



TESIS DE DOCTORADO

**ENFERMEDAD PERIODONTAL  
COMO FACTOR DE RIESGO PARA  
EL NACIMIENTO DE NIÑOS  
PREMATUROS Y/O DE BAJO PESO  
AL NACIMIENTO**

Leticia Caneiro Queija

ESCUELA DE DOCTORADO INTERNACIONAL DE LA UNIVERSIDAD  
DE SANTIAGO DE COMPOSTELA

PROGRAMA DE DOCTORADO EN CIENCIAS ODONTOLÓGICAS

SANTIAGO DE COMPOSTELA

2021





## **DECLARACIÓN DEL AUTOR DE LA TESIS**

### **Enfermedad periodontal como factor de riesgo para el nacimiento de niños prematuros y/o bajo peso al nacimiento**

Dña Leticia Caneiro Queija

Presento mi tesis, siguiendo el procedimiento adecuado al Reglamento, y declaro que:

- 1) La tesis abarca los resultados de la elaboración de mi trabajo.
- 2) En su caso, en la tesis se hace referencia a las colaboraciones que tuvo este trabajo.
- 3) La tesis es la versión definitiva presentada para su defensa y coincide con la versión enviada en formato electrónico.
- 4) Confirmando que la tesis no incurre en ningún tipo de plagio de otros autores ni de trabajos presentados por mí para la obtención de otros títulos.

En Santiago de Compostela, a 18 de Enero de 2021

Fdo. Leticia Caneiro Queija





## AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR / TUTOR DE LA TESIS

### **Enfermedad periodontal como factor de riesgo para el nacimiento de niños prematuros y/o bajo peso al nacimiento**

D. Juan Blanco Carrión

En condición de: Director de la tesis

Título de la tesis: Enfermedad periodontal como factor de riesgo para el nacimiento de niños prematuros y/o bajo peso al nacimiento.

INFORMA:

*Que la presente tesis, corresponde con el trabajo realizado por D/Dña. Leticia Caneiro Queija, bajo mi dirección, y autorizo su presentación, considerando que reúne los requisitos exigidos en el Reglamento de Estudios de Doctorado de la USC, y que como director de ésta no incurre en las causas de abstención establecidas en Ley 40/2015.*

*En Santiago de Compostela, a 18 de Enero de 2021*

Fdo. Juan Blanco Carrión





## **DECLARACIÓN DE CONFLICTO DE INTERESES**

Dña Leticia Caneiro Queija declara no tener ningún conflicto de intereses en relación con la Tesis Doctoral titulada:

**Enfermedad periodontal como factor de riesgo para el nacimiento de niños prematuros y/o bajo peso al nacimiento**

*En Santiago de Compostela, a 18 de Enero de 2021*

Fdo. Leticia Caneiro Queija



*A Maricarmen, Daniel,  
Berenice y  
Pedro*





“Hay una fuerza motriz más poderosa que el vapor,  
la electricidad y la energía atómica:  
la voluntad “

*Albert Einstein*

“Si he logrado ver más lejos,  
ha sido porque me he subido  
a hombros de gigantes”

*Isaac Newton*





## AGRADECIMIENTOS

Quisiera expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que han compartido su tiempo y sus conocimientos para hacer posible la realización de esta tesis doctoral,

Al Prof. Juan Blanco, por la confianza que depositó en mi, por su paciencia, por su disponibilidad, por ser un referente, por dejarme seguir aprendiendo a su lado todos los días.

Al Dr. Jose Manuel López Carral, por enseñarme todo lo que sé de obstetricia y por todas las tardes que pasamos en el Hospital para que este trabajo viese la luz.

Al Dr. Pablo Martín Lancharro, por tu dedicación desinteresada y tu paciencia conmigo y con la estadística.

Al Prof. Pedro Diz y al Prof. Jacobo Limeres, no solo por su aportación al trabajo, sino por estar siempre dispuestos ayudarme.

A la Dra. María Veiga, por todas las tardes en el Hospital siempre con una sonrisa.

A todos los profesores del Máster de Periodoncia de la USC, a los cuales debo mi formación.

A mis compañeras Olalla, Cristina y Lourdes, por compartir conmigo los mejores y peores momentos durante todos esos años en los que parecía que no salíamos de la Facultad, a pesar de no dormir allí.

A Alex Pico por su amistad y su apoyo en este camino que empezamos juntos hace ya algunos años.

A Fátima Vieites, por todo lo que me has apoyado en lo personal y en lo profesional, porque el máster no hubiese sido lo mismo sin ti.

Al Dr. Santiago Arias, porque desde la distancia has estado presente apoyándome siempre.

A todas las pacientes que han participado de forma desinteresada en este trabajo, gracias por la paciencia y la confianza.



## RESUMEN

El objetivo de esta tesis fue investigar la potencial relación entre el tratamiento no quirúrgico de la periodontitis en el embarazo, así como el parto prematuro o el bajo peso al nacimiento en un grupo homogéneo de mujeres caucásicas.

Para ello se diseñó un estudio clínico controlado y aleatorizado. El grupo test correspondió a pacientes que recibieron tratamiento periodontal no quirúrgico y el grupo control a pacientes que no recibieron tratamiento periodontal. Cuarenta pacientes con periodontitis estadio II, grado B cumplieron con todas las visitas. Se observó una reducción de los parámetros clínicos y microbiológicos después del tratamiento en el grupo test. No se observaron diferencias en el resto de las variables, incluyendo parto prematuro, bajo peso al nacimiento.

Con ello podemos concluir que el tratamiento periodontal no quirúrgico no reduce el riesgo de parto prematuro/bajo peso al nacimiento en una población caucásica.

**PALABRAS CLAVE:** periodontitis, parto prematuro, bajo peso al nacimiento, embarazo



## RESUMO

O obxectivo desta tese foi investigar a potencial relación entre o tratamento non cirúrxico da periodontitis no embarazo, así como o parto prematuro ou o baixo peso ao nacemento nun grupo homoxéneo de mulleres caucásicas.

Para iso deseñouse un estudo clínico controlado e aleatorizado. O grupo test correspondeu a pacientes que recibiron tratamento periodontal non cirúrxico e o grupo control a pacientes que non recibiron tratamento periodontal. Corenta pacientes con periodontitis estadio II, grao B cumpriron con todas as visitas. Observouse unha redución dos parámetros clínicos e microbiolóxicos despois do tratamento no grupo test. Non se observaron diferenzas no resto das variables, incluíndo parto prematuro, baixo peso ao nacemento.

Con iso podemos concluír que o tratamento periodontal non cirúrxico non reduce o risco de parto prematuro/baixo peso ao nacemento nunha poboación caucásica.

**PALABRAS CHAVE:** periodontite, parto prematuro, baixo peso o nacemento, embarazo



## **ABSTRACT**

The aim of the current thesis was to investigate the potential link between non-surgical treatment of periodontal disease in pregnancy, and preterm birth and/or low birth weight delivery in a homogeneous group of Caucasian women.

For this, a randomized clinical trial was designed. The test group corresponds to patients with non-surgical periodontal treatment and control group to patients without periodontal treatment. Forty patients with periodontitis stage II grade B complied all the visits. A statistically significant reduction was verified in all clinical and microbiological parameters after treatment in test group. No significant differences were observed for the rest of variables, including preterm birth and/or low birth weight. With this, we can conclude that intrapregnancy non-surgical periodontal treatment did not reduce the risk of preterm birth and/or low birth weight in a Caucasian population.

**KEY WORDS:** periodontitis, preterm birth, low birth weight, pregnancy



# ÍNDICE

|          |                                                                                                             |    |
|----------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1        | INTRODUCCIÓN .....                                                                                          | 33 |
| 1.1      | FISIOLOGÍA DEL EMBARAZO .....                                                                               | 33 |
| 1.2      | MECANISMOS PATOGENICOS DE LOS RESULTADOS ADVERSOS<br>DEL EMBARAZO .....                                     | 35 |
| 1.2.1    | La activación prematura del eje hipotalámico-pituitario-<br>adrenal relacionado con el estrés.....          | 35 |
| 1.2.2    | Respuesta inflamatoria/infecciosa exagerada y/o una<br>alteración de la microbiota del tracto genital ..... | 36 |
| 1.2.3    | Hemorragia decidual .....                                                                                   | 37 |
| 1.2.4    | Distensión patológica del útero .....                                                                       | 37 |
| 1.2.5    | Cambios patológicos cervicales .....                                                                        | 38 |
| 1.3      | PARTO PREMATURO Y/O BAJO PESO .....                                                                         | 38 |
| 1.3.1    | Definición de parto prematuro .....                                                                         | 38 |
| 1.3.2    | Definición de bajo peso.....                                                                                | 39 |
| 1.3.3    | Epidemiología .....                                                                                         | 39 |
| 1.3.4    | Factores de riesgo.....                                                                                     | 39 |
| 1.3.4.1  | Historia reproductiva .....                                                                                 | 40 |
| 1.3.4.2  | Factores genéticos .....                                                                                    | 40 |
| 1.3.4.3  | Raza .....                                                                                                  | 41 |
| 1.3.4.4  | Edad .....                                                                                                  | 41 |
| 1.3.4.5  | Cirugía cervical.....                                                                                       | 42 |
| 1.3.4.6  | Malformaciones uterinas.....                                                                                | 42 |
| 1.3.4.7  | Reproducción asistida.....                                                                                  | 42 |
| 1.3.4.8  | Gestación múltiple .....                                                                                    | 43 |
| 1.3.4.9  | Hemorragia vaginal.....                                                                                     | 43 |
| 1.3.4.10 | Longitud cervical .....                                                                                     | 43 |
| 1.3.4.11 | Dilatación cervical .....                                                                                   | 44 |
| 1.3.4.12 | Estrés.....                                                                                                 | 44 |
| 1.3.4.13 | Infección .....                                                                                             | 44 |
| 1.3.4.14 | Hábito tabáquico .....                                                                                      | 44 |

|         |                                                                                                        |    |
|---------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 1.4     | PERIODONTITIS .....                                                                                    | 45 |
| 1.4.1   | Definición.....                                                                                        | 45 |
| 1.4.2   | Epidemiología .....                                                                                    | 46 |
| 1.4.3   | Etiopatogenia.....                                                                                     | 47 |
| 1.4.4   | Tratamiento periodontal no quirúrgico.....                                                             | 50 |
| 1.5     | ENFERMEDAD PERIODONTAL Y SU ASOCIACIÓN CON EL PARTO<br>PREMATURO/BAJO PESO AL NACIMIENTO. ....         | 51 |
| 1.5.1   | Potenciales mecanismos biológicos .....                                                                | 51 |
| 1.5.1.1 | Patógenos periodontales.....                                                                           | 54 |
| 1.5.1.2 | Citoquinas proinflamatorias .....                                                                      | 55 |
| 1.5.1.3 | Proteína C-reactiva.....                                                                               | 56 |
| 1.5.1.4 | Inmunoglobulinas.....                                                                                  | 57 |
| 1.5.2   | Evidencia de estudios en humanos entre la periodontitis<br>y los resultados adversos del embarazo..... | 58 |
| 1.5.3   | Evidencia de los efectos del tratamiento periodontal en<br>los resultados adversos del embarazo.....   | 64 |
| 2       | JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS .....                                                                        | 71 |
| 2.1     | JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS .....                                                                        | 71 |
| 2.1.1   | Justificación.....                                                                                     | 71 |
| 2.1.2   | Hipótesis.....                                                                                         | 73 |
| 2.1.2.1 | Hipótesis nula.....                                                                                    | 73 |
| 2.1.2.2 | Hipótesis alternativa.....                                                                             | 73 |
| 2.2     | OBJETIVOS .....                                                                                        | 73 |
| 2.2.1   | Objetivo principal.....                                                                                | 73 |
| 2.2.2   | Objetivos secundarios.....                                                                             | 73 |
| 3       | MATERIAL Y MÉTODOS .....                                                                               | 77 |
| 3.1     | PACIENTES .....                                                                                        | 77 |
| 3.1.1   | Población de estudio.....                                                                              | 77 |
| 3.1.2   | Aleatorización .....                                                                                   | 78 |
| 3.2     | TIPO DE ESTUDIO .....                                                                                  | 79 |
| 3.3     | CONSENTIMIENTO INFORMADO .....                                                                         | 79 |

|         |                                                |    |
|---------|------------------------------------------------|----|
| 3.4     | DISEÑO DEL ESTUDIO .....                       | 79 |
| 3.4.1   | Calibración del examinador .....               | 79 |
| 3.4.2   | Secuencia del estudio .....                    | 80 |
| 3.4.2.1 | Visita de selección .....                      | 80 |
| 3.4.2.2 | Visita 1 <sup>er</sup> trimestre.....          | 80 |
| 3.4.2.3 | Visita 2 <sup>o</sup> trimestre .....          | 81 |
| 3.4.2.4 | Visita 3 <sup>er</sup> trimestre.....          | 81 |
| 3.5     | VARIABLES DE ESTUDIO .....                     | 82 |
| 3.5.1   | Variable principal.....                        | 82 |
| 3.5.2   | Variables demográficas y socioeconómicas.....  | 82 |
| 3.5.3   | Variables obstétricas .....                    | 82 |
| 3.5.4   | Variables clínicas periodontales.....          | 83 |
| 3.5.4.1 | Índice de placa .....                          | 83 |
| 3.5.4.2 | Índice de sangrado al sondaje .....            | 83 |
| 3.5.4.3 | Profundidad de sondaje.....                    | 83 |
| 3.5.4.4 | Recesión.....                                  | 84 |
| 3.5.4.5 | Nivel de inserción clínica.....                | 84 |
| 3.5.4.6 | Definición de periodontitis .....              | 84 |
| 3.5.5   | Variables bioquímicas.....                     | 84 |
| 3.5.6   | Variables microbiológicas.....                 | 85 |
| 3.6     | TRATAMIENTO PERIODONTAL .....                  | 86 |
| 3.7     | ANÁLISIS ESTADÍSTICO.....                      | 87 |
| 3.7.1   | Cálculo de tamaño muestral .....               | 87 |
| 3.7.2   | Análisis de los datos.....                     | 87 |
| 4       | RESULTADOS .....                               | 91 |
| 4.1     | DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA .....                | 91 |
| 4.2     | VARIABLES DEMOGRÁFICAS Y SOCIOECONÓMICAS ..... | 93 |
| 4.2.1   | Edad.....                                      | 93 |
| 4.2.2   | Nivel educacional.....                         | 93 |
| 4.2.3   | Residencia .....                               | 94 |
| 4.2.4   | Estado civil.....                              | 94 |
| 4.3     | VARIABLES CLÍNICAS .....                       | 95 |

|       |                                              |     |
|-------|----------------------------------------------|-----|
| 4.3.1 | Número de dientes.....                       | 95  |
| 4.3.2 | Índice de placa.....                         | 95  |
| 4.3.3 | Índice de sangrado.....                      | 96  |
| 4.3.4 | Profundidad de sondaje .....                 | 97  |
| 4.3.5 | Pérdida de inserción $\geq 3\text{mm}$ ..... | 99  |
| 4.4   | VARIABLES BIOQUÍMICAS.....                   | 101 |
| 4.4.1 | Fibrinógeno .....                            | 101 |
| 4.4.2 | Factor de necrosis tumoral $\alpha$ .....    | 102 |
| 4.4.3 | Interleuquina 6.....                         | 103 |
| 4.4.4 | Interleuquina 8.....                         | 104 |
| 4.4.5 | Interleuquina $1\beta$ .....                 | 105 |
| 4.4.6 | Proteína C-reactiva.....                     | 106 |
| 4.5   | VARIABLES MICROBIOLÓGICAS .....              | 107 |
| 4.6   | VARIABLES OBSTÉTRICAS.....                   | 109 |
| 4.6.1 | Índice de masa corporal.....                 | 109 |
| 4.6.2 | Número de embarazos previos .....            | 109 |
| 4.6.3 | Abortos previos .....                        | 110 |
| 4.6.4 | Sexo de recién nacido.....                   | 110 |
| 4.6.5 | Tipo de parto .....                          | 111 |
| 4.7   | VARIABLE PRINCIPAL .....                     | 111 |
| 5     | DISCUSIÓN.....                               | 115 |
| 6     | CONCLUSIONES .....                           | 127 |
| 7     | LIMITACIONES .....                           | 131 |
| 8     | BIBLIOGRAFÍA.....                            | 135 |
| 9     | ANEXO 1 .....                                | 163 |
| 10    | ANEXO 2.....                                 | 167 |

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                  |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |    |
|------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.</b> | Estructura anatómica de la unidad feto-placentaria y localizaciones en las que la infección puede tener lugar .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                  | 34 |
| <b>Figura 2.</b> | Modelo contemporáneo de las interacciones en la patogénesis de las enfermedades periodontales. (Adaptado de Meyle & Chapple 2015). La salud supone algunos cambios inflamatorios leves que son proporcionales al mantenimiento de una microbiota periodontal residente “promotora de la salud”. La relación es simbiótica. Sin embargo, si se acumula biofilm y no se elimina, pueden emerger bacterias patógenas que pueden desarrollar una “disbiosis incipiente”. En la gingivitis, la respuesta del huésped sigue siendo proporcional, pero debido a la maduración del biofilm, la inflamación asociada no se resuelve tan fácilmente y se cronifica. Si el paciente es susceptible la lesión progresará a periodontitis, que se caracteriza por una respuesta inmuno-inflamatoria exagerada del huésped que puede causar daño tisular y conducir a una “disbiosis real” en la que no se resuelve la inflamación. La forma de volver a crear una simbiosis es la eliminación del biofilm para eliminar la inflamación. DAMP-patrón molecular asociado al daño; fMLP- N-formyl-Met_Leu_Phe; GFC-fluido crevicular gingival; LPS-lipopolisacáridos; MMP-metaloproteinasas; PMN-leucocitos polimorfonucleares. .... | 49 |
| <b>Figura 3.</b> | Potenciales mecanismos biológicos de asociación entre la periodontitis y las complicaciones del embarazo .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                       | 53 |
| <b>Figura 4.</b> | Esquema general del estudio .....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                    | 81 |
| <b>Figura 5.</b> | Diagrama de flujo para observar el progreso de las participantes durante el estudio. ....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                            | 92 |
| <b>Figura 6.</b> | Nivel educacional. Estadística descriptiva.....                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      | 93 |

|                   |                                                                                               |     |
|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Figura 7.</b>  | Residencia. Estadística descriptiva .....                                                     | 94  |
| <b>Figura 8.</b>  | Estado civil. Estadística descriptiva.....                                                    | 94  |
| <b>Figura 9.</b>  | Evolución del control de placa durante la gestación. ....                                     | 96  |
| <b>Figura 10.</b> | Evolución del índice de sangrado durante la gestación. ....                                   | 97  |
| <b>Figura 11.</b> | Evolución de la profundidad de sondaje en el grupo test.<br>Estadística descriptiva.....      | 99  |
| <b>Figura 12.</b> | Evolución de la profundidad de sondaje en el grupo<br>control. Estadística descriptiva .....  | 99  |
| <b>Figura 13.</b> | Evolución de la pérdida de inserción durante la gestación. ...                                | 100 |
| <b>Figura 14.</b> | Evolución de los valores de fibrinógeno durante la<br>gestación. ....                         | 101 |
| <b>Figura 15.</b> | Evolución de los valores del factor de necrosis tumoral $\alpha$<br>durante la gestación..... | 102 |
| <b>Figura 16.</b> | Evolución de los valores de Interleuquina 6 durante la<br>gestación. ....                     | 103 |
| <b>Figura 17.</b> | Evolución de los valores de Interleuquina 6 durante la<br>gestación. ....                     | 104 |
| <b>Figura 18.</b> | Evolución de los valores de interleuquina 1 $\beta$ durante la<br>gestación. ....             | 105 |
| <b>Figura 19.</b> | Evolución de los valores de proteína C-reactiva durante<br>la gestación.....                  | 106 |
| <b>Figura 20.</b> | Evolución de las concentraciones bacterianas en grupo<br>test.....                            | 108 |
| <b>Figura 21.</b> | Evolución de las concentraciones bacterianas en el grupo<br>control. ....                     | 108 |
| <b>Figura 22.</b> | Número de embarazos previos. Estadística descriptiva. ....                                    | 109 |
| <b>Figura 23.</b> | Abortos previos. Estadística descriptiva. ....                                                | 110 |
| <b>Figura 24.</b> | Sexo del recién nacido. Estadística descriptiva .....                                         | 110 |
| <b>Figura 25.</b> | Tipo de parto. Estadística descriptiva .....                                                  | 111 |

