck MJ, Li L, Hovey KM, et al. The Subgingival Microbiome Relationship to Periodontal Disease in Older Women. *J Dent Res*. agosto de 2019;98(9):975-84.
6. Mascarenhas P, Gapski R, Al-Shammari K, Wang H-L. Influence of sex hormones on the periodontium: Sex hormones and periodontium. *J Clin Periodontol*. agosto de 2003;30(8):671-81.
7. Sawczuk B, Gołębiewska M, Mazurek A, Chyczewski L. Evaluation of estrogen receptor- β expression in the epithelium of the oral mucosa in menopausal women under hormone replacement therapy. *Adv Med Sci*. marzo de 2014;59(1):85-9.
8. Frutos R, Rodr'guez S, Miralles L, Machuca G. Manifestaciones orales y manejo odontológico durante la menopausia. *Med ORAL*. 2002;7:10.
9. Meurman JH, Tarkkila L, Tiitinen A. The menopause and oral health. *Maturitas*. mayo de 2009;63(1):56-62.
10. Vieira AT, Castelo PM, Ribeiro DA, Ferreira CM. Influence of Oral and Gut Microbiota in the Health of Menopausal Women. *Front Microbiol*. 28 de septiembre de 2017;8:1884.
11. Marcuschamer E. A lifetime of normal hormonal events and their impact on periodontal Health. *Perinatol Reprod Hum*. :12.
12. Lemmen JG, Broekhof JLM, Kuiper GGJM, Gustafsson J-Å, van der Saag PT, van der Burg B. Expression of estrogen receptor alpha and beta during mouse embryogenesis. *Mech Dev*. marzo de 1999;81(1-2):163-7.
13. Campbell-Thompson M, Lynch IJ, Bhardwaj B. Expression of Estrogen Receptor (ER) Subtypes and ER α Isoforms in Colon Cancer. :10.

14. Arias-Herrera S, Bascones-Ilundian C, Bascones-Martínez A. Difference in the expression of inflammatory mediators in gingival crevicular fluid in postmenopausal patients with chronic periodontitis with and without menopausal hormone therapy. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol* X. julio de 2019;3:100021.
15. Leimola-Virtanen R, Salo T, Toikkanen S, Pulkkinen J, Syrjänen S. Expression of estrogen receptor (ER) in oral mucosa and salivary glands. *Maturitas*. agosto de 2000;36(2):131-7.
16. Välimaa H, Savolainen S, Soukka T, Silvoniemi P, Mäkelä S, Kujari H, et al. Estrogen receptor- is the predominant estrogen receptor subtype in human oral epithelium and salivary glands. *J Endocrinol*. 2004;8.
17. Vittek J, Hernandez MR, Wenk EJ, Rappaport SC, Southren AL. Specific Estrogen Receptors in Human Gingiva*. *J Clin Endocrinol Metab*. marzo de 1982;54(3):608-12.
18. Saluja P. Comparative Evaluation of the Effect of Menstruation, Pregnancy and Menopause on Salivary Flow Rate, pH and Gustatory Function. *J Clin Diagn Res*
19. Tarkkila L, Kari K, Furuholm J, Tiitinen A, Meurman JH. Periodontal disease-associated micro-organisms in peri-menopausal and post-menopausal women using or not using hormone replacement therapy. A two-year follow-up study. *BMC Oral Health*. diciembre de 2010;10(1):10.
20. Muhleisen AL, Herbst-Kralovetz MM. Menopause and the vaginal microbiome. *Maturitas*. septiembre de 2016;91:42-50.
21. Leimola-Virtanen R, Helenius H, Laine M. Hormone replacement therapy and some salivary antimicrobial factors in post- and perimenopausal women. *Maturitas*. junio de 1997;27(2):145-51.
22. Leimola-Virtanen R, Pennanen R, Syrjänen K, Syrjänen S. Estrogen response in buccal mucosa — a cytological and immunohistological assay. *Maturitas*. mayo de 1997;27(1):41-5.
23. Belstrøm D, Paster BJ, Fiehn N-E, Bardow A, Holmstrup P. Salivary bacterial fingerprints of established oral disease revealed by the Human Oral Microbe Identification using Next Generation Sequencing (HOMI NGS) technique. *J Oral Microbiol*. enero de 2016;8(1):30170.
24. Cavalcanti DR, Birman EG, Migliari DA, Silveira FRX da. Burning mouth syndrome: clinical profile of Brazilian patients and oral carriage of candida species. *Braz Dent J*. 2007;18(4):341-5.