## ÍNDICE DE TABLAS

|                                                                                                                                                                                                     |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Tabla 1.</b> Estudios de casos-controles en los que se analizó la enfermedad periodontal y los afectos adversos del embarazo como el parto prematuro y el bajo peso al nacimiento. ....          | 60  |
| <b>Tabla 2.</b> Estudios de prospectivos de cohortes en los que se analizó la enfermedad periodontal y los afectos adversos del embarazo como el parto prematuro y el bajo peso al nacimiento. .... | 63  |
| <b>Tabla 3.</b> Estudios controlados aleatorizados en los que se evaluó el efecto del tratamiento periodontal en los efectos adversos del embarazo. ....                                            | 68  |
| <b>Tabla 4.</b> Edad de las pacientes. <i>T de Student</i> .....                                                                                                                                    | 93  |
| <b>Tabla 5.</b> Número de dientes. <i>T de Student</i> .....                                                                                                                                        | 95  |
| <b>Tabla 6.</b> Índice de placa. <i>T de Student</i> .....                                                                                                                                          | 95  |
| <b>Tabla 7.</b> Índice de sangrado. <i>T de Student</i> .....                                                                                                                                       | 96  |
| <b>Tabla 8.</b> Evolución de la profundidad de sondaje durante la gestación. <i>T de Student</i> .....                                                                                              | 98  |
| <b>Tabla 9.</b> Pérdida de inserción $\geq 3\text{mm}$ . <i>T de Student</i> .....                                                                                                                  | 100 |
| <b>Tabla 10.</b> Fibrinógeno. <i>T de Student</i> .....                                                                                                                                             | 101 |
| <b>Tabla 11.</b> Factor de necrosis tumoral $\alpha$ . <i>T de Student</i> .....                                                                                                                    | 102 |
| <b>Tabla 12.</b> Interleuquina 6. <i>T de Student</i> .....                                                                                                                                         | 103 |
| <b>Tabla 13.</b> Interleuquina 8. <i>T de Student</i> .....                                                                                                                                         | 104 |
| <b>Tabla 14.</b> Interleuquina $1\beta$ . <i>T de Student</i> .....                                                                                                                                 | 105 |
| <b>Tabla 15.</b> Proteína C-reactiva. <i>T de Student</i> .....                                                                                                                                     | 106 |
| <b>Tabla 16.</b> Proporciones de las diferentes especies bacterianas en ambos grupos en el 2º y 3º trimestre. <i>T de Student</i> .....                                                             | 107 |

**Tabla 17.** Índice de masa corporal. *T de Student* ..... 109

**Tabla 18.** Tabla 2x2( †, ‡ OR= 0.28; IC= 0.02-2.98). † Parto prematuro; ‡ Bajo peso al nacimiento. .... 111

**Tabla 19.** Variable dependiente: parto prematuro (semanas). ANCOVA.  $R^2 = 0.019$  ( $R^2$  corregida = -0.065) ..... 112

**Tabla 20.** Variable dependiente: peso al nacimiento (gr). ANCOVA.  $R^2 = 0.116$  ( $R^2$  corregida = -0.040). *NS*: no significativo. .... 112



## ABREVIATURAS

|              |                                                                |
|--------------|----------------------------------------------------------------|
| ACTH         | hormona liberadora de corticotropina                           |
| ANCOVA       | análisis de covarianza                                         |
| Cols.        | colaboradores                                                  |
| CPITN        | índice de necesidad de tratamiento periodontal de la comunidad |
| DAMPs        | patrón molecular asociado al daño                              |
| DE           | desviación estándar                                            |
| dl           | decilitros                                                     |
| ELISA        | ensayo por inmunoabsorción ligados a enzimas                   |
| FCG          | Fluido crevicular gingival                                     |
| fMLP         | N-formilmetionil-leucil-fenilalanina                           |
| GCP-2        | proteína quimiotáctica de granulocitos 2                       |
| HPA          | eje hipotálamo-pituitario-adrenal                              |
| IC           | intervalo de confianza                                         |
| ICC          | coeficiente de correlación intraclase                          |
| IgG          | inmunoglobulina G                                              |
| IgM          | inmunoglobulina M                                              |
| IMC          | índice de masa corporal                                        |
| IL-1         | Interleuquina 1                                                |
| IL-1 $\beta$ | Interleuquina 1 $\beta$                                        |
| IL-4         | Interleuquina 4                                                |
| IL-6         | Interleuquina 6                                                |

|                  |                                             |
|------------------|---------------------------------------------|
| IL-8             | Interleuquina 8                             |
| IL-17            | Interleuquina 17                            |
| Kg               | kilogramo                                   |
| LPS              | lipopolisacáridos                           |
| m                | metro                                       |
| mg               | miligramo                                   |
| ml               | mililitro                                   |
| MMP              | metaloproteinasas de la matriz extracelular |
| OMS              | Organización Mundial de la Salud            |
| OR               | Odds Ratio                                  |
| PCR              | reacción en cadena de la polimerasa         |
| PCR              | proteína C-reactiva                         |
| pg               | picogramos                                  |
| PGE <sub>2</sub> | prostaglandinas E <sub>2</sub>              |
| PMNs             | polimorfonucleares neutrófilos              |
| RTF              | medio de transporte reducido                |
| TNF- $\alpha$    | factor de necrosis tumoral $\alpha$         |
| UFC              | unidades formadoras de colonias             |
| VIH              | virus de la inmunodeficiencia humana        |

A large, light blue watermark of the USC logo is positioned diagonally across the page. The logo consists of a square containing the letters 'USC' in a large, white, serif font. Below the square, the text 'UNIVERSIDADE DE SANTIAGO DE COMPOSTELA' is written in a smaller, white, sans-serif font.

# **INTRODUCCIÓN**

---

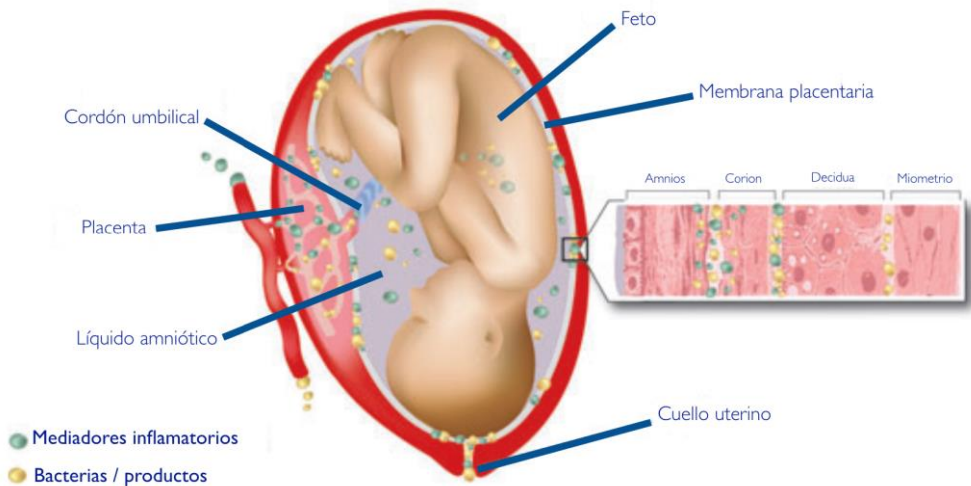


# 1 INTRODUCCIÓN

## 1.1 FISIOLÓGÍA DEL EMBARAZO

La progesterona modula la proliferación de las células del estroma, el crecimiento de la decidua, y la expresión de moléculas de adhesión, al mismo tiempo que suprime el sistema inmune materno para permitir la implantación de embriones (Halasz & Szekeres-Bartho, 2013). El cuerpo lúteo es el responsable del aumento de la producción de progesterona y estrógenos hasta que se desarrolla la placenta, momento en que esta asumirá dicho papel y continuará aumentando la producción de hormonas sexuales desde el segundo trimestre hasta el parto (Nakajima y cols., 1991). Además, la placenta debido a su riqueza en vasos sanguíneos proporciona circunstancias favorables para el crecimiento fetal al permitir el intercambio de gases, la absorción de nutrientes y la eliminación de desechos a través de la circulación sanguínea de la madre. Este transporte se produce a través del cordón umbilical, que conecta al feto con la placenta.

El saco amniótico está compuesto por una membrana interna que se denomina “amnios” y una membrana externa denominada “corion”. Al igual que la placenta, la membrana corioamniótica se conecta a las paredes del útero a través de la decidua materna y el miometrio (Figura 1).



**Figura 1.** Estructura anatómica de la unidad feto-placentaria y localizaciones en las que la infección puede tener lugar (Adaptado de Madianos y cols. 2013) (Madianos y cols., 2013b)

A medida que el feto crece, las necesidades de nutrientes cada vez son más crecientes y el espacio cada vez más decreciente, por lo que se convierten en parámetros críticos para la supervivencia tanto de la madre como del feto; por lo tanto, a medida que avanza el embarazo, la progesterona afecta a las metaloproteinasas de la matriz extracelular (MMP) mediante la modulación transcripcional, ya sea directa o indirectamente, a través de mediadores locales como las citoquinas o la leptina (Halasz & Szekeres-Bartho, 2013).

Las MMP son responsables de la remodelación de la matriz extracelular colágena, que asegura la adaptación del cuello uterino y la membrana corioamniótica al crecimiento uterino y fetal (Weiss y cols., 2007); además, tienen un papel importante en la maduración y dilatación cervical, así como en el debilitamiento y la ruptura de membranas (Weiss y cols., 2007).

Durante el desarrollo del embarazo los niveles de prostaglandina E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) y citoquinas inflamatorias, como TNF- $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , aumentan constantemente hasta que se alcanza un umbral crítico para inducir la ruptura de las membranas del saco amniótico, la contracción uterina, la dilatación cervical y, finalmente, el parto (Haram y cols., 2003). Así pues, el parto normal está controlado por la señalización inflamatoria y este proceso representa un mecanismo desencadenante que puede ser modificado por estímulos externos que incluyen las infecciones y los factores de estrés inflamatorios.

## **1.2 MECANISMOS PATOGENICOS DE LOS RESULTADOS ADVERSOS DEL EMBARAZO**

La evidencia clínica y las investigaciones actuales sugieren que una serie de procesos patogénicos pueden conducir a un parto prematuro. Estos procesos pueden llevar a un acortamiento cervical y puede iniciarse el trabajo de parto o la rotura prematura de membranas (Moroz & Simhan, 2014).

Los procesos más comunes que pueden conducir a ello son:

### **1.2.1 La activación prematura del eje hipotalámico-pituitario-adrenal relacionado con el estrés.**

El estrés en un elemento común capaz de activar una serie de respuestas adaptativas en la madre y en el feto. Bajo esta perspectiva, la activación prematura del eje hipotálamo-pituitario-adrenal (HPA) puede iniciar el parto prematuro. Los mecanismos por los cuales se cree que la activación fetal del eje HPA causan el parto, incluyen:

- a. Aumento de la producción placentaria y la liberación de la hormona liberadora de corticotropina (ACTH) (Korebrits y cols., 1998).
- b. Aumento de la liberación de secreción de la hormona adrenocorticotrópica (ACTH) en la hipófisis fetal, que estimula la producción de compuestos estrogénicos placentarios y prostaglandinas que pueden activar el miometrio e iniciar el trabajo de parto (Challis & Hooper, 1989).

### **1.2.2 Respuesta inflamatoria/infecciosa exagerada y/o una alteración de la microbiota del tracto genital**

Las bacterias, además de inducir una respuesta inflamatoria, pueden tener un papel directo en la patogénesis del parto prematuro. Algunos organismos como los *Staphylococcus*, *Streptococcus* o los *Bacteriodes*, entre otros, producen proteasas y elastasas (capaces de degradar las membranas fetales), e incluso fosfolipasa A2 (que induce la síntesis de prostaglandinas) y endotoxinas, que son sustancias que estimulan las contracciones uterinas y pueden causar parto prematuro (Gibbs y cols., 1992).

Según el origen de la infiltración bacteriana, las lesiones que representan la respuesta del huésped a un gradiente quimiotáctico en la cavidad amniótica se dividen en:

- a. Corioamnionitis aguda: inflamación intraamniótica con neutrófilos maternos infiltrados en el corion y en el amnios.
- b. Funisitis: proceso inflamatorio involucrado en el cordón umbilical, en el cual los neutrófilos son reclutados desde el origen fetal.

- c. Vasculitis coriónica: inflamación que afecta al árbol vellosos coriónico como evidencia de una respuesta del huésped fetal.

En la corioamnionitis crónica, las células TCD8+ maternas se infiltran en las membranas del saco amniótico, inducen apoptosis del trofoblasto y dañan la membrana corioamniótica. Es la lesión más común en el parto prematuro tardío y la frecuencia es notablemente alta, no sólo en la ruptura de membranas antes del parto (39%) y el parto prematuro (34%), sino también en términos de muerte fetal (60%) (Kim, Romero, Chaemsaitong, & Kim, 2015).

En el caso de infección intrauterina, las interleuquinas, como la IL-8 y la proteína quimiotáctica de granulocitos (GCP-2), establecen un gradiente que favorece la migración de neutrófilos maternos a las membranas corioamnióticas o el paso de neutrófilos fetales al cordón umbilical (Kim, Romero, Chaemsaitong, Chaiyasit, y cols., 2015).

### **1.2.3 Hemorragia decidual**

El sangrado vaginal por hemorragia de la decidua se ha asociado con un aumento en el riesgo de parto prematuro y de la ruptura prematura de membranas (Harger y cols., 1990). La hemorragia decidual se origina en las arterias espirales y se presenta clínicamente como un sangrado vaginal o la formación de un hematoma retroplacentario (Buhimschi y cols., 2010).

### **1.2.4 Distensión patológica del útero**

La gestación múltiple o la acumulación excesiva de líquido amniótico pueden ser causas de la excesiva distensión del útero. La elongación del miometrio induce la formación de distancias entre las

uniones, aumento de los receptores de oxitocina y la producción de citoquinas y prostaglandinas que son eventos que preceden a las contracciones y la dilatación cervical lo que puede llegar a inducir el parto prematuro (Adams Waldorf y cols., 2015).

### **1.2.5 Cambios patológicos cervicales**

La insuficiencia cervical se refiere a la dilatación o borramiento patológico del cuello uterino no relacionado con el trabajo de parto y que puede conducir a un parto prematuro o a la pérdida del embarazo. La insuficiencia cervical provocada por factores intrínsecos del cérvix es poco frecuente; es más probable que el acortamiento cervical progresivo se produzca debido a la activación de las vías de inflamación y hemorrágicas. Consecuentemente, el cambio cervical patológico puede ocurrir sin antecedentes de trabajo de parto prematuro y ruptura prematura de membranas (Ludmir & Sehdev, 2000).

## **1.3 PARTO PREMATURO Y/O BAJO PESO**

### **1.3.1 Definición de parto prematuro**

La Organización Mundial de la Salud definió en el año 1950 el parto prematuro como aquel que ocurre antes de las 37 semanas de gestación, siendo muy prematuro si se produce antes de las 32 semanas, e inmaduro si es antes de las 28 semanas.

Por el contrario, la gestación a término es aquella que ha cumplido las 37 semanas y será post-término si dura más de 42 semanas; siendo la duración media de la gestación de 40 semanas (Organization, 1950).

### 1.3.2 Definición de bajo peso

Se considera bajo peso al nacimiento cuando éste no alcanza los 2500 gramos, dentro de esta categoría, hablamos de muy bajo peso al nacimiento cuando éste es inferior a 1500 gramos, y será extremadamente bajo si no alcanza los 1000 gramos de peso (Organization, 1950).

### 1.3.3 Epidemiología

A nivel mundial, la tasa de nacimientos prematuros se estima en un 11% (con oscilaciones que varían desde un 5% en algunas zonas de Europa a un 18% en localizaciones de África). Aproximadamente, 15 millones de niños nacen prematuros cada año (con un rango que varía de 12 a 18 millones) (Blencowe y cols., 2012). De estos nacimientos prematuros, el 84% ocurre entre las 32 y 36 semanas de gestación, el 10% entre las 32 y 28 semanas de gestación, y el 5% restante antes de las 28 semanas de gestación.

### 1.3.4 Factores de riesgo

Existen diversos factores de riesgo determinantes del parto prematuro y muchas vías a través de las que esos factores pueden iniciar la cascada terminal de eventos que resultan en el parto. El trabajo de parto probablemente ocurre cuando los factores uterinos locales estimulan prematuramente esta cascada, o cuando los factores supresores -que inhiben la cascada y mantienen la calma uterina- se retiran prematuramente.

Los cuatro factores principales que conducen al parto prematuro son la infección intrauterina, la hemorragia decidua, el estiramiento uterino excesivo y el estrés materno o fetal; sin perjuicio de que la

insuficiencia vascular uterina, la respuesta inflamatoria exagerada, los factores hormonales, la insuficiencia cervical y la predisposición genética también juegan un papel fundamental.

La identificación de los factores de riesgo modificables para el parto prematuro antes de la concepción o al principio del embarazo puede ayudar a prevenir esta complicación.

#### 1.3.4.1 Historia reproductiva

Parto prematuro espontáneo previo: la historia previa de parto prematuro espontáneo es el mayor factor de riesgo de recurrencia (Esplin y cols., 2008).

En un estudio prospectivo, aproximadamente el 5% de las mujeres que tuvieron un parto prematuro espontáneo entre las semanas 23 y 27 en su embarazo anterior dieron a luz antes de la semana 28 de gestación en el siguiente embarazo, mientras que, en las pacientes que no tenían historial previo de parto prematuro espontáneo, el riesgo de dar a luz antes de la semana 28 era solo del 0.2% (Mercer y cols., 1999).

Historia previa de abortos: en una revisión sistemática publicada en 2015 las mujeres con historia previa de abortos tenían un aumento pequeño pero significativo en el riesgo de parto prematuro (Saccone y cols., 2016).

#### 1.3.4.2 Factores genéticos

Los polimorfismos genéticos parecen contribuir a la duración de la gestación y la probabilidad de tener un parto prematuro espontáneo. En un estudio de asociación de genoma con una gran cohorte de mujeres europeas, las variantes en los loci *EBF1*, *EEFSEC*,

*AGTR2*, *WNT4*, *ADCY5* y *RAP2C* se asociaron con una duración de las gestación y las variantes maternas en los loci *EBF1*, *EEFSEC* y *AGTR2* se asociaron con el parto prematuro.

Aunque se han identificado genes con una mayor susceptibilidad al parto prematuro, los factores epigenéticos y genéticos ambientales probablemente juegan un papel más importante en el parto prematuro que el genotipo materno (Zhang y cols., 2017).

#### 1.3.4.3 Raza

Se ha observado una discrepancia entre las poblaciones de raza blanca y de raza negra en el riesgo de ocurrencia del parto prematuro. En un estudio publicado en el año 2012, la OR de parto prematuro fue inferior en parejas en la ambos eran de raza blanca y se vio incrementado con el aumento en el porcentaje de raza negra: madre de raza blanca/padre de raza blanca ([OR] 1.0), madre de raza blanca/padre de raza negra ([OR]1.37), madre de raza negra/padre de raza negra ([OR]1.78) (Srinivasjois y cols., 2012).

#### 1.3.4.4 Edad

El ratio de parto prematuro es mayor en edades maternas extremas (Fuchs y cols., 2018). La inmadurez psicológica y los factores socioeconómicos pueden incrementar el riesgo en madre adolescentes; mientras que una mayor prevalencia de enfermedades crónicas y de obesidad, pueden incrementar el riesgo en madres de mayor edad. Ambos grupos tiene altas tasas de embarazos no deseados; la prevención de estos embarazos puede reducir el parto prematuro (Shapiro-Mendoza y cols., 2016).

#### 1.3.4.5 Cirugía cervical

La cirugía cervical, particularmente la conización, se ha asociado con un aumento en el riesgo de aborto espontáneo tardío o parto prematuro. Los posibles mecanismos por lo que pueden llegar a producirse incluyen la pérdida de resistencia del cérvix o una mayor susceptibilidad a la infección (Zhuang y cols., 2019).

#### 1.3.4.6 Malformaciones uterinas

Las malformaciones uterinas pueden ser congénitas o adquiridas.

La magnitud del riesgo de parto prematuro en las malformaciones congénitas depende específicamente del tipo de malformación.

En lo que respecta a las malformaciones adquiridas, existe literatura que describe los fibromas como factor de riesgo de parto prematuro o de pérdida del embarazo. Entre las características asociadas a un aumento del riesgo por fibroma se incluyen tener múltiples, que estén localizados adyacentes a la placenta o posean un tamaño superior a cinco centímetros (Klatsky y cols., 2008).

#### 1.3.4.7 Reproducción asistida

Las gestaciones concebidas por reproducción asistida tienen más riesgo de tener parto prematuro espontáneo incluso en ausencia de gestación múltiple. El aumento del riesgo puede estar relacionado con los factores maternos basales relacionados con la subfertilidad y/o factores relacionados con los procedimientos de la reproducción asistida (Schieve y cols., 2002).

#### 1.3.4.8 Gestación múltiple

La gestación múltiple representa el 2-3% de todos los nacimientos, el 17% de los nacimientos antes de las 37 semanas de gestación y el 23% de los nacimientos antes de las 32 semanas de gestación. La amplia disponibilidad de las tecnologías de reproducción asistida ha resultado en un aumento de la incidencia de gestaciones múltiples (Kiely, 1998).

El mecanismo para que se produzca un parto prematuro espontáneo en gestaciones múltiples, puede estar relacionado con el aumento de la distensión uterina, con una mayor cantidad de estrógenos, progesterona y esteroides (TambyRaja & Ratnam, 1981).

#### 1.3.4.9 Hemorragia vaginal

La hemorragia en los primeros meses de embarazo a menudo se debe a una hemorragia decidua y se asocia con un mayor riesgo de parto prematuro espontáneo. En un estudio publicado en el año 2010 se observó que los embarazos con sangrado en el primer trimestre tuvieron un mayor riesgo de rotura prematura de membranas (OR1.18, IC95% 1.01-1.37), desprendimiento de placenta (OR1.48, IC95% 1.30-1.68) y preeclampsia severa (OR 1.25, IC95% 1.98-1.43) (Lykke y cols., 2010).

#### 1.3.4.10 Longitud cervical

Existe una relación inversa entre la longitud cervical medida por ultrasonidos entre las 16 y las 28 semanas de gestación y la edad gestacional en el momento del parto. Una elevada longitud cervical se asocia con mayores probabilidades de parto prematuro (Newman y cols., 2008).

#### 1.3.4.11 Dilatación cervical

Una dilatación cervical igual o superior a un centímetro antes de la semana 24 de gestación se ha asociado con un aumento en el riesgo de parto prematuro y un aumento progresivo en la dilatación cervical también se ha asociado con un mayor riesgo de parto prematuro (Ludmir & Sehdev, 2000).

#### 1.3.4.12 Estrés

Una asociación entre el estrés y el parto prematuro es biológicamente plausible. Existe evidencia de que el estrés materno y fetal activa las células de la placenta y de las membranas fetales para producir la hormona liberadora de corticotropina (ACTH). Esta hormona puede aumentar la producción local de prostaglandinas, lo que puede iniciar las contracciones (Lockwood, 1999).

#### 1.3.4.13 Infección

Múltiples estudios relacionados con diversas disciplinas (epidemiología, histopatología, microbiología, bioquímica y medicina materno-fetal) han observado una asociación entre la infección/inflamación y el parto prematuro, probablemente mediada por prostaglandinas. Se ha descrito evidencia histológica de corioamnionitis en las placentas del 20 al 75% de los partos prematuros y cultivos de membrana positivos del 30 al 60% de las pacientes (Salafia y cols., 1991).

#### 1.3.4.14 Hábito tabáquico

El hábito tabáquico tiene una relación dosis-dependiente modesta con el riesgo de parto prematuro. Este efecto puede

explicarse por el aumento de las tasas de complicaciones del embarazo relacionadas con el tabaquismo, como desprendimiento de placenta, rotura prematura de membranas y restricción del crecimiento intrauterino. Sin embargo, la asociación persiste cuando se hacen ajustes para estos factores de confusión, lo que sugiere que puede haber un efecto directo del consumo de cigarrillos en el parto prematuro (Kyrklund-Blomberg & Cnattingius, 1998).

## **1.4 PERIODONTITIS**

### **1.4.1 Definición**

La periodontitis es una enfermedad inflamatoria multifactorial crónica caracterizada por la destrucción progresiva del aparato de soporte dental. Sus características principales incluyen la pérdida de soporte de tejido periodontal, manifestado a través de la pérdida de inserción clínica, la pérdida ósea radiográfica, presencia de bolsas periodontales y sangrado gingival.

En el último World Workshop publicado en el año 2018 (Papapanou y cols., 2018), según la fisiopatología se identificaron tres formas de periodontitis: periodontitis, periodontitis necrotizante y periodontitis como manifestación directa de enfermedades sistémicas. Para poder diferenciar el tipo de periodontitis que está presente se debe revisar la historia clínica del paciente, así como los signos y síntomas de la periodontitis necrotizante y la presencia o ausencia de una enfermedad sistémica que pueda alterar la respuesta inmune del huésped.

Se puede considerar que un paciente es un caso de periodontitis si presenta una pérdida de inserción clínica interdental en dos o más dientes no adyacentes o bien, una pérdida de inserción vestibular

$\geq 3\text{mm}$  con bolsas de  $>3\text{mm}$  en dos o más dientes, siempre que esta pérdida de inserción no esté relacionada con (i) recesión gingival por razones traumáticas, (ii) caries en la región cervical, (iii) pérdida de inserción clínica en la cara distal de un segundo molar -posiblemente asociada a una malposición o extracción del tercer molar-, y (iv) lesión endodóntica o fractura radicular vertical.

Se elaboró un sistema en que se incluyó al paciente en su conjunto, complementando la definición con los factores de riesgo y la complejidad del tratamiento. Para ello se describió la probabilidad de progresión de la enfermedad a lo largo del tiempo y la posible respuesta a los tratamientos mediante tres grados, así podemos distinguir grado A, B y C, que corresponden a una tasa de progresión lenta, moderada o rápida. Además se añadieron cuatro estadios (I, II, III, IV) que nos permiten describir la gravedad y extensión de la enfermedad.

Estadio I: periodontitis inicial

Estadio II: periodontitis moderada

Estadio III: periodontitis grave con riesgo potencial de pérdida dentaria adicional.

Estadio IV: periodontitis avanzada con extensas pérdidas dentarias y riesgo potencial de pérdida de la dentición.

### **1.4.2 Epidemiología**

En el año 2010, la periodontitis avanzada fue la sexta enfermedad más común con una incidencia del 11.2% de la población mundial (Kassebaum y cols., 2014).

En España, se han venido realizando encuestas de salud oral desde el año 1983. Según la última encuesta de salud oral publicada en el año 2016, en los pacientes adultos con edades comprendidas

entre los 35-44 años, la prevalencia de bolsas periodontales de 4-5mm fue del 18.5% (IC 95% 12.6-24.5) y en bolsas periodontales  $\geq 6$ mm fue de un 5.5% (IC 95% 2.7-8.3%), por lo que alrededor de un 25% de la población adulta presentaba algún grado de enfermedad periodontal. Cuando se analizaron los datos con respecto a la pérdida de inserción se observó cómo en la misma cohorte de pacientes un 23.5% presentaban una pérdida de inserción de 4-5mm y alrededor del 10% presentaban una pérdida de inserción  $\geq 6$ mm (Bravo Pérez y cols., 2016; Carasol y cols., 2016).

### 1.4.3 Etiopatogenia

El modelo de patogénesis descrito por Page y Kornman en 1997 (Page & Kornman, 1997), explicaba la relación existente entre el biofilm y la respuesta del huésped. En la actualidad sabemos que el biofilm es un requisito fundamental para que se desarrolle la enfermedad periodontal pero es insuficiente para ser la causa de la misma. La enfermedad periodontal es multifactorial, con factores de riesgo no modificables como la genética, otros causados por influencias epigenéticas y otros modificables, relacionados con el estilo de vida del paciente.

El modelo de patogénesis descrito por Meyle y Chapple en 2015 (Meyle & Chapple, 2015) está basado en una relación circular entre el biofilm periodontal y la respuesta inmuno-inflamatoria del huésped. Las características de la alteración que se produce en el sistema inmune con la periodontitis incluyen una excesiva inflamación que no es capaz de resolverse y se cronifica, generando unas condiciones que favorecen al biofilm patógeno.

Para conseguir o mantener la salud periodontal es necesario que exista una relación de simbiosis entre los microorganismos que

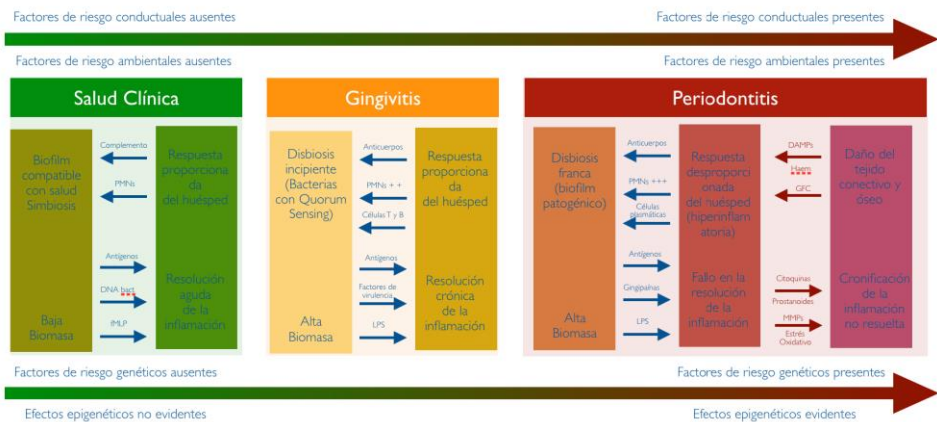
componen el biofilm y la respuesta del huésped. Así el huésped puede proporcionar nutrientes clave a través del fluido crevicular gingival (FCG) como proteínas o péptidos liberados por los microorganismos del biofilm lo que puede desencadenar una respuesta del huésped proporcionada que mantenga un equilibrio entre el biofilm y el huésped (Marsh, 2003; Van Dyke, 2008).

Si el biofilm no se elimina con frecuencia y se acumula, las condiciones de esa simbiosis cambian, se le permite el crecimiento a bacterias como el *Fusobacterium Nucleatum*, lo que puede provocar una respuesta del huésped, que puede inducir a una inflamación gingival y la proliferación de microorganismos con mayor patogenicidad como la *Porphyromonas gingivalis*. Es lo que en el nuevo modelo de patogénesis se denomina como “disbiosis incipiente”, que en pacientes no susceptibles no progresará más allá de una gingivitis (Meyle & Chapple, 2015).

En pacientes susceptibles, la “disbiosis incipiente” puede desencadenar una respuesta del huésped inapropiada y excesiva, en la cual se genera un exceso de citoquinas, metaloproteinasas y sus antagonistas, lo que puede resultar en daños colaterales al tejido periodontal. La respuesta innata no es capaz de resolver la inflamación que se produce, por lo que la lesión en los tejidos periodontales puede persistir y cronificarse; además, parece que los virus son capaces de crear una “desregularización” en la inmunidad específica.

El estado inflamatorio crónico se caracteriza por intentos de curación (angiogénesis y fibrosis) que se producen al mismo tiempo que la inflamación, lo que crea un ambiente rico en nutrientes que mantiene la patogenicidad del biofilm. Las células plasmáticas y los neutrófilos dominan la lesión activa.

El grado en que la acumulación de biofilm promueve la periodontitis varía entre individuos según su perfil de riesgo. Hay pacientes con un riesgo bajo de desarrollo de enfermedad periodontal (pacientes resistentes) en los que la respuesta a la gingivitis es proporcional y se resuelve sola, mientras que, en pacientes con elevada susceptibilidad, un leve acúmulo de biofilm es suficiente para desencadenar la respuesta del huésped (Meyle & Chapple, 2015).



**Figura 2.** Modelo contemporáneo de las interacciones en la patogénesis de las enfermedades periodontales. (Adaptado de Meyle & Chapple 2015). La salud supone algunos cambios inflamatorios leves que son proporcionales al mantenimiento de una microbiota periodontal residente “promotora de la salud”. La relación es simbiótica. Sin embargo, si se acumula biofilm y no se elimina, pueden emerger bacterias patógenas que pueden desarrollar una “disbiosis incipiente”. En la gingivitis, la respuesta del huésped sigue siendo proporcional, pero debido a la maduración del biofilm, la inflamación asociada no se resuelve tan fácilmente y se cronifica. Si el paciente es susceptible la lesión progresará a periodontitis, que se caracteriza por una respuesta inmuno-inflamatoria exagerada del huésped que puede causar daño tisular y conducir a una “disbiosis real” en la que no se resuelve la inflamación. La forma de volver a crear una simbiosis es la eliminación del biofilm para eliminar la inflamación. DAMP- patrón molecular asociado al daño; fMLP- N-formyl-Met\_Leu\_Phe; GFC- fluido crevicular gingival; LPS- lipopolisacáridos; MMP- metaloproteinasas; PMN- leucocitos polimorfonucleares.

#### 1.4.4 Tratamiento periodontal no quirúrgico

El principal objetivo del tratamiento periodontal no quirúrgico es la eliminación del biofilm bacteriano y el cálculo de la superficie radicular. En 1994, Kieser propuso la instrumentación de la bolsa en tres etapas separadas del tratamiento: (i) desbridamiento para la interrupción y eliminación de biopelículas microbianas; (ii) el raspado para la eliminación de depósitos mineralizados (cálculo); y (iii) el alisado radicular para eliminar el cemento y la dentina “contaminada” con el fin de restablecer la compatibilidad biológica de la superficie radicular (Kieser, 1994).

El razonamiento para realizar el alisado se basó originalmente en el concepto de que las endotoxinas bacterianas penetran en el cemento y por esta razón se pensó que era necesario eliminar, no sólo las biopelículas y el cálculo, sino también el cemento subyacente; sin embargo, la evidencia obtenida de estudios experimentales demostró que las endotoxinas solo se adhieren débilmente a la superficie y no penetran en el cemento (Hughes & Smales, 1986), por lo que la eliminación agresiva del cemento no parece justificada y la instrumentación de la raíz debe realizarse preferentemente con instrumentos que provoquen una eliminación mínima de la superficie radicular, pero que sean efectivos para alterar la biopelícula y eliminar el cálculo.

Existe un consenso entre diferentes revisiones publicadas (Cobb, 1996; Garrett, 1983; Suvan, 2005; Van der Weijden & Timmerman, 2002) de que la instrumentación combinada con medidas adecuadas de control de placa es una modalidad de tratamiento efectiva para reducir las profundidades de sondaje y mejorar los niveles clínicos de inserción. Así, según la profundidad de sondaje, podemos conocer los cambios que se van a producir después de la realización del tratamiento periodontal; en bolsas  $\leq 3\text{mm}$  no debemos de realizar el

tratamiento si no, se producirá una pérdida de inserción media de 1mm; en profundidades de sondaje entre 4-6mm, se producirá una ganancia de inserción media de 0.5mm y una reducción media de 1-1.5mm; en bolsas profundas de  $\geq 7$ mm obtendremos una ganancia de inserción media de 1mm y una reducción media de 2.5mm. Todo ello sin perjuicio de que debemos de tener en cuenta factores locales como la afectación de furca, ya que la reducción en la profundidad de sondaje en esas localizaciones es de media 1mm menor que en aquellas localizaciones con presentan afectación de furca.

El tratamiento periodontal no quirúrgico puede llevarse a cabo utilizando diferentes tipos de instrumentos: instrumentos manuales como las curetas e instrumentos sónicos y ultrasónicos. Se han llevado a cabo numerosas investigaciones para determinar si hay diferencias en los resultados clínicos y se ha concluido que no existen diferencias (Badersten y cols., 1981; Cobb, 2002; Wennstrom y cols., 2005). Lo que sí se ha observado en la comparación entre la utilización de instrumentos manuales y el uso de instrumentos sónicos y ultrasónicos es que estos pueden proporcionar un mejor acceso en las bolsas profundas y en las áreas de furcación, además de una reducción en el tiempo de trabajo.

## **1.5 ENFERMEDAD PERIODONTAL Y SU ASOCIACIÓN CON EL PARTO PREMATURO/BAJO PESO AL NACIMIENTO.**

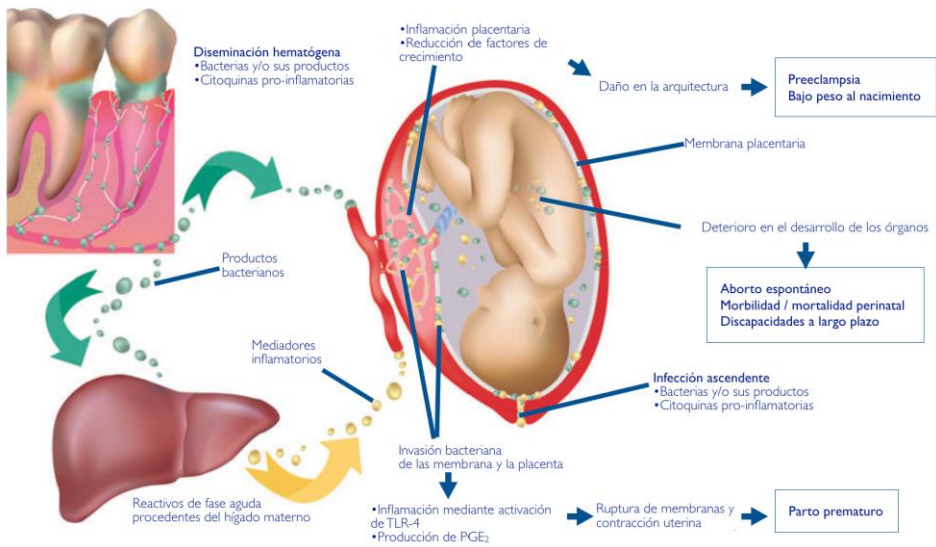
### **1.5.1 Potenciales mecanismos biológicos**

La enfermedad periodontal es una enfermedad infecciosa que ocurre lejos de la unidad feto-placentaria. En un intento de contener o eliminar esta infección, las células del huésped activan una respuesta inflamatoria local contra estas bacterias y sus numerosos factores de virulencia (por ejemplo, lipopolisacáridos (LPS)). Sin embargo, varios

estudios demuestran que las citoquinas inflamatorias, las bacterias periodontales y/o sus factores de virulencia pueden ingresar a la circulación sanguínea y diseminarse por todo el cuerpo, desencadenando la inducción de respuestas inflamatorias sistémicas y/o infecciones ectópicas (Guntheroth, 1984; Han y cols., 2009; Temoin y cols., 2012).

En este contexto, se propuso un modelo que podría explicar la asociación biológica entre la enfermedad periodontal y los resultados adversos del embarazo (Bobetsis y cols., 2006). Las dos vías principales de este modelo incluyen:

- Vía directa: las bacterias periodontales y/o sus productos patógenos se diseminan a la unidad feto-placentaria donde inician una infección ectópica y/o desencadenan una respuesta inflamatoria local que da como resultado la elevación de citoquinas y mediadores inflamatorios que contribuyen a las complicaciones del embarazo.
- Vía indirecta: citoquinas y mediadores inflamatorios producidos a nivel gingival en respuesta a patógenos periodontales, ingresan a la circulación sanguínea y alcanzan la unidad feto-placentaria y aumentan la cantidad de estos mediadores en este compartimento y alcanzan también el hígado, donde estimulan una respuesta inflamatoria sistémica mediante la producción de reactivos de fase aguda. Estos productos obtienen acceso a la circulación sanguínea y pueden ingresar a la unidad feto-placentaria, lo que agrava la inflamación intrauterina.



**Figura 3.** Potenciales mecanismos biológicos de asociación entre la periodontitis y las complicaciones del embarazo (Adaptado de Madianos y cols. 2013) (Madianos y cols., 2013b)

En el consenso publicado en el año 2013 (Sanz y cols., 2013) se concluyó que la evidencia más sólida provenía de la vía directa, con diseminación hematogena de los microorganismos orales y sus productos que posteriormente inducirán una inflamación y una respuesta inmune en la unidad fetoplacentaria. Además, se propuso que para poder evaluar la exposición de la unidad fetoplacentaria a las infecciones orales, la presencia y niveles de microorganismos (en líquido amniótico, cordón umbilical, placenta, membranas fetales) y los anticuerpos frente a estos microorganismos, eran las mejores variables para analizar dicha exposición; así las especies bacterianas más fuertemente asociadas con los resultados adversos del embarazo son *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Porphyromonas gingivalis* y *Bergeyella sp.*

Por otro lado, los niveles de biomarcadores inflamatorios (Il-1, Il-6, PGE<sub>2</sub>, TNF- $\alpha$ , Proteína C-reactiva) en suero materno, cordón umbilical y líquido amniótico se consideraron las mejores variables para evaluar la exposición inflamatoria (Madianos y cols., 2013b; Sanz y cols., 2013).

#### 1.5.1.1 Patógenos periodontales

Estudios recientes de casos y controles que usan técnicas avanzadas de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) han demostrado que las bacterias orales pueden alojarse en la placenta independientemente del estado periodontal de la madre, aunque diferentes patógenos periodontales en la placenta son significativamente más prevalentes en mujeres con periodontitis en comparación con aquellos con periodonto sano (Blanc y cols., 2015; Swati y cols., 2012).

La periodontitis crónica y la presencia subgingival de *P. gingivalis*, *T. forsythia* y *Eikenella corrodens* se han asociado significativamente con la preeclampsia (Contreras y cols., 2006), mientras que la presencia de *E. corrodens* y *Capnocytophaga spp.* demostraron una asociación significativa con el parto prematuro y el bajo peso al nacimiento, respectivamente (Santa Cruz y cols., 2013). Por el contrario, en una población española, la periodontitis fue más frecuente en mujeres con parto prematuro/bajo peso al nacimiento que en mujeres con embarazo a término, pero no observaron diferencias significativas en las composiciones bacterianas subgingivales; *P.micra* y *Capnocytophaga sp.*, sólo estuvieron presentes en el grupo de casos mientras que *E.corrodens* sólo se detectó en los controles (Mesa y cols., 2013).

Prince y cols., en 2016, demostraron que el microbioma placentario se altera en asociación con el parto prematuro, así como la comunidad microbiana entre el corion y el amnios en relación con el

parto prematuro diagnosticado clínicamente y la inflamación histológicamente probada. Además, estos cambios variaron dentro de la gravedad de la corionamnionitis; es decir, las mujeres con parto prematuro y corioamnionitis severa habían disminuido la diversidad de especies y la presencia ectópica de bacterias urogenitales y orales como *Ureaplasma sp.*, *F.nucleatum* y *streptococos*, en sus tejidos placentarios en comparación con mujeres con embarazo a término (Prince y cols., 2016).

De acuerdo a los experimentos en ratones gestantes, la inyección hematógena de *F.nucleatum* da como resultado una colonización y proliferación específica de este microorganismo en la unidad feto-placentaria (Han y cols., 2004). De manera similar, en ratones infectados con *P.gingivalis* y *C.rectus*, la translocación de estos patógenos periodontales a tejidos placentarios causa parto prematuro y bajo peso al nacimiento (Ao y cols., 2015). La infección por *P.gingivalis* podría inducir un aumento de aproximadamente el doble en los niveles de citoquinas circulantes como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$ , IL-6 e IL-17 (Ao y cols., 2015).

En un estudio transversal publicado en 2013 por Stout y cols. demostraron por primera vez que 53 (27%) de 195 muestras de placenta albergaban bacterias Gram positivas y negativas intracelulares en la capa superficial de la placenta que se encuentra anclada al endometrio (Stout y cols., 2013).

#### 1.5.1.2 Citoquinas proinflamatorias

Las enfermedades periodontales cursan con un aumento en la producción de citoquinas proinflamatorias y mediadores de la inflamación. Las citoquinas son proteínas de bajo peso molecular que inician y perpetúan la inflamación, regulan la amplitud y la duración de la respuesta inflamatoria. Son producidas por células residentes,

como células epiteliales, fibroblastos y fagocitos (neutrófilos y macrófagos) en la fase aguda y por células inmunológicas (linfocitos) en la respuesta inmune adaptativa (Ara y cols., 2009). Después del reconocimiento del patógeno, las citoquinas de la respuesta innata, incluyendo TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6, son las que primero se secretan en la patogenia de la enfermedad periodontal (Garlet, 2010). La IL-1 $\beta$  y la IL-6 se han asociado con células migratorias de la inflamación y con la osteoclastogénesis, mientras que el TNF- $\alpha$  es una citoquina pleiotrópica cuyas funciones varían desde la migración celular a la destrucción de tejidos (Dinarello, 2000). También se correlaciona con la degradación extracelular de la matriz y la reabsorción ósea a través de acciones que promueven la secreción de metaloproteinasas (MMPs) y RANKL (Graves y cols., 2008).

En un estudio reciente de casos y controles en mujeres embarazadas, los niveles séricos de interleuquina 4 (IL-4) y factor de necrosis tumoral-  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) fueron significativamente más altos en los sujetos con gingivitis y periodontitis que en pacientes periodontalmente sanas (Kumar y cols., 2014). Las citoquinas proinflamatorias como la interleuquina-1 (IL-1), interleuquina-6 (IL-6) y el TNF- $\alpha$  estimulan la producción de prostaglandinas en el corion

y los niveles elevados de estos mediadores en suero y/o líquido amniótico se han asociado con parto prematuro (Park y cols., 2013).

### 1.5.1.3 Proteína C-reactiva

La liberación de bacterias y citoquinas proinflamatorias de los tejidos periodontales infectados a la circulación sistémica puede inducir una inflamación sistémica de bajo grado a través de la respuesta de fase aguda en el hígado, que se muestra como la

producción y liberación de proteína C-reactiva (PCR) y fibrinógeno (Park y cols., 2013). A medida que la PCR se disemina a través de la circulación a otros sitios del cuerpo, puede contribuir consecutivamente a la inflamación intrauterina (Herrera y cols., 2007). Durante el embarazo, la respuesta inflamatoria en la interfase feto-placentaria puede amplificarse con niveles elevados de PCR en plasma a través de la activación del complemento, daño tisular y la inducción de citoquinas proinflamatorias (Sharma y cols., 2009). De este modo, además de la periodontitis, los niveles elevados de PCR están relacionados con varias afecciones inflamatorias inducidas por infecciones, como la preeclampsia, parto prematuro, restricción del crecimiento intrauterino y la diabetes mellitus gestacional.

#### 1.5.1.4 Inmunoglobulinas

Se han realizado pocos estudios en los que analicen las respuestas inmunitarias maternas y fetales contra los patógenos orales, las posibles vías causales y su relación con los efectos adversos del embarazo.

Un estudio de cohortes llevado a cabo en mujeres embarazadas, se examinaron los niveles maternos de anticuerpos inmunoglobulina-G (IgG) postparto en suero junto con la exposición fetal (definida como niveles de inmunoglobulina-M (IgM) en sangre del cordón umbilical frente a patógenos maternos). Se incluyeron los siguientes organismos: *C. rectus*, *F. nucleatum*, *P. micra*, *P. intermedia* y *P. nigrescens* del complejo naranja (como describen Socransky et al., 1998) (Socransky y cols., 1998) junto con las bacterias del complejo rojo (es decir, *T. forsythia*, *T. denticola* y *P. gingivalis*). La comparación entre los partos prematuros y los recién nacidos a término reveló que los neonatos prematuros representaban una prevalencia de 2,9 veces mayor de seropositividad IgM para al menos uno de los organismos probados. Por

ejemplo, la prevalencia de IgM fetal positiva para *C. rectus* y *P. intermedia* fue significativamente mayor entre los partos prematuros que los recién nacidos a término (Madianos y cols., 2001). Los niveles elevados de anticuerpos IgG séricos podrían indicar un aumento en la exposición bacteriana sistémica o un fenotipo hiperinflamatorio que puede predisponer a estas mujeres a una mayor respuesta inflamatoria y lesión fetal (Madianos y cols., 2013a).

### **1.5.2 Evidencia de estudios en humanos entre la periodontitis y los resultados adversos del embarazo**

Se ha descrito en la literatura una posible relación bidireccional entre los resultados adversos del embarazo y la enfermedad periodontal (Armitage, 2013; Sanz y cols., 2013) ya que ambas enfermedades se han correlacionado con infecciones bacterianas y un aumento de marcadores inflamatorios sistémicos.

En los estudios de casos-controles (tabla 1) que se han ido publicando en los últimos años, se identificaron pacientes embarazadas con resultados adversos del embarazo y se analizó su exposición a la enfermedad periodontal y se compararon con pacientes sanas, existiendo una evidencia controvertida; esta controversia en los resultados podría explicarse por las diferencias en los tamaños muestrales o por las diferencias raciales y socioeconómicas entre las poblaciones.

Por otra parte, existe una gran variación en el criterio para definir la enfermedad periodontal como medida de exposición; por ejemplo, algunos estudios utilizan el índice de necesidad de tratamiento periodontal de la comunidad (CPITN) (Haerian-Ardakani y cols., 2013), otros utilizan profundidad de sondaje sólo (Jacob & Nath, 2014) y la mayoría utilizan la combinación de profundidad de sondaje y pérdida de inserción (Abati y cols., 2013; Bassani y cols., 2007;

Gomes-Filho y cols., 2016; Martínez de Tejada y cols., 2012; Moore y cols., 2005; Vettore y cols., 2008).

Asimismo, no todos los estudios evaluaron la misma variable principal como resultados adversos del embarazo; algunos utilizaron el bajo peso al nacimiento, otros la asociación con el parto prematuro o incluso la preeclampsia.

Vettore y cols. (2008) estudiaron la relación entre los parámetros clínicos de la enfermedad periodontal y el parto prematuro en 542 mujeres después del parto, en este estudio se excluyeron mujeres con posibles factores de confusión como diabetes, hipertensión o toma de antibióticos. Los resultados del grupo de casos se dividieron en tres grupos: bajo peso (n=96), parto prematuro (n=110) y parto prematuro y bajo peso al nacimiento (n=63); y se compararon con partos a término en el grupo control (n=393). No se consideró la enfermedad periodontal como un factor de riesgo para los efectos adversos del embarazo.

Abati y cols. (2013) examinaron a 750 mujeres en Italia en un estudio multicéntrico en los cinco días siguientes a dar a luz y no observaron asociación entre el grado de enfermedad periodontal y los efectos adversos del embarazo, reportando unos datos de OR:1.0, IC95% 0.7-1.6 para periodontitis moderada y OR:1.2, IC95% 0.7-1.9 para periodontitis severa.

Martínez de Tejada y cols. (2012), examinaron a 429 pacientes en Suiza, se les realizó un examen periodontal de toda la boca y se observó una asociación significativa entre el parto prematuro y el estado periodontal (OR:2.38, IC 95% 1.36-4.14).

Jacob y Nath (2014) examinaron el estado periodontal de 340 mujeres después del parto en India, 170 mujeres formaron parte del grupo de casos y 170 del grupo control, se consideró un factor de riesgo significativo para el bajo peso al nacimiento (OR:2.85, IC 95% 1.62-5.5).

| Autor                      | Año  | Tamaño muestral | Definición de periodontitis                                                                                                                               | Resultados, OR                                                                                                                                   |
|----------------------------|------|-----------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Moore y cols.              | 2005 | 154             | VARIABLES (profundidad de sondaje y pérdida de inserción)                                                                                                 | No asociación entre la severidad de la enfermedad periodontal y los resultados adversos del embarazo                                             |
| Bassani y cols.            | 2007 | 715             | Número de localizaciones al menos 3, con más de 3mm de pérdida de inserción                                                                               | No asociación entre enfermedad periodontal y parto prematuro o parto prematuro y bajo peso al nacimiento                                         |
| Vettore y cols.            | 2008 | 542             | Frecuencia en la profundidad de sondaje y nivel de inserción                                                                                              | La enfermedad periodontal no es un factor de riesgo para el parto prematuro, bajo peso al nacimiento o parto prematuro y bajo peso al nacimiento |
| Martinez de tejada y cols. | 2012 | 429             | ≥2 localizaciones interproximales con pérdida de inserción ≥4mm, o 2 localizaciones interproximales con profundidad de sondaje ≥5mm no en el mismo diente | Se observó una asociación positiva entre la periodontitis y el PP (OR:2.38, IC 95% 1.36-4.14)                                                    |
| Abati y cols.              | 2013 | 750             | Periodontitis moderada ≥1 localización con pérdida de inserción 4-6mm<br>Periodontitis severa: ≥1 localización con pérdida de inserción ≥6mm              | No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los grupos.                                                                   |
| Haerian-Ardakani y cols.   | 2013 | 88              | CPITN (al menos un sextante con al menos una localización con una profundidad de sondaje >4mm)                                                            | Se observó una asociación significativa de la periodontitis con el bajo peso al nacimiento (p=0.006)                                             |
| Jacob y Nath               | 2014 | 340             | Al menos una localización con una profundidad de sondaje ≥4mm                                                                                             | Se observó una asociación positiva entre la periodontitis y el bajo peso al nacimiento (OR:2.85, IC 95% 1.62-5.5)                                |
| Gomes-Filho y cols.        | 2016 | 372             | ≥4 dientes con localizaciones por profundidad de sondaje ≥4mm y pérdida de inserción ≥3mm y sangrado al sondaje en la misma localización                  | Se observó una asociación estadísticamente significativa entre la periodontitis y el bajo peso al nacimiento (OR:6.02, IC 95% 2.47-15.17)        |

**Tabla 1.** Estudios de casos-controles en los que se analizó la enfermedad periodontal y los efectos adversos del embarazo como el parto prematuro y el bajo peso al nacimiento.

En los estudios de cohortes (tabla 2) publicados que han evaluado la posible asociación entre la enfermedad periodontal y los efectos adversos del embarazo, los investigadores siguieron durante un periodo de tiempo a mujeres embarazadas con enfermedad periodontal para ver si se observaba mayor incidencia de resultados adversos del embarazo que en las pacientes sin enfermedad periodontal. Al igual que en los estudios de casos-controles la evidencia es controvertida, ya que también varían en el tamaño muestral, la diversidad de poblaciones y criterios en la definición de la periodontitis.

Algunos estudios no observaron una asociación entre el parto prematuro y el estado periodontal (Al Habashneh y cols., 2013; Santa Cruz y cols., 2013; Wang y cols., 2013). Santa Cruz y cols. reportan datos de 170 pacientes, las cuales se examinaron antes de la semana 26 de gestación y de acuerdo al estado periodontal se dividieron en pacientes con periodontitis (n=54) y pacientes sin periodontitis (n=116). Los resultados no indicaron asociación entre el parto prematuro y el estado periodontal (OR 1.32, IC 95% 0.45-3.85), pero se relacionó la presencia de *Eikenella Corrodens* con el parto prematuro ( $p=0.02$ ).

Wang y cols. (2013) realizaron un examen periodontal completo a 211 pacientes embarazadas de menos de 26 semanas de gestación en Taiwan. Después del parto no se observó ninguna diferencia en la incidencia de efectos adversos.

Al Habashneh y cols. (2012) examinaron a las 20 semanas de gestación a 277 mujeres en Jordania, al analizar los datos obtenidos mediante un análisis univariante observaron que las pacientes con parto prematuro tenían mayores niveles de pérdida de inserción, pero no se observaron diferencias en la profundidad de sondaje, el RR para tener un parto prematuro por cada 1 mm de incremento en la pérdida de inserción fue de 12.28 (IC 95% 4.98-30.29).

Por otro lado, otros estudios con diferencias en las cohortes, si que observaron una asociación entre el estado periodontal materno y los efectos adversos del embarazo. Offenbacher y cols. (2006) analizaron a 1020 mujeres embarazadas entre la semanas 11 y 19 de gestación. La presencia y severidad de la enfermedad periodontal se determinó con el número de localizaciones con profundidades de sondaje  $\geq 4$ mm. Se observó una asociación significativa con el parto prematuro (RR 1.6, IC 95% 1.1-2.3) (Offenbacher, Boggess, y cols., 2006).

Agueda y cols. (2008) examinaron a 1296 mujeres españolas en la semana 20 de gestación. En los resultados del análisis multivariante observaron una mayor incidencia de casos de periodontitis en el grupo de pacientes con bajo peso al nacimiento (RR 1.77, IC 95% 1.08-2.08) (Agueda y cols., 2008).

Vogt y cols. (2010) analizaron una cohorte de 327 pacientes en Brasil en la semana 32 de gestación y definieron la enfermedad periodontal como la presencia de  $\geq 4$  dientes con localizaciones por profundidad de sondaje  $\geq 4$ mm y sangrado al sondaje en la misma localización. Cuando se analizaron los datos ajustando los factores de confusión se observó un RR 3.47 (IC 95% 1.62-7.43) asociado a la periodontitis (Vogt y cols., 2010).

Lohana y cols. (2017) (Lohana y cols., 2017) examinaron a 300 pacientes en la India entre las 20 y 24 semanas de gestación. El estado periodontal se dividió en periodontitis leve, moderada y severa en función de la pérdida de inserción. Los resultados observaron una asociación estadísticamente significativa entre la enfermedad periodontal y la edad gestacional ( $p < 0.001$ ) (Lohana y cols., 2017).

| Autor                | Año  | Tamaño muestral | Definición de periodontitis                                                                                                                              | Resultados, OR                                                                                                                                                                                |
|----------------------|------|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Offenbacher y cols.  | 2006 | 1020            | Número de localizaciones con profundidad de sondaje $\geq 4$ mm                                                                                          | Se observó asociación entre la periodontitis y el parto prematuro (RR 1.6, IC 95% 1.1-2.3)                                                                                                    |
| Agueda y cols.       | 2008 | 1296            | $\geq 4$ dientes con localizaciones por profundidad de sondaje $\geq 4$ mm y pérdida de inserción $\geq 3$ mm                                            | Una regresión logística multivariante observó un efecto significativo entre el estado periodontal y el parto prematuro (RR 1.77, IC95% 1.08-2.08)                                             |
| Vogt y cols.         | 2010 | 327             | $\geq 4$ dientes con localizaciones por profundidad de sondaje $\geq 4$ mm y sangrado al sondaje                                                         | Un análisis multivariante mostró un RR 3,47 (IC 95% 1.62-7.43) para el parto prematuro asociado con la periodontitis.                                                                         |
| Al Habashneh y cols. | 2012 | 277             | $\geq 4$ dientes con localizaciones por profundidad de sondaje $\geq 4$ mm y pérdida de inserción $\geq 3$ mm                                            | No se observó asociación con la profundidad de sondaje pero sí con la media de pérdida de inserción y con extensión y severidad para el bajo peso al nacimiento (RR: 12.28 IC 95% 4.98-30.29) |
| Santa Cruz y cols.   | 2013 | 170             | $\geq 15$ localizaciones con pérdida de inserción $\geq 3$ mm                                                                                            | No se observaron asociación entre el parto prematuro y la enfermedad periodontal (OR:1.32, IC 95% 0.45-3.85)                                                                                  |
| Wang y cols.         | 2013 | 211             | $>5\%$ de sangrado al sondaje con $>6$ mm pérdida de inserción en $\geq 2$ localizaciones y $\geq 1$ localización con profundidad de sondaje de 5mm      | No se observaron diferencias en la incidencia de parto prematuro ( $p=0.08$ )                                                                                                                 |
| Tellapragada y cols. | 2016 | 726             | CPI (Índice periodontal comunitario), profundidad de sondaje de al menos 4mm (puntuación de $CPI \geq 3$ ) entre cualquiera de los 6 dientes examinados. | Se observó una asociación entre el parto prematuro (RR: 2.39 IC95% 1.1-4.9) y el bajo peso al nacimiento (RR:3.38 IC95% 1.6-6.9) con la periodontitis                                         |
| Lohana y cols.       | 2017 | 300             | Periodontitis leve: pérdida de inserción 1-2mm<br>Periodontitis moderada: pérdida de inserción 3-4mm<br>Periodontitis severa: $>5$ mm                    | Se observó asociación estadísticamente significativa entre el nivel de enfermedad periodontal y la edad gestacional ( $p < 0.001$ )                                                           |

**Tabla 2.** Estudios de prospectivos de cohortes en los que se analizó la enfermedad periodontal y los afectos adversos del embarazo como el parto prematuro y el bajo peso al nacimiento.

Los datos de los estudios prospectivos son contradictorios, aunque existe una proporción de estudios que sugieren una asociación entre el deterioro del estado periodontal y una mayor incidencia en los resultados adversos del embarazo. Una revisión sistemática y metanálisis recientes (Petrini y cols., 2017), realizada como una actualización a la revisión sistemática publicada por Ide y Papapanou (Ide & Papapanou, 2013), obtuvieron resultados estadísticamente significativos después de ajustar las variables para el parto prematuro RR:1.93 (IC95% 1.12-2.73), aunque los estudios analizados presentaban un alto grado de heterogeneidad entre los que se incluyen el tipo de examen que se realiza, la calibración de los examinadores, el momento de la gestación en la que se realiza, las definiciones de periodontitis que se han utilizado, así como la diversidad étnica de las poblaciones que se incluyen. Además, hay que tener en cuenta que en estos tipos de estudios el impacto de los análisis estadísticos en el ajuste de los factores de confusión es crucial para entender la plausibilidad de la asociación (Bobetsis y cols., 2020).

### **1.5.3 Evidencia de los efectos del tratamiento periodontal en los resultados adversos del embarazo**

Debido a las evidencias de asociación entre la periodontitis y las complicaciones de la gestación, se han realizado estudios de intervención para intentar determinar el efecto del tratamiento periodontal en los resultados adversos del embarazo y si es un factor de riesgo independiente para los resultados adversos del embarazo.

El tratamiento periodontal no quirúrgico que se lleva a cabo en los estudios, se incluye la remoción de placa supra y subgingival y el desbridamiento radicular. Se han publicado numerosos estudios, alguno de los cuales observaron que la prevalencia de partos prematuros se redujo en mujeres con enfermedad periodontal que

recibieron tratamiento periodontal (Jeffcoat y cols., 2011; Lopez y cols., 2005; Offenbacher, Lin, y cols., 2006; Radnai y cols., 2009; Sadatmansouri y cols., 2006; Tarannum & Faizuddin, 2007). Estos datos contradicen otros estudios, en los que no se observan efectos positivos del tratamiento periodontal sobre los resultados adversos del embarazo (Jeffcoat y cols., 2003; Macones y cols., 2010; Michalowicz y cols., 2006; Newnham y cols., 2009; Offenbacher y cols., 2009; Pirie y cols., 2013; Reddy y cols., 2014).

Los datos que hay publicados con respecto a la terapia periodontal en la prevención de los efectos adversos del embarazo son muy dispares y controvertidos, probablemente, debido a diferencias en los criterios de diagnóstico de la periodontitis, a la definición de la variable principal, a las diferencias en los tratamientos recibidos en el grupo test y en el grupo control u otras condiciones comunes a ambas patologías como pueden ser el hábito tabáquico y la raza.

Así, por ejemplo, en cuanto a los criterios de diagnóstico de la periodontitis, las diferencias en la severidad y la extensión pueden haber influenciado en los resultados del tratamiento. En este sentido, en el estudio publicado por Offenbacher y cols. en el 2006, en el que se observaron beneficios del tratamiento periodontal en los resultados adversos del embarazo, las pacientes con periodontitis tenían al menos dos localizaciones en diferentes dientes con profundidad de sondaje de 5mm y evidencia de pérdida de inserción (Offenbacher, Lin, y cols., 2006). Por otro lado, Macones y cols. en el año 2010, concluyeron que la realización del tratamiento periodontal no tuvo ninguna influencia sobre los resultados del embarazo, y la periodontitis se clasificó como profundidades de sondaje  $\geq 3\text{mm}$  en más de 3 dientes (Macones y cols., 2010).

Los ensayos clínicos aleatorizados publicados difieren también en el análisis que realizan de la variable principal; así estudios como los publicados por Michalowicz y cols. (2006) y Offenbacher y cols. (2009) consideraron todos los eventos adversos ocurridos antes de las 37 semanas de gestación (abortos espontáneos, partos prematuros inducidos médicamente) como resultado primario (Michalowicz y cols., 2006; Offenbacher y cols., 2009). Otros estudios consideraron estos eventos adversos después de la aleatorización como eventos separados (Macones y cols., 2010); o los excluyeron (Lopez y cols., 2005; Oliveira y cols., 2011) mientras que otros ni siquiera informaron de la existencia o no de estos eventos adversos, por lo que no se puede determinar si se excluyeron o no fueron siquiera observados (Jeffcoat y cols., 2003; Offenbacher, Boggess, y cols., 2006; Radnai y cols., 2009).

Asimismo, también encontramos diferencias en los estudios en cuanto a las estrategias de tratamiento; así existen estudios en los que se realiza desbridamiento mecánico supra y subgingival y, posteriormente, con periodicidad mensual las pacientes reciben mantenimientos hasta el momento del parto (Michalowicz y cols., 2006), mientras que en otros estudios no existe seguimiento (Macones y cols., 2010). En la mayoría de los estudios se realiza tratamiento periodontal no quirúrgico en el grupo test, consistente en instrucciones en higiene oral y desbridamiento radicular; sin embargo, en el estudio llevado a cabo en Chile, las pacientes embarazadas que recibieron tratamiento periodontal no quirúrgico durante el embarazo tuvieron una reducción en los afectos adversos, como el parto prematuro y el bajo peso al nacimiento de un 10.11% en el grupo control frente a un 1.84% en el grupo test. Sin embargo, las mujeres con periodontitis severa (18%) en el grupo de tratamiento, recibieron terapia adjunta antibiótica de metronidazol y amoxicilina que pudo, no sólo controlar la microbiota oral, sino también afectar a la microbiota vaginal (Lopez

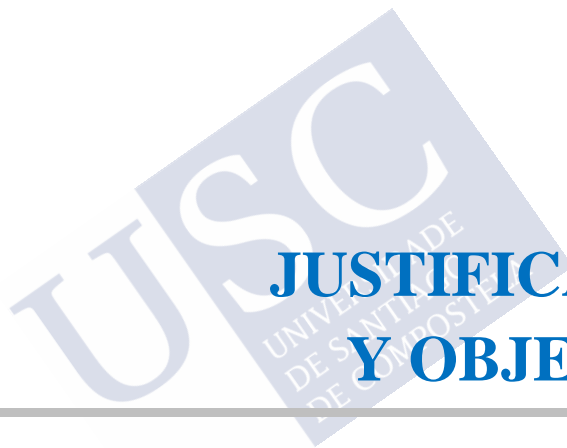
y cols., 2002). En el estudio publicado por Jeffcoat y cols. (2003), también se les administró a las pacientes metronidazol como terapia adjunta al tratamiento periodontal no quirúrgico en uno de los tres grupos de tratamiento, sin embargo, no se observaron efectos sobre las tasas de parto prematuro en comparación con el grupo control (Jeffcoat y cols., 2003)

También existen diferencias en los grupos control, en la mayoría de los estudios el grupo control no recibe tratamiento periodontal durante el embarazo (Fiorini y cols., 2013; Lopez y cols., 2005; Lopez y cols., 2002; Offenbacher y cols., 2001), el cual se pospone hasta después de la gestación. Otros estudios no tienen grupo control (Kaur y cols., 2014) o el grupo control recibe profilaxis supragingival que puede alterar los niveles de inflamación y la proporción de patógenos, especialmente en bolsas poco profundas (Macones y cols., 2010).

El periodo de gestación para las intervenciones periodontales también es un parámetro a tener en cuenta cuando se intenta observar el efecto del tratamiento periodontal en los resultados adversos del embarazo. Estudios publicados como el del Offenbacher y cols. (2001), en el que se observó una reducción de 3.8 veces el riesgo de parto prematuro en las pacientes que recibieron tratamiento periodontal no quirúrgico en comparación con el grupo que recibió el tratamiento después del parto (Offenbacher y cols., 2001). Sin embargo, no hay datos para poder comparar el efecto del tratamiento periodontal antes del momento de la concepción, la mayoría de los estudios realizan la selección de las pacientes entre las semanas 14-20 de gestación. Estudios con animales indicaron que los resultados adversos del embarazo incluyendo el bajo peso dependen del periodo de infección, así una infección aguda inmediatamente después de la concepción o en mitad de la gestación puede producir mayor daño al feto que una infección al inicio de la gestación (Michelin y cols., 2012).

| Autor               | Año  | Tamaño muestral                             | Tratamiento                                                                                                                                                                                               | Resultados                                    |
|---------------------|------|---------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| Jeffcoat y cols.    | 2003 | Grupo test (n=243)<br>Grupo control (n=123) | Grupo test: tratamiento periodontal no quirúrgico (raspado y alisado radicular y pulido), instrucciones en higiene oral y mantenimientos.<br>Grupo control: NT.                                           | Parto prematuro<br>OR 0.92 (IC 95% 0.46-1.86) |
| Lopez y cols.       | 2005 | Grupo test (n=553)<br>Grupo control (n=281) | Grupo test: tratamiento periodontal no quirúrgico (raspado y alisado radicular y pulido), instrucciones en higiene oral y CHX 0.12%.<br>Grupo control: NT                                                 | Parto prematuro<br>OR 0.25 (IC95% 0.11-0.59)  |
| Offenbacher y cols. | 2006 | Grupo test (n=35)<br>Grupo control (n=32)   | Grupo test: tratamiento periodontal no quirúrgico (raspado y alisado radicular y pulido) e instrucciones en higiene oral.<br>Grupo control: desbridamiento supragingival.                                 | Parto prematuro<br>OR 0.26 (IC95% 0.08-0.85)  |
| Michalowicz y cols. | 2006 | Grupo test (n=413)<br>Grupo control (n=410) | Grupo test: tratamiento periodontal no quirúrgico (raspado y alisado radicular y pulido), instrucciones en higiene oral y mantenimientos.<br>Grupo control: NT.                                           | Parto prematuro<br>RR 0.93 (IC95% 0.63-1.37)  |
| Taranum y cols.     | 2007 | Grupo test (n=99)<br>Grupo control (n=89)   | Grupo test: tratamiento periodontal no quirúrgico (raspado y alisado radicular y pulido), instrucciones de higiene oral y mantenimientos.<br>Grupo control: instrucciones de higiene oral                 | Parto prematuro<br>OR 0.65 (IC95% 0.51-0.82)  |
| Offenbacher y cols. | 2009 | Grupo test (n=903)<br>Grupo control (n=903) | Grupo test: tratamiento periodontal no quirúrgico (raspado y alisado radicular y pulido) e instrucciones en higiene oral.<br>Grupo control: NT                                                            | Parto prematuro<br>OR 1.22 (IC95% 0.09-1.66)  |
| Radnai y cols.      | 2009 | Grupo test (n=41)<br>Grupo control (n=42)   | Grupo test: tratamiento periodontal no quirúrgico (raspado y alisado radicular y pulido) e instrucciones en higiene oral.                                                                                 | Parto prematuro<br>OR 0.29 (IC95% 0.12-0.77)  |
| Newham y cols.      | 2009 | Grupo test (n=538)<br>Grupo control (n=540) | Grupo test: tratamiento periodontal no quirúrgico (raspado y alisado radicular y pulido) e instrucciones en higiene oral.<br>Grupo control: NT                                                            | Parto prematuro<br>RR 1.02 (IC95% 0.91-1.15)  |
| Macones y cols.     | 2010 | Grupo test (n=378)<br>Grupo control (n=379) | Grupo test: tratamiento periodontal no quirúrgico (raspado y alisado radicular)<br>Grupo control: desbridamiento supragingival.                                                                           | Parto prematuro<br>OR 1.29 (IC95% 0.85-1.95)  |
| Jeffcoat y cols.    | 2011 | Grupo test (n=160)<br>Grupo control (n=162) | Grupo test: tratamiento periodontal no quirúrgico (raspado y alisado radicular y pulido) e instrucciones en higiene oral.<br>Grupo control: instrucciones de higiene oral.                                | Parto prematuro<br>OR 6.02 (IC95% 2.57-14.03) |
| Pirie y cols.       | 2013 | Grupo test (n=49)<br>Grupo control (n=50)   | Grupo test: tratamiento periodontal no quirúrgico (raspado y alisado radicular y pulido) e instrucciones en higiene oral.<br>Grupo control: instrucciones de higiene oral y desbridamiento supragingival. | Parto prematuro<br>RR 4.08 (IC95% 0.47-35.24) |

**Tabla 3.** Estudios controlados aleatorizados en los que se evaluó el efecto del tratamiento periodontal en los efectos adversos del embarazo.



# **JUSTIFICACI3N Y OBJETIVOS**

---



## 2 JUSTIFICACIÓN Y OBJETIVOS

### 2.1 JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS

#### 2.1.1 Justificación

Los estudios publicados han sugerido que la enfermedad periodontal podría ser un factor de riesgo para el parto prematuro y/o bajo peso al nacimiento, debido a su naturaleza infecciosa e inflamatoria (Goldenberg & Culhane, 2006). La translocación de patógenos periodontales, citoquinas proinflamatorias y prostaglandinas de la cavidad oral al útero y a la unidad feto-placentaria proporcionan un mecanismo biológico plausible para la asociación entre la enfermedad periodontal y los resultados adversos del embarazo (Han y cols., 2004).

Los estudios observacionales publicados han mostrado resultados contradictorios; así algunos de los estudios -de casos y controles, y prospectivos- observaron una asociación significativa entre la periodontitis y los resultados adversos del embarazo (Dortbudak y cols., 2005; Offenbacher y cols., 1996; Siqueira y cols., 2007), mientras que otros no han podido demostrar esta asociación (Davenport y cols., 2002; Mitchell-Lewis y cols., 2001; Noack y cols., 2005).

La prevalencia y la incidencia de síntomas de inflamación gingival y de enfermedad periodontal son significativamente mayores en mujeres embarazadas y se han asociado con la edad gestacional, obesidad, consumo de tabaco, origen racial, nivel educacional y edad

materna (Taani y cols., 2003; Vogt y cols., 2012; Yalcin y cols., 2002).

Existe una gran heterogeneidad en los resultados que pueden ser debidos entre otras causas a la definición de la periodontitis que se ha utilizado en los estudios. Manau y cols. (2008) encontraron 14 definiciones diferentes y mas de 50 mediciones continuas de enfermedad periodontal en 23 estudios. Además, cuando los investigadores aplicaron estas definiciones de periodontitis a los mismos datos de 1296 mujeres, la prevalencia de enfermedad periodontal varió entre 2.2% y 70.8% (Manau y cols., 2008). Por lo tanto, la asignación de mujeres embarazadas en el grupo de enfermedad periodontal o no enfermedad periodontal, según la definición de periodontitis, podría afectar en gran medida el resultado de los estudios.

En general, los datos de los estudios prospectivos son contradictorios. No obstante, existe una parte de la literatura publicada que sugiere una asociación entre el deterioro periodontal y una mayor incidencia de los resultados adversos del embarazo (Petrini y cols., 2017). Con todo, los estudios epidemiológicos consideran que se produce una asociación entre dos condiciones cuando estas coexisten, pero, para poder evaluar si dicha asociación es real o es de naturaleza causal, es necesario la realización de estudios de intervención, ya que en estas investigaciones la causalidad puede estar implícita en la eliminación de la exposición (enfermedad periodontal) para reducir el riesgo de resultados adversos del embarazo.

## **2.1.2 Hipótesis**

### **2.1.2.1 Hipótesis nula**

El tratamiento periodontal en las pacientes embarazadas con periodontitis no tiene efecto sobre el riesgo de tener parto prematuro/bajo peso al nacimiento.

### **2.1.2.2 Hipótesis alternativa**

El tratamiento periodontal en las pacientes embarazadas con enfermedad periodontal disminuye o aumenta el riesgo de tener parto prematuro/bajo peso al nacimiento.

## **2.2 OBJETIVOS**

### **2.2.1 Objetivo principal**

Analizar si el tratamiento periodontal no quirúrgico de la periodontitis en las pacientes embarazadas puede reducir los resultados adversos del embarazo.

### **2.2.2 Objetivos secundarios**

Valorar los cambios clínicos, bioquímicos y microbiológicos que se producen durante la gestación.





# **MATERIAL Y MÉTODOS**

---



## 3 MATERIAL Y MÉTODOS

### 3.1 PACIENTES

El protocolo del presente estudio fue aprobado por el Comité de Ética de la Investigación de Santiago-Lugo (451/2016) (Anexo 1).

#### 3.1.1 Población de estudio

La población de referencia fue conformada en base a un reclutamiento consecutivo de mujeres embarazadas con periodontitis que acudieron al Servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela entre junio de 2017 y mayo de 2018. A todas las pacientes que acudieron se les ofreció la posibilidad de participar en el estudio, y se les realizó un breve screening para determinar si cumplían los criterios de inclusión tanto a nivel ginecológico como de parámetros clínicos periodontales.

Criterios de inclusión:

Mujeres caucásicas embarazadas (edad gestacional  $\leq 16$  semanas).

Edades comprendidas entre los 18 y los 40 años.

Presencia de más de 20 dientes.

Diagnosticadas de periodontitis.

Criterios de exclusión:

Gestación múltiple

Parto prematuro previo

Más de un aborto previo o uno superior a 18 semanas de gestación.

Historia de diabetes  
Hipertensión  
Alcoholismo  
Abuso de drogas  
Virus de la inmunodeficiencia humana (VIH)  
Enfermedades cardíacas, renales o hepáticas.  
Cistitis de repetición  
Infecciones víricas, venéreas o toxoplasmosis.  
Fumadoras

Una vez que se determinó la inclusión de las pacientes en el estudio, se les proporcionó información sobre el estudio, de sus beneficios y riesgos, así como del carácter voluntario del mismo. Para ello se les entregó un consentimiento informado que firmaron antes del estudio.

### **3.1.2 Aleatorización**

La población de estudio fue dividida en dos grupos en base a la realización o no del tratamiento periodontal (test y control) de acuerdo a una aleatorización previa generada mediante el programa estadístico Epidat v.4.1(Consejería de Sanidad, Xunta de Galicia, España). La asignación se realizó mediante sobres sellados y etiquetados con el número de estudio que contenían el grupo de aleatorización. El grupo test correspondía con los pacientes que recibían tratamiento periodontal no quirúrgico y el grupo control se conformó con las pacientes que no lo recibían.

### **3.2 TIPO DE ESTUDIO**

Se diseñó un estudio clínico controlado y aleatorizado, en el que se incluyeron pacientes embarazadas con periodontitis de acuerdo con la Declaración de Helsinki y según las directrices CONSORT.

### **3.3 CONSENTIMIENTO INFORMADO**

Las pacientes recibieron por parte de la investigadora la información relacionada con el objetivo y las características del estudio de forma clara y detallada para poder participar en el mismo de forma voluntaria. Para ello se les entregó una hoja de información al paciente y una hoja de consentimiento informado que leyeron, comprendieron y firmaron antes del estudio.

### **3.4 DISEÑO DEL ESTUDIO**

#### **3.4.1 Calibración del examinador**

La calibración del examinador se realizó mediante el índice kappa para la variable de índice de placa y se utilizó el coeficiente de correlación intraclase (ICC) para la variable clínica de profundidad de sondaje en base a 10 pacientes con periodontitis que acudieron de manera consecutiva al Máster de Periodoncia de la Universidad de Santiago de Compostela. A estos pacientes se les realizaron dos mediciones de profundidad de sondaje e índice de placa a boca completa con una semana de intervalo entre ambas.

De acuerdo a los datos recopilados se calculó la concordancia intraexaminador siendo el valor  $k$  de 0.82 (IC 95%=0.68-0.98) y el valor del ICC de 0.92 (IC 95%=0.89-0.96) (Cohen, 1960).

### 3.4.2 Secuencia del estudio

#### 3.4.2.1 Visita de selección

En esta primera visita se le explicó a las pacientes el objetivo del estudio, se les entregó la hoja de información, y se les realizó un cuestionario así como un screening periodontal para establecer si la paciente cumplía los criterios de inclusión y exclusión del estudio. Finalmente se le entregó la hoja de información y el consentimiento informado.

Una vez aceptado y firmado, se completó el cuestionario general en el que se incluían las variables demográficas y socioeconómicas y la historia médica y oral.

Dentro del cuestionario de las variables demográficas y socioeconómicas se consideraron:

- Estado civil (soltera, casada, pareja de hecho, separada).
- Nivel de estudios (primarios, secundarios, universitarios)
- Residencia (rural o urbana)

Dentro de la historia médica se consideraron:

- Edad
- Índice de masa corporal (IMC)
- Número de gestaciones previas
- Número de abortos previos

#### 3.4.2.2 Visita 1<sup>er</sup> trimestre

Esta segunda visita se realizó antes de las 16 semanas de gestación y en ambos grupos se registraron las variables clínicas

periodontales, además se tomaron las muestras serológicas para el análisis de las variables bioquímicas.

### 3.4.2.3 Visita 2º trimestre

La visita del segundo trimestre se realizó entre las semanas 22 y 24 de gestación en ella en ambos grupos se registraron nuevamente las variables clínicas periodontales y se tomaron las muestras serológicas y se recogieron las muestras microbiológicas. Además en el grupo test se realizó el tratamiento periodontal, mientras que las pacientes del grupo control recibieron instrucciones de higiene oral y tartrectomía supragingival.

### 3.4.2.4 Visita 3º trimestre

Esta visita se realizó entre las semanas 33 y 36 de gestación, en esta visita en ambos grupos se registraron nuevamente las variables clínicas periodontales y se tomaron muestras serológicas y microbiológicas.

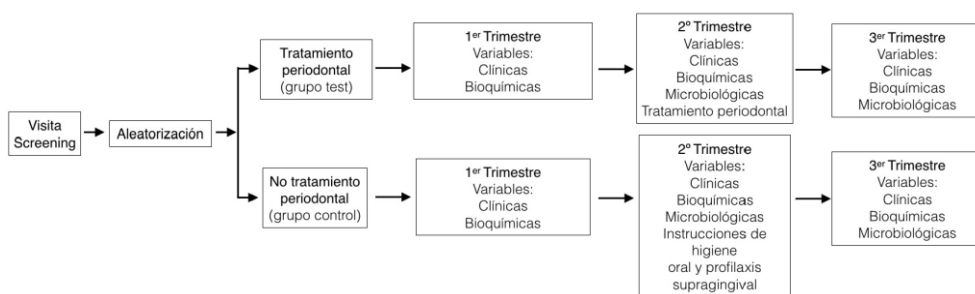


Figura 4. Esquema general del estudio

### **3.5 VARIABLES DE ESTUDIO**

#### **3.5.1 Variable principal**

Se definió parto prematuro como aquel ocurrido antes de haberse completado las 37 semanas de gestación y se definió bajo peso al nacimiento cuando el recién nacido tiene un peso inferior a 2500gr (Organización Mundial de la Salud).

#### **3.5.2 Variables demográficas y socioeconómicas**

Las variables demográficas y socioeconómicas se registraron en la primera visita, se incluyeron:

Edad

Nivel educacional (estudios primarios, secundarios o universitarios)

Residencia (rural o urbana, en función del número de habitantes)

Estado civil (soltera, pareja de hecho o casada)

#### **3.5.3 Variables obstétricas**

En la visita del primer trimestre se registró el índice de masa corporal (peso y altura) e historia obstétrica (número de embarazos previos y abortos previos). Después del parto además de las variables principales se registraron el sexo del recién nacido y el tipo de parto (vaginal o cesárea).

### 3.5.4 Variables clínicas periodontales

Las variables clínicas se registraron en el primer trimestre, en el segundo antes de la realización del tratamiento periodontal no quirúrgico y en el tercer trimestre. Todas las mediciones se realizaron con una sonda periodontal UNC-15 (Hu-Friedy, Chicago, IL, USA). Las variables clínicas incluidas son:

#### 3.5.4.1 Índice de placa

Se analizaron cuatro superficies dentarias (mesial, medial, distal, lingual/palatino). Se calculó dividiendo el número de superficies con placa entre el número total de superficies analizadas y multiplicándolo por 100, dando como resultado un porcentaje (O'Leary y cols., 1972).

#### 3.5.4.2 Índice de sangrado al sondaje

Se analizaron cuatro superficies dentarias (mesial, medial, distal, lingual/palatino). Se calculó dividiendo el número de superficies con sangrado al sondaje entre el número total de localizaciones analizadas y multiplicándolo por 100, dando como resultado un porcentaje (Ainamo & Bay, 1975)

#### 3.5.4.3 Profundidad de sondaje

Mide la distancia desde el margen gingival hasta el fondo de la bolsa periodontal.

#### 3.5.4.4 Recesión

Mide la distancia desde la unión amelo-cementaria hasta el margen gingival libre.

#### 3.5.4.5 Nivel de inserción clínica

Se obtuvo mediante la suma de la profundidad de sondaje y la recesión gingival. El nivel de inserción clínica perdido permite determinar el grado de afectación de la enfermedad periodontal.

#### 3.5.4.6 Definición de periodontitis

Se definió periodontitis según el último World Workshop in Periodontology en 2018 (Tonetti y cols., 2018):

Pérdida de inserción clínica interdental en dos o más dientes no adyacentes o bien, una pérdida de inserción vestibular  $\geq 3$ mm con bolsas de  $>3$ mm en dos o más dientes, pero esta pérdida de inserción no puede estar relacionada con: recesión gingival por razones traumáticas, caries en la región cervical, pérdida de inserción clínica en la cara distal de un segundo molar (posiblemente asociada a una malposición o extracción del tercer molar), lesión endodóntica o fractura radicular vertical.

### 3.5.5 Variables bioquímicas

Se tomaron muestras serológicas de las pacientes en el Servicio de Ginecología y Obstetricia del Hospital Clínico Universitario de Santiago de Compostela con punción venosa usando un tubo de vacío (Vacutainer, Nippon Becton Dickinson Tokyo, Japon), en cada una de las visitas que realizaron las pacientes embarazadas durante la gestación. Las muestras se centrifugaron a

2500 rpm durante 10 minutos y el suero obtenido se disoció en un tubo de plástico. En el momento de los análisis, la concentración sérica de interleuquina-6 (IL-6), interleuquina-8 (IL-8), interleuquina-1 $\beta$  (IL-1 $\beta$ ), factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), proteína C reactiva (PCR) y el fibrinógeno, se determinaron usando inmunoensayos ligados a enzimas (ELISA) comercialmente disponibles.

### 3.5.6 Variables microbiológicas

En la mitad del segundo trimestre (22-24 semanas de gestación) y en el tercer trimestre (33-36 semanas de gestación) en ambos grupos, se seleccionaron cuatro localizaciones, las de mayor profundidad de sondaje en cada cuadrante y se insertaron dos puntas de papel de manera consecutiva y se mantuvieron durante 10 segundos. Posteriormente se transfirieron a un vial con 1.5ml de medio de transporte reducido (Reduced Transport Fluid, RTF) (Syed & Loesche, 1972). El medio RTF es un medio de transporte reducido que permite que las muestras se mantengan y puedan ser inoculadas en as subsiguientes 24 horas después de la toma, debido a que una vez transcurrido ese tiempo desde la toma de muestra, las proporciones de los microorganismos anaerobios en la muestra pueden disminuir por el sobrecrecimiento de bacilos entéricos gram negativos en el medio de transporte.

Las muestras obtenidas se dispersaron mediante un vortex durante 30 segundos, posteriormente se realizaron diluciones y se procesaron para su cultivo mediante su inoculación en dos medios diferentes: Medio Agar-Sangre al 5% de sangre de caballo (Oxoid no.2, Oxoid Ltd, Basingtoke, UK), suplementado con hemina (5mg/l) y menadiona (1mg/l) y Medio selectivo Dentaïd-1 (Alsina y cols., 2001). El medio Agar-Sangre se incubó durante 14 días en estufa a 37°C y en jarras de anaerobiosos con 80% de N<sub>2</sub>, 10% de CO<sub>2</sub> y el Medio Dentaïd-1 se

incubó durante 2-3 días en estufa de 37°C en una atmósfera con un 5% de CO<sub>2</sub>.

*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Parvimonas micra*, *Campylobacter restus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Eikenella corrodens*, *Capnocytophaga spp* se identificaron en base a su morfología celular y aerotolerancia y se confirmó mediante pruebas bioquímicas específicas (Rapid ID 32<sup>a</sup>, BioMerieux SA, Le-Blame-les-Grottes, Francia). *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* crece en el medio Dentaid-1 y su identificación se llevó a cabo en base a la morfología de la colonia y la reacción a la catalasa. Se determinarán así los recuentos bacterianos totales mediante el total de unidades formadoras de colonias (total UFC/ml), así como recuentos absolutos y porcentajes de los distintos patógenos respecto a la flora total.

### 3.6 TRATAMIENTO PERIODONTAL

Las pacientes del grupo test recibieron tratamiento periodontal no quirúrgico, el cual se completó entre las semanas 22 y 24 de gestación. El tratamiento consistió en instrucciones de higiene oral, seguidas de un desbridamiento mecánico supra y subgingival y manual con curetas Gracey (Hu-Friedy, Chicago, IL, EEUU). Este tratamiento se llevó a cabo en dos sesiones de una hora de duración en el Departamento de Periodoncia de la Universidad de Santiago de Compostela.

El grupo control recibió una limpieza profesional, que consistió en instrucciones de higiene oral y un desbridamiento supragingival. A todas las pacientes del grupo control se les ofreció la posibilidad de recibir el tratamiento periodontal no quirúrgico una vez finalizada la gestación.

## 3.7 ANÁLISIS ESTADÍSTICO

### 3.7.1 Cálculo de tamaño muestral

El cálculo de tamaño muestral se calculó utilizando el programa PASS v.12 (NCSS, LCC; Kaysville, UT, USA) con un 80% de potencia, un nivel de significancia de 0.05, el tamaño muestral se estableció en 40 pacientes.

### 3.7.2 Análisis de los datos

Se realizó un análisis estadístico descriptivo de todas las variables analizadas. Se determinó la normalidad de la muestra mediante el *test* de *Kolmorov-Smirnov*. En las variables con una distribución normal se aplicaron test paramétricos (*T de Student* para variables continuas y *Chi-Cuadrado* para variables categóricas). Las variables que tenían una distribución no normal se analizaron mediante *U-Mann Whitney* para variables continuas y *Chi-Cuadrado* para variables categóricas.

El análisis multivariante se realizó utilizando un análisis de covarianza (*ANCOVA*), siendo parto prematuro y peso al nacimiento las variables dependientes y la edad, índice de masa corporal y el tratamiento periodontal las variables independientes.

El nivel de significación estadística se estableció en  $p < 0.05$  con un intervalo de confianza del 95%. El software utilizado fue SPSS para Windows versión 20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, EEUU).





# RESULTADOS

---

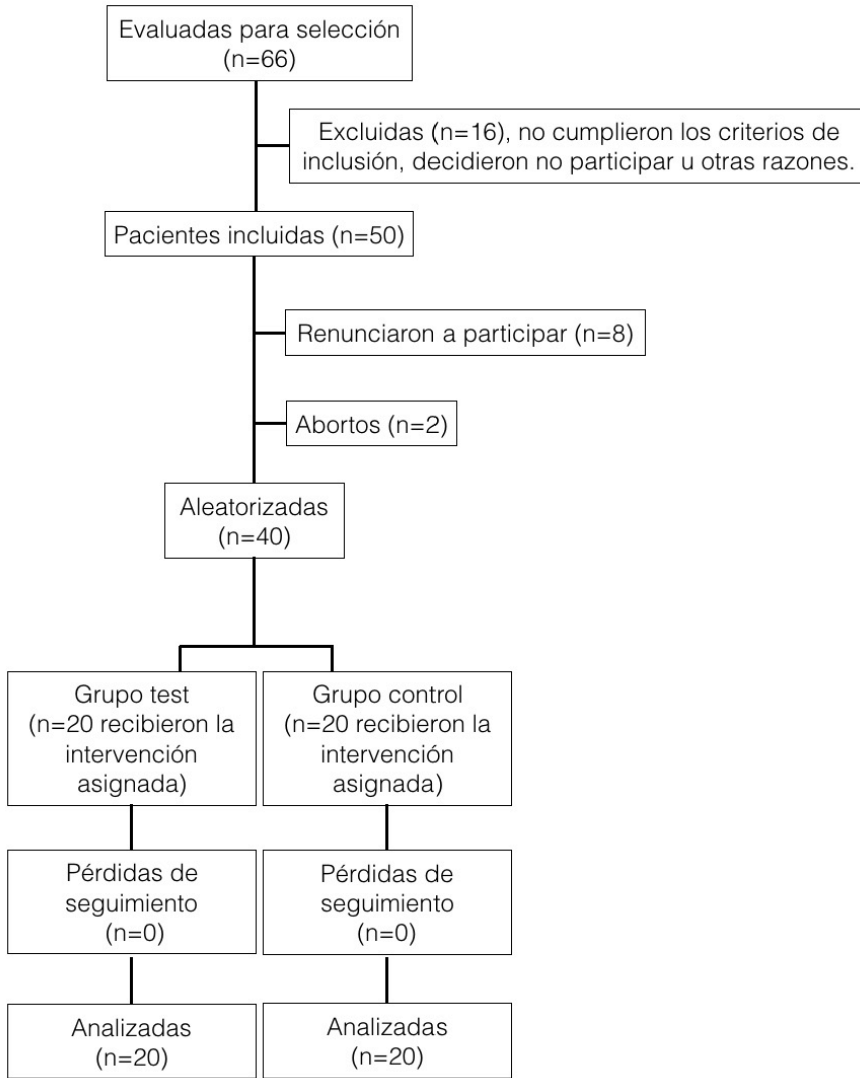


## 4 RESULTADOS

### 4.1 DESCRIPCIÓN DE LA MUESTRA

Inicialmente se evaluaron 66 pacientes, de las cuales 50 cumplieron los criterios de inclusión. Ocho pacientes rechazaron participar y dos sufrieron abortos. Finalmente, 40 pacientes embarazadas diagnosticadas de periodontitis estadio II grado B se aleatorizaron en dos grupos, 20 pacientes recibieron tratamiento periodontal no quirúrgico (grupo test), y 20 pacientes no recibieron el tratamiento periodontal (grupo control), como se puede observar en el diagrama de flujo (Fig.5).





**Figura 5.** Diagrama de flujo para observar el progreso de las participantes durante el estudio.

## 4.2 VARIABLES DEMOGRÁFICAS Y SOCIOECONÓMICAS

### 4.2.1 Edad

La media de edad de las pacientes del estudio fue de  $32.19 \pm 4.25$  años. En el grupo tratamiento fue de  $32.14 \pm 4.27$  años y en el grupo no tratamiento fue de  $32.25 \pm 4.21$  años, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos ( $p \geq 0.05$ ).

|                             | Grupo test<br>(n=20) | Grupo control<br>(n=20) | p             |
|-----------------------------|----------------------|-------------------------|---------------|
| Edad (años, media $\pm$ DE) | $32.14 \pm 4.27$     | $32.25 \pm 4.21$        | $p \geq 0.05$ |

Tabla 4. Edad de las pacientes. *T de Student*

### 4.2.2 Nivel educacional

Las pacientes que conformaron la muestra habían cursado estudios primarios un 30% en el grupo test y un 40% el grupo control. Un 30% de las pacientes del grupo control y un 40% del grupo test habían cursado además estudios secundarios, finalmente un 30% de ambos grupos habían cursado estudios universitarios.

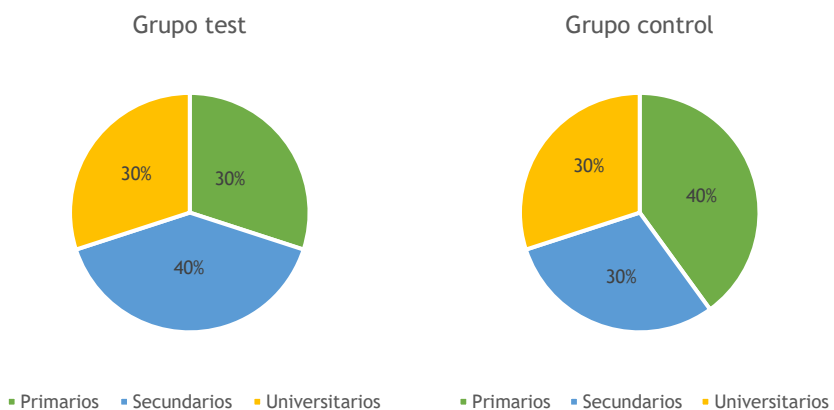


Figura 6. Nivel educacional. Estadística descriptiva

### 4.2.3 Residencia

Las pacientes que conformaron la muestra residían en su mayoría en zonas rurales, sólo un 10% de las pacientes del grupo control y un 30% de las pacientes del grupo test residían en un medio urbano.

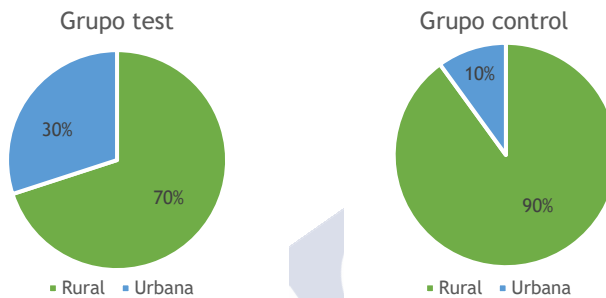


Figura 7. Residencia. Estadística descriptiva

### 4.2.4 Estado civil

Las pacientes estaban en su mayoría casadas o con pareja de hecho en ambos grupos. En el grupo control un 10% de la muestra estaba soltera.

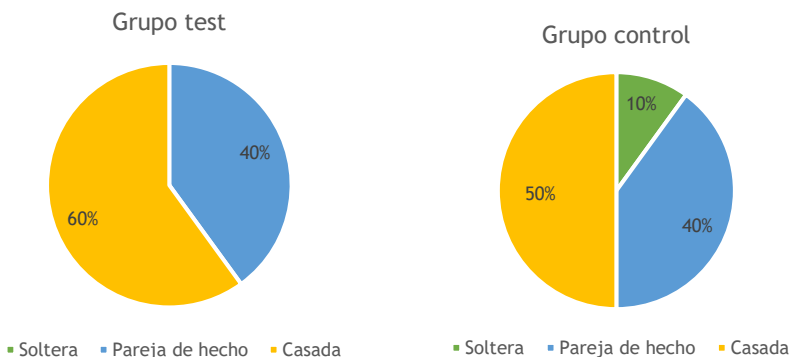


Figura 8. Estado civil. Estadística descriptiva

### 4.3 VARIABLES CLÍNICAS

#### 4.3.1 Número de dientes

La media del número de dientes de las pacientes del estudio fue de  $26.51 \pm 2.27$  dientes. En el grupo test fue de  $26.95 \pm 1.21$  dientes y en el grupo control de  $26.32 \pm 2.77$  dientes, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p \geq 0.05$ ).

|                                       | Grupo test<br>(n=20) | Grupo control<br>(n=20) | p             |
|---------------------------------------|----------------------|-------------------------|---------------|
| Número de dientes<br>(media $\pm$ DE) | $26.95 \pm 1.21$     | $26.32 \pm 2.77$        | $p \geq 0.05$ |

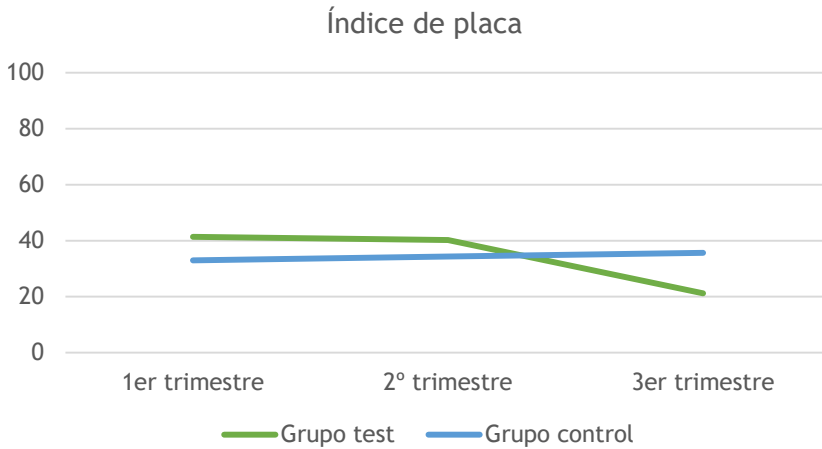
Tabla 5. Número de dientes. *T de Student*

#### 4.3.2 Índice de placa

La media del índice de placa en el primer trimestre en el grupo test fue de  $41.39 \pm 18.27$  mientras que en el grupo control fue de  $32.96 \pm 20.08$ , no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.52$ ). En el segundo trimestre la media en el grupo test fue de  $40.21 \pm 18.54$  mientras que el grupo control fue de  $34.36 \pm 18.68$ , no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.32$ ). Y en el tercer trimestre en el grupo tratamiento fue de  $21.17 \pm 15.59$  mientras que en el grupo no tratamiento fue de  $35.68 \pm 17.64$ , existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.01$ ).

|                                        |                         | 1 <sup>er</sup> trimestre | 2 <sup>o</sup> trimestre | 3 <sup>er</sup> trimestre |
|----------------------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Índice de placa<br>(%, media $\pm$ DE) | Grupo test<br>(n=20)    | $41.39 \pm 18.27$         | $40.21 \pm 18.54$        | $21.17 \pm 15.59$         |
|                                        | Grupo control<br>(n=20) | $32.96 \pm 20.08$         | $34.36 \pm 18.68$        | $35.68 \pm 17.64$         |
|                                        |                         | $p = 0.52$                | $p = 0.32$               | $p = 0.01$                |

Tabla 6. Índice de placa. *T de Student*



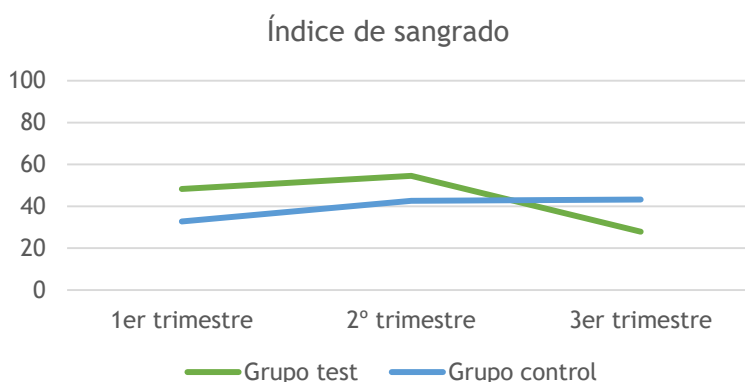
**Figura 9.** Evolución del control de placa durante la gestación.

### 4.3.3 Índice de sangrado

La media del índice gingival en el primer trimestre en el grupo test fue de  $48.30 \pm 14.80$  mientras que en el grupo control fue de  $32.78 \pm 14.92$ , existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.01$ ). En el segundo trimestre la media en el grupo test fue de  $54.57 \pm 18.61$  mientras que el grupo control fue de  $42.59 \pm 18.00$ , existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.04$ ). Y en el tercer trimestre en el grupo test fue de  $27.88 \pm 15.29$  mientras que en el grupo control fue de  $43.21 \pm 20.77$ , existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.01$ ).

|                                           |                         | 1 <sup>er</sup> trimestre | 2º trimestre      | 3 <sup>er</sup> trimestre |
|-------------------------------------------|-------------------------|---------------------------|-------------------|---------------------------|
| Índice de sangrado<br>(%, media $\pm$ DE) | Grupo test<br>(n=20)    | $48.30 \pm 14.80$         | $54.57 \pm 18.61$ | $27.88 \pm 15.29$         |
|                                           | Grupo control<br>(n=20) | $32.78 \pm 14.92$         | $42.59 \pm 18.00$ | $43.21 \pm 20.77$         |
|                                           |                         | $p= 0.01$                 | $p= 0.04$         | $p= 0.01$                 |

**Tabla 7.** Índice de sangrado. *T de Student*



**Figura 10.** Evolución del índice de sangrado durante la gestación.

#### 4.3.4 Profundidad de sondaje

La distribución de frecuencias para una profundidad de sondaje  $\leq 3\text{mm}$  en el primer trimestre en el grupo test fue de  $57.38 \pm 21.28$  mientras que en el grupo control fue de  $74.15 \pm 12.20$ , existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.01$ ). En el segundo trimestre la distribución en el grupo test fue de  $52.42 \pm 21.43$  mientras que el grupo control fue de  $70.00 \pm 14.54$ , existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.01$ ). Y en el tercer trimestre en el grupo test fue de  $70.34 \pm 17.46$  mientras que en el grupo control fue de  $65.22 \pm 16.81$ , no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.34$ ).

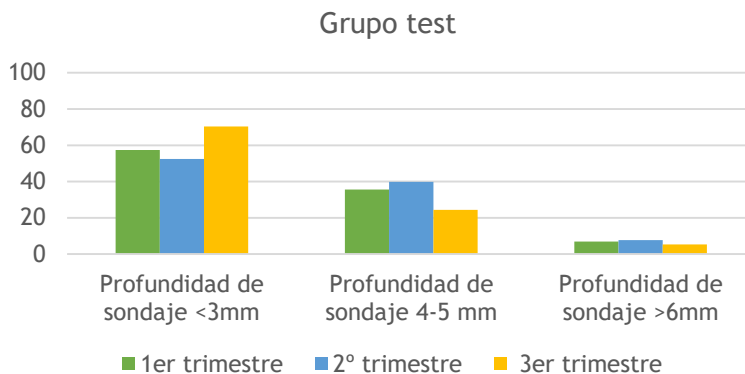
La distribución de frecuencias para una profundidad de sondaje entre  $4\text{-}5\text{mm}$  en el primer trimestre en el grupo test fue de  $35.64 \pm 17.34$  mientras que en el grupo control fue de  $24.69 \pm 10.36$ , no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.10$ ). En el segundo trimestre la distribución en el grupo test fue de  $39.88 \pm 19.12$  mientras que el grupo control fue de  $26.11 \pm$

10.67, existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.01$ ). Y en el tercer trimestre en el grupo test fue de  $24.39 \pm 12.30$  mientras que en el grupo control fue de  $29.87 \pm 12.96$ , no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.17$ ).

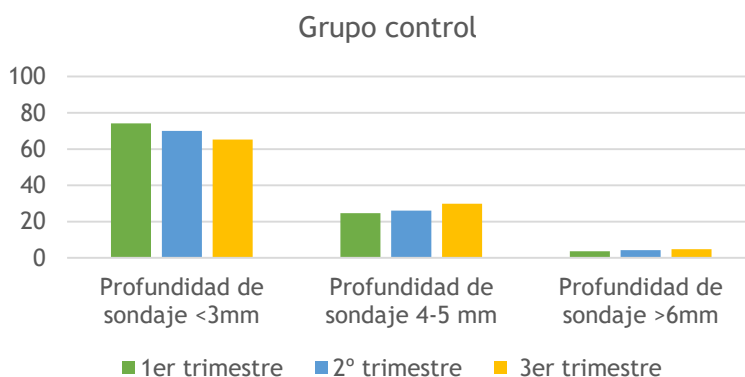
La distribución de frecuencias para una profundidad de sondaje  $\geq 6\text{mm}$  en el primer trimestre en el grupo test fue de  $6.90 \pm 9.59$  mientras que en el grupo control fue de  $3.68 \pm 1.17$ , existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.01$ ). En el segundo trimestre la distribución en el grupo test fue de  $7.69 \pm 10.55$  mientras que el grupo control fue de  $4.27 \pm 6.95$ , existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.03$ ). Y en el tercer trimestre en el grupo test fue de  $5.31 \pm 8.87$  mientras que en el grupo control fue de  $4.77 \pm 6.08$ , no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.55$ ).

|                                                               |                      | 1 <sup>er</sup> trimestre | 2 <sup>o</sup> trimestre | 3 <sup>er</sup> trimestre |
|---------------------------------------------------------------|----------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Profundidad de sondaje $\leq 3\text{mm}$ (% , media $\pm$ DE) | Grupo test (n=20)    | $57.38 \pm 21.28$         | $52.42 \pm 21.43$        | $70.34 \pm 17.46$         |
|                                                               | Grupo control (n=20) | $74.15 \pm 12.20$         | $70.00 \pm 14.54$        | $65.22 \pm 16.81$         |
|                                                               |                      | $p= 0.01$                 | $p= 0.01$                | $p= 0.34$                 |
| Profundidad de sondaje 4-5 mm (% , media $\pm$ DE)            | Grupo test (n=20)    | $35.64 \pm 17.34$         | $39.88 \pm 19.12$        | $24.39 \pm 12.30$         |
|                                                               | Grupo control (n=20) | $24.69 \pm 10.36$         | $26.11 \pm 10.67$        | $29.87 \pm 12.96$         |
|                                                               |                      | $p= 0.10$                 | $p= 0.01$                | $p= 0.17$                 |
| Profundidad de sondaje $\geq 6\text{mm}$ (% , media $\pm$ DE) | Grupo test (n=20)    | $6.90 \pm 9.59$           | $7.69 \pm 10.55$         | $5.31 \pm 8.87$           |
|                                                               | Grupo control (n=20) | $3.68 \pm 1.17$           | $4.27 \pm 6.95$          | $4.77 \pm 6.08$           |
|                                                               |                      | $p= 0.01$                 | $p= 0.03$                | $p= 0.55$                 |

**Tabla 8.** Evolución de la profundidad de sondaje durante la gestación. *T de Student*



**Figura 11.** Evolución de la profundidad de sondaje en el grupo test.  
Estadística descriptiva



**Figura 12.** Evolución de la profundidad de sondaje en el grupo control.  
Estadística descriptiva

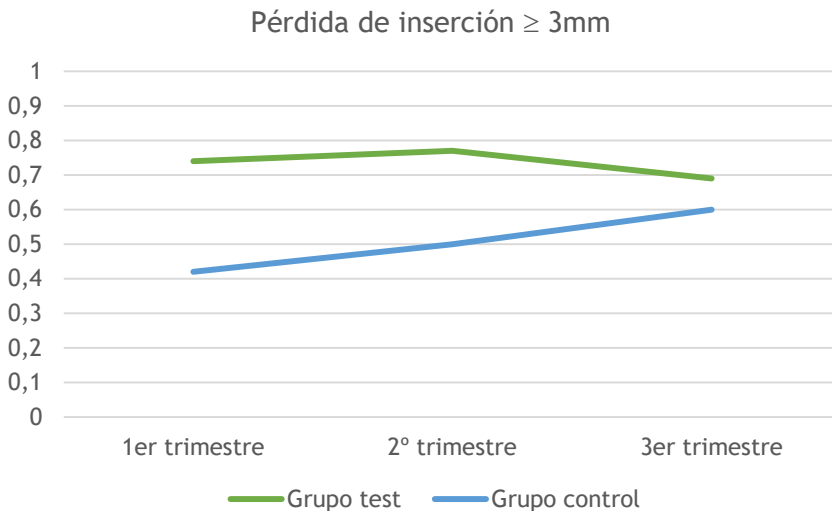
#### 4.3.5 Pérdida de inserción $\geq 3\text{mm}$

La distribución de frecuencias para la pérdida de inserción en el primer trimestre en el grupo test fue de  $0.74 \pm 0.38$  mientras que en el grupo control fue de  $0.42 \pm 0.27$ , existiendo diferencias

estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.01$ ). En el segundo trimestre la distribución en el grupo test fue de  $0.77 \pm 0.46$  mientras que el grupo control fue de  $0.50 \pm 0.32$ , existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.03$ ). Y en el tercer trimestre en el grupo test fue de  $0.69 \pm 0.57$  mientras que en el grupo control fue de  $0.60 \pm 0.35$ , no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.55$ ).

|                                                               |                      | 1 <sup>er</sup> trimestre | 2 <sup>o</sup> trimestre | 3 <sup>er</sup> trimestre |
|---------------------------------------------------------------|----------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Pérdida de inserción $\geq 3\text{mm}$<br>(%, media $\pm$ DE) | Grupo test (n=20)    | $0.74 \pm 0.38$           | $0.77 \pm 0.46$          | $0.69 \pm 0.57$           |
|                                                               | Grupo control (n=20) | $0.42 \pm 0.27$           | $0.50 \pm 0.32$          | $0.60 \pm 0.35$           |
|                                                               |                      | $p= 0.01$                 | $p= 0.03$                | $p= 0.55$                 |

**Tabla 9.** Pérdida de inserción  $\geq 3\text{mm}$ . *T de Student*



**Figura 13.** Evolución de la pérdida de inserción durante la gestación.

## 4.4 VARIABLES BIOQUÍMICAS

### 4.4.1 Fibrinógeno

La media de fibrinógeno en el primer trimestre en el grupo test fue de  $365.06 \pm 55.12$  mg/dl mientras que en el grupo control fue de  $352.39 \pm 58.17$  mg/dl, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.54$ ). En el segundo trimestre la media en el grupo test fue de  $387.06 \pm 49.25$  mg/dl mientras que el grupo control fue de  $401.50 \pm 75.88$  mg/dl, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.27$ ). Y en el tercer trimestre en el grupo test fue de  $447.65 \pm 52.27$  mg/dl mientras que en el grupo control fue de  $463.61 \pm 89.47$  mg/dl, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.42$ ).

|                                        |                         | 1 <sup>er</sup> trimestre | 2 <sup>o</sup> trimestre | 3 <sup>er</sup> trimestre |
|----------------------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Fibrinógeno<br>(mg/dl, media $\pm$ DE) | Grupo test<br>(n=20)    | $365.06 \pm 55.12$        | $387.06 \pm 49.25$       | $447.65 \pm 52.27$        |
|                                        | Grupo control<br>(n=20) | $352.39 \pm 58.17$        | $401.50 \pm 75.88$       | $463.61 \pm 89.47$        |
|                                        |                         | $p= 0.54$                 | $p= 0.27$                | $p= 0.42$                 |

Tabla 10. Fibrinógeno. *T* de Student

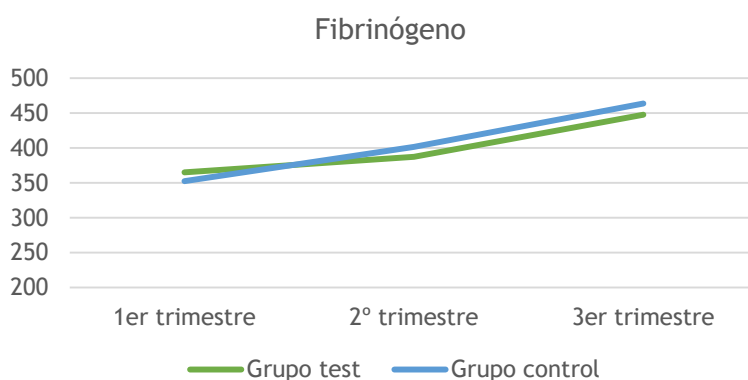


Figura 14. Evolución de los valores de fibrinógeno durante la gestación.

#### 4.4.2 Factor de necrosis tumoral $\alpha$

La media de TNF- $\alpha$  en el primer trimestre en el grupo tratamiento fue de  $7.80 \pm 3.87$  pg/ml mientras que en el grupo control fue de  $7.00 \pm 3.47$  pg/ml, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.99$ ). En el segundo trimestre la media en el grupo tratamiento fue de  $7.17 (3.20)$  pg/ml mientras que el grupo control fue de  $7.80 \pm 3.61$  pg/ml, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.61$ ). Y en el tercer trimestre en el grupo test fue de  $6.97 \pm 2.65$  pg/ml mientras que en el grupo control fue de  $7.50 \pm 2.72$  pg/ml, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.50$ ).

|                                          |                         | 1 <sup>er</sup> trimestre | 2 <sup>o</sup> trimestre | 3 <sup>er</sup> trimestre |
|------------------------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| TNF- $\alpha$<br>(pg/ml, media $\pm$ DE) | Grupo test<br>(n=20)    | $7.80 \pm 3.87$           | $7.17 \pm 3.20$          | $6.97 \pm 2.65$           |
|                                          | Grupo control<br>(n=20) | $7.00 \pm 3.47$           | $7.80 \pm 3.61$          | $7.50 \pm 2.72$           |
|                                          |                         | $p= 0.99$                 | $p= 0.61$                | $p= 0.50$                 |

Tabla 11. Factor de necrosis tumoral  $\alpha$ . *T de Student*

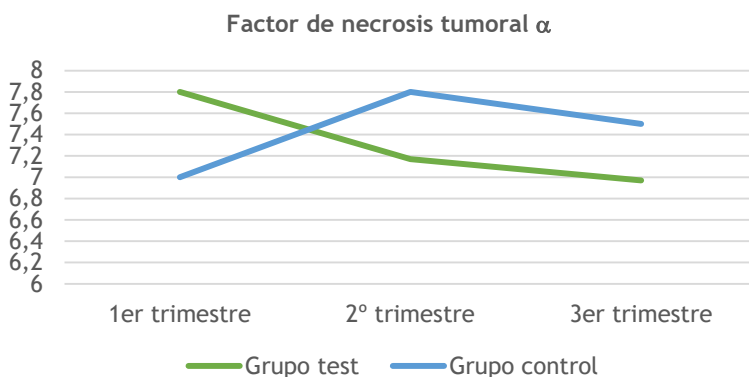


Figura 15. Evolución de los valores del factor de necrosis tumoral  $\alpha$  durante la gestación.

### 4.4.3 Interleuquina 6

La media de IL-6 en el primer trimestre en el grupo test fue de  $3.04 \pm 2.56$  pg/ml mientras que en el grupo control fue de  $3.01 \pm 2.26$  pg/ml, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.64$ ). En el segundo trimestre la media en el grupo test fue de  $2.54 \pm 1.33$  pg/ml, mientras que el grupo control fue de  $3.05 \pm 2.49$  pg/ml, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.43$ ). Y en el tercer trimestre en el grupo test fue de  $2.84 \pm 1.42$  pg/ml mientras que en el grupo control fue de  $2.36 \pm 0.97$  pg/ml, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.32$ ).

|                           |                         | 1 <sup>er</sup> trimestre | 2 <sup>o</sup> trimestre | 3 <sup>er</sup> trimestre |
|---------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| IL-6<br>(pg/ml, media±DE) | Grupo test<br>(n=20)    | $3.04 \pm 2.56$           | $2.54 \pm 1.33$          | $2.84 \pm 1.42$           |
|                           | Grupo control<br>(n=20) | $3.01 \pm 2.26$           | $3.05 \pm 2.49$          | $2.36 \pm 0.97$           |
|                           |                         | $p= 0.64$                 | $p= 0.43$                | $p= 0.32$                 |

Tabla 12. Interleuquina 6. *T de Student*

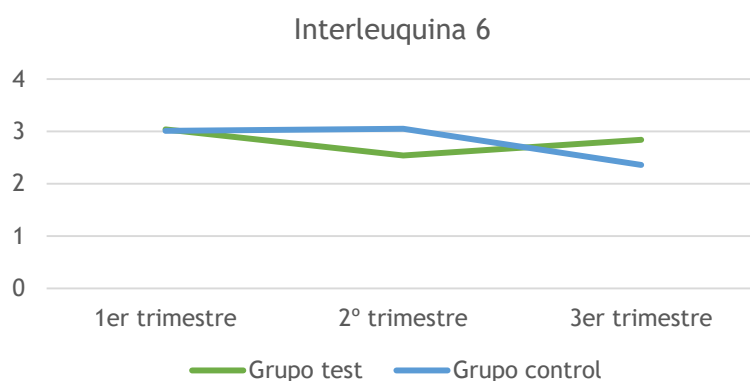


Figura 16. Evolución de los valores de Interleuquina 6 durante la gestación.

#### 4.4.4 Interleuquina 8

La media de IL-8 en el primer trimestre en el grupo test fue de  $14.94 \pm 19.09$  pg/ml mientras que en el grupo control fue de  $8.61 \pm 4.55$  pg/ml, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.57$ ). En el segundo trimestre la media en el grupo test fue de  $10.24 \pm 6.27$  pg/ml mientras que el grupo control fue de  $19.94 \pm 20.84$  pg/ml, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.27$ ). Y en el tercer trimestre en el grupo test fue de  $11.41 \pm 10.26$  pg/ml mientras que en el grupo control fue de  $10.89 \pm 8.21$  pg/ml, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.79$ ).

|                           |                         | 1 <sup>er</sup> trimestre | 2 <sup>o</sup> trimestre | 3 <sup>er</sup> trimestre |
|---------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| IL-8<br>(pg/ml, media±DE) | Grupo test<br>(n=20)    | $14.94 \pm 19.09$         | $10.24 \pm 6.27$         | $11.41 \pm 10.26$         |
|                           | Grupo control<br>(n=20) | $8.61 \pm 4.55$           | $19.94 \pm 20.84$        | $10.89 \pm 8.21$          |
|                           |                         | $p= 0.57$                 | $p= 0.27$                | $p= 0.79$                 |

Tabla 13. Interleuquina 8. *T de Student*

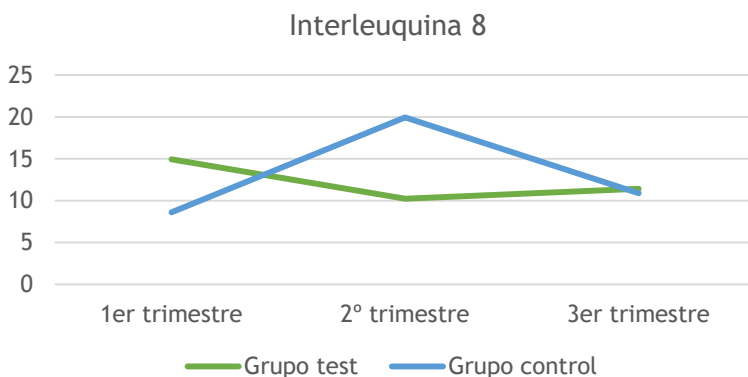


Figura 17. Evolución de los valores de Interleuquina 6 durante la gestación.

#### 4.4.5 Interleuquina 1 $\beta$

La media de IL-1 $\beta$  en el primer trimestre en el grupo test fue de  $0.05 \pm 0.35$  pg/ml mientras que en el grupo control fue de  $0.14 \pm 0.35$  pg/ml, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.25$ ). En el segundo trimestre la media en el grupo test fue de  $0.06 \pm 0.24$  pg/ml mientras que el grupo control fue de  $0.10 \pm 0.30$  pg/ml, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.13$ ). Y en el tercer trimestre en el grupo test fue de  $0.10 \pm 0.30$  pg/ml mientras que en el grupo control fue de  $0.05 \pm 0.22$  pg/ml, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.57$ ).

|                                         |                         | 1 <sup>er</sup> trimestre | 2 <sup>o</sup> trimestre | 3 <sup>er</sup> trimestre |
|-----------------------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| IL-1 $\beta$<br>(pg/ml, media $\pm$ DE) | Grupo test<br>(n=20)    | $0.05 \pm 0.35$           | $0.06 \pm 0.24$          | $0.10 \pm 0.30$           |
|                                         | Grupo control<br>(n=20) | $0.14 \pm 0.35$           | $0.10 \pm 0.30$          | $0.05 \pm 0.22$           |
|                                         |                         | $p= 0.25$                 | $p= 0.13$                | $p= 0.57$                 |

Tabla 14. Interleuquina 1 $\beta$ . *T de Student*

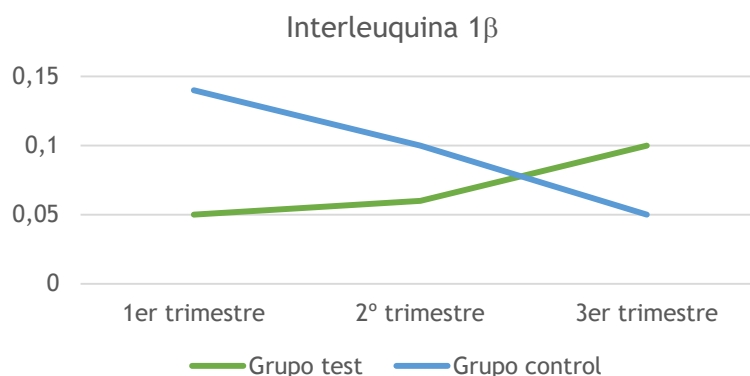


Figura 18. Evolución de los valores de interleuquina 1 $\beta$  durante la gestación.

#### 4.4.6 Proteína C-reactiva

La media proteína c-reactiva en el primer trimestre en el grupo test fue de  $0.55 \pm 0.51$  pg/ml mientras que en el grupo control fue de  $0.54 \pm 0.50$  pg/ml, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.94$ ). En el segundo trimestre la media en el grupo test fue de  $0.57 \pm 0.50$  pg/ml mientras que el grupo control fue de  $0.62 \pm 0.49$  pg/ml, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.75$ ). Y en el tercer trimestre en el grupo test fue de  $0.55 \pm 0.51$  pg/ml mientras que en el grupo control fue de  $0.65 \pm 0.48$  pg/ml, no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre ambos grupos ( $p=0.51$ ).

|                                          |                         | 1 <sup>er</sup> trimestre | 2 <sup>o</sup> trimestre | 3 <sup>er</sup> trimestre |
|------------------------------------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|---------------------------|
| Proteína C-reactiva<br>(mg/ml, media±DE) | Grupo test<br>(n=20)    | $0.55 \pm 0.51$           | $0.57 \pm 0.50$          | $0.55 \pm 0.51$           |
|                                          | Grupo control<br>(n=20) | $0.54 \pm 0.50$           | $0.62 \pm 0.49$          | $0.65 \pm 0.48$           |
|                                          |                         | $p= 0.94$                 | $p= 0.75$                | $p= 0.51$                 |

Tabla 15. Proteína C-reactiva. *T de Student*

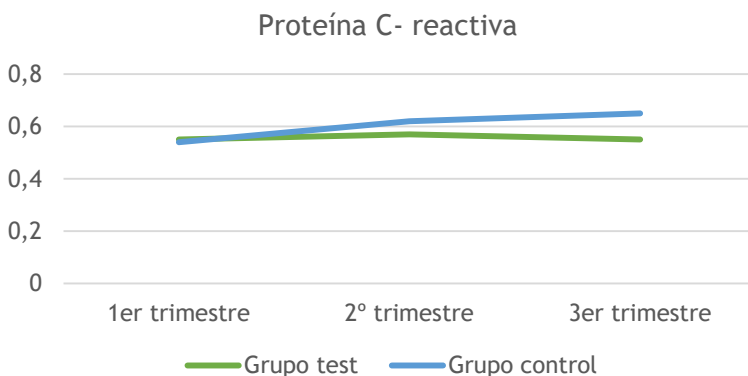


Figura 19. Evolución de los valores de proteína C-reactiva durante la gestación.

#### 4.5 VARIABLES MICROBIOLÓGICAS

Se analizó la concentración bacteriana en ambos grupos de diez patógenos periodontales. En la tabla 16 podemos observar cómo el grupo de las pacientes que recibieron tratamiento periodontal (grupo test) vio estadísticamente disminuida su concentración bacteriana de los patógenos analizados. Mientras que el grupo control mantuvo una concentración bacteriana en el segundo y tercer trimestre sin diferencias estadísticamente significativas.

|                                                              |                      | 2º trimestre | 3º trimestre | p     |
|--------------------------------------------------------------|----------------------|--------------|--------------|-------|
| <i>Aggegatibacter actinomycetemcomitans</i><br>(%, media±DE) | Grupo test (n=20)    | 0.98 ±3.00   | 0 ± 0        | <0.01 |
|                                                              | Grupo control (n=20) | 0.30±2.83    | 0.28±3.12    | NS    |
| <i>Porphyromonas gingivalis</i><br>(%, media±DE)             | Grupo test (n=20)    | 22.97 ±25.62 | 3.63 ±5.14   | 0.01  |
|                                                              | Grupo control (n=20) | 23.38±18.23  | 24.59±19.22  | NS    |
| <i>Prevotella intermedia</i><br>(%, media±DE)                | Grupo test (n=20)    | 2.60 ±1.20   | 0 ± 0        | <0.01 |
|                                                              | Grupo control (n=20) | 2.79 ± 1.42  | 2.54±1.55    | NS    |
| <i>Tannerella forsythia</i><br>(%, media±DE)                 | Grupo test (n=20)    | 3.30 ±4.67   | 0 ± 0        | <0.01 |
|                                                              | Grupo control (n=20) | 4.69 ± 1.28  | 4.80±2.34    | NS    |
| <i>Parvimonas micra</i><br>(%, media±DE)                     | Grupo test (n=20)    | 0.73 ±1.65   | 0 ± 0        | <0.01 |
|                                                              | Grupo control (n=20) | 1.68 ± 3.72  | 1.86±3.02    | NS    |
| <i>Campylobacter rectus</i><br>(%, media±DE)                 | Grupo test (n=20)    | 1.72 ±7.33   | 0 ± 0        | <0.01 |
|                                                              | Grupo control (n=20) | 1.32 ± 3.72  | 1.33±3.83    | NS    |
| <i>Fusobacterium nucleatum</i><br>(%, media±DE)              | Grupo test (n=20)    | 1.96 ±2.68   | 0 ± 0        | <0.01 |
|                                                              | Grupo control (n=20) | 2.18 ± 1.82  | 2.20±2.30    | NS    |
| <i>Capnocytophaga</i><br>(%, media±DE)                       | Grupo test (n=20)    | 0.06 ±0.26   | 0 ± 0        | <0.01 |
|                                                              | Grupo control (n=20) | 0.10 ± 0.25  | 0.12±0.34    | NS    |
| <i>Eikenella corrodens</i><br>(%, media±DE)                  | Grupo test (n=20)    | 0.40 ±1.13   | 0 ± 0        | <0.01 |
|                                                              | Grupo control (n=20) | 1.31 ± 1.91  | 1.22±1.23    | NS    |
| <i>Eubacterium sp</i><br>(%, media±DE)                       | Grupo test (n=20)    | 0 ± 0        | 0 ± 0        | NS    |
|                                                              | Grupo control (n=20) | 0 ± 0        | 0 ± 0        | NS    |

**Tabla 16.** Proporciones de las diferentes especies bacterianas en ambos grupos en el 2º y 3º trimestre. *T de Student*

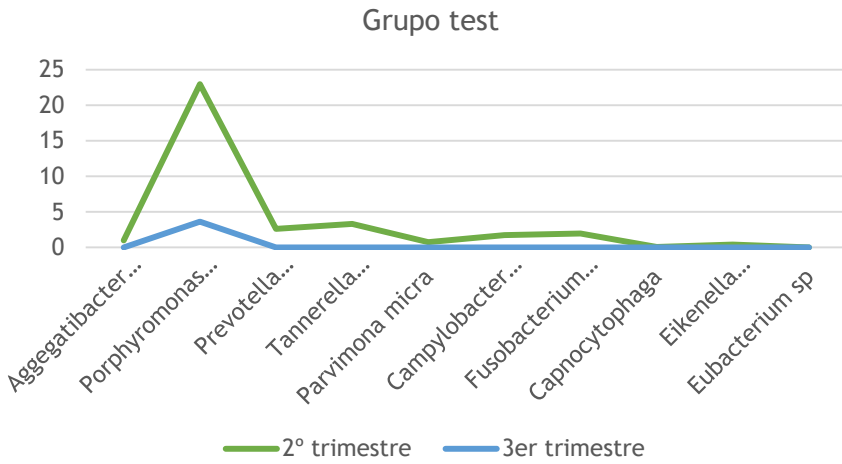


Figura 20. Evolución de las concentraciones bacterianas en grupo test.

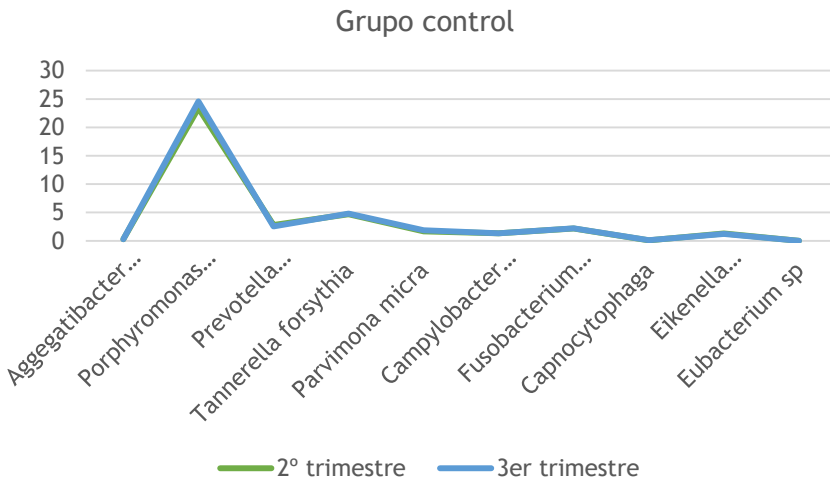


Figura 21. Evolución de las concentraciones bacterianas en el grupo control.

## 4.6 VARIABLES OBSTÉTRICAS

### 4.6.1 Índice de masa corporal

La media del índice de masa corporal de las pacientes del estudio fue de  $24.80 \pm 4.68 \text{ Kg/m}^2$ . En el grupo test fue de  $24.89 \pm 5.68 \text{ Kg/m}^2$  y en el grupo control fue de  $24.73 \pm 3.71 \text{ Kg/m}^2$ , no existiendo diferencias estadísticamente significativas entre los dos grupos ( $p=0.90$ )

|                                                        | Grupo test (n=20) | Grupo control (n=20) | p      |
|--------------------------------------------------------|-------------------|----------------------|--------|
| Índice de masa corporal (Kg/m <sup>2</sup> , media±DE) | 24.89 ± 5.68      | 24.73 ± 3.71         | p≥0.05 |

Tabla 17. Índice de masa corporal. *T de Student*

### 4.6.2 Número de embarazos previos

El 80% de las pacientes en ambos grupos eran primíparas, mientras que 4 (20%) pacientes de cada grupo habían tenido una gestación a término previo.

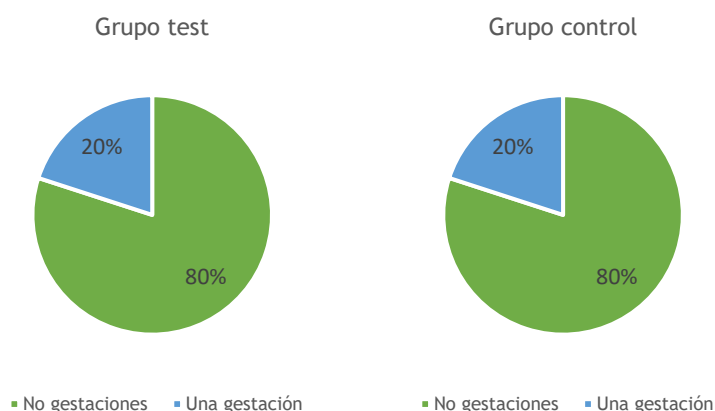


Figura 22. Número de embarazos previos. Estadística descriptiva.

### 4.6.3 Abortos previos

El 90% de las pacientes en ambos grupos