25. Sahli MW, Wactawski-Wende J, Ram PK, LaMonte MJ, Hovey KM, Genco RJ, et al. Association of Plasma 25-Hydroxyvitamin D Concentrations and Pathogenic Oral Bacteria in Postmenopausal Females. *J Periodontol.* julio de 2014;85(7):944-55.
26. Millen AE, Hovey KM, LaMonte MJ, Swanson M, Andrews CA, Kluczynski MA, et al. Plasma 25-Hydroxyvitamin D Concentrations and Periodontal Disease in Postmenopausal Women. *J Periodontol.* septiembre de 2013;84(9):1243-56.
27. Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr.* 1 de junio de 2006;84(1):18-28.
28. Brennan RM, Genco RJ, Wilding GE, Hovey KM, Trevisan M, Wactawski-Wende J. Bacterial Species in Subgingival Plaque and Oral Bone Loss in Postmenopausal Women. *J Periodontol.* junio de 2007;78(6):1051-61.
29. Hernández-Vigueras S, Martínez-Garriga B, Sánchez MC, Sanz M, Estrugo-Devesa A, Vinuesa T, et al. Oral Microbiota, Periodontal Status, and Osteoporosis in Postmenopausal Females. *J Periodontol.* febrero de 2016;87(2):124-33.
30. Pavlesen S, Mai X, Wactawski-Wende J, LaMonte MJ, Hovey KM, Genco RJ, et al. Vitamin D Status and Tooth Loss in Postmenopausal Females: The Buffalo Osteoporosis and Periodontal Disease (OsteoPerio) Study. *J Periodontol.* Agosto de 2016;87(8):852-63.
31. Duran-Pinedo AE, Chen T, Teles R, Starr JR, Wang X, Krishnan K, et al. Community-wide transcriptome of the oral microbiome in subjects with and without periodontitis. *ISME J.* agosto de 2014;8(8):1659-72.
32. Kumuda R, Suchetha K, G SB, A US, Harshini U. Estimation of salivary cortisol level in post-menopausal women with psychosomatic disorders. *Afr Health Sci [Internet].* 22 de junio de 2018 [citado 9 de mayo de 2021];18(2).
33. Yost S, Duran-Pinedo AE, Teles R, Krishnan K, Frias-Lopez J. Functional signatures of oral dysbiosis during periodontitis progression revealed by microbial metatranscriptome analysis. *Genome Med.* diciembre de 2015;7(1):27.
34. Banack HR, Genco RJ, LaMonte MJ, Millen AE, Buck MJ, Sun Y, et al. Cohort profile: the Buffalo OsteoPerio microbiome prospective cohort study. *BMJ Open.* diciembre de 2018;8(12):e024263.
35. LaMonte MJ, Genco RJ, Buck MJ, McSkimming DI, Li L, Hovey KM, et al. Composition and diversity of the subgingival microbiome and its relationship with

- age in postmenopausal women: an epidemiologic investigation. *BMC Oral Health*. diciembre de 2019;19(1):246.
36. Vogtmann E, Hua X, Zhou L, Wan Y, Suman S, Zhu B, et al. Temporal Variability of Oral Microbiota over 10 Months and the Implications for Future Epidemiologic Studies. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. mayo de 2018;27(5):594-600.
 37. Anukam K, Agbakoba N. A comparative study of the oral microbiome compositions of healthy postmenopausal, premenopausal, and prepubertal Nigerian females, using 16s rRNA metagenomics methods. *Niger J Clin Pract*. 2017;20(10):1250.
 38. Zaura E, Keijsers BJ, Huse SM, Crielaard W. Defining the healthy «core microbiome» of oral microbial communities. *BMC Microbiol*. 2009;9(1):259.
 39. González P, Hildesheim A, Rodríguez AC, Schiffman M, Porras C, Wacholder S, et al. Behavioral/Lifestyle and Immunologic Factors Associated with HPV Infection among Women Older Than 45 Years. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev*. diciembre de 2010;19(12):3044-54.
 40. Fuster-Rossello L, Ribotta E, Cuffini C, Fuster-Juan M. HUMAN PAPILLOMA VIRUS IN ORAL MUCOSA AND ITS ASSOCIATION WITH PERIODONTAL STATUS OF GYNECOLOGICALLY INFECTED WOMEN. *Acta Odontol Latinoam*. 2014;27:7.
 41. Baumgardner DJ. Oral Fungal Microbiota: To Thrush and Beyond. *J Patient-Centered Res Rev*. 28 de octubre de 2019;6(4):252-61.
 42. Kumar PS. Sex and the subgingival microbiome: Do female sex steroids affect periodontal bacteria?: *Sex steroids and subgingival bacteria*. *Periodontol* 2000. febrero de 2013;61(1):103-24.
 43. Brotman RM, Shardell MD, Gajer P, Fadrosch D, Chang K, Silver MI, et al. Association between the vaginal microbiota, menopause status, and signs of vulvovaginal atrophy. *Menopause*. mayo de 2014;21(5):450-8.
 44. Tierney BT, Yang Z, Luber JM, Beaudin M, Wibowo MC, Baek C, et al. The Landscape of Genetic Content in the Gut and Oral Human Microbiome. *Cell Host Microbe*. agosto de 2019;26(2):283-295.e8.
 45. Petricevic L, Domig KJ, Nierscher FJ, Krondorfer I, Janitschek C, Kneifel W, et al. Characterisation of the oral, vaginal and rectal *Lactobacillus* flora in healthy pregnant and postmenopausal women. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol*. enero de 2012;160(1):93-9.

46. Gao L, Xu T, Huang G, Jiang S, Gu Y, Chen F. Oral microbiomes: more and more importance in oral cavity and whole body. *Protein Cell*. mayo de 2018;9(5):488-500.
47. Ding T, Schloss PD. Dynamics and associations of microbial community types across the human body. *Nature*. mayo de 2014;509(7500):357-60.
48. Graves DT, Corrêa JD, Silva TA. The Oral Microbiota Is Modified by Systemic Diseases. *J Dent Res*. febrero de 2019;98(2):148-56.
49. Britton RA, Irwin R, Quach D, Schaefer L, Zhang J, Lee T, et al. Probiotic *L. reuteri* Treatment Prevents Bone Loss in a Menopausal Ovariectomized Mouse Model: PROBIOTICS SUPPRESS ESTROGEN DEFICIENCY-INDUCED BONE LOSS. *J Cell Physiol*. noviembre de 2014;229(11):1822-30.
50. Mirmonsef P, Hotton AL, Gilbert D, Burgad D, Landay A, Weber KM, et al. Free Glycogen in Vaginal Fluids Is Associated with Lactobacillus Colonization and Low Vaginal pH. *Fredricks DN, editor. PLoS ONE*. 17 de julio de 2014;9(7):e102467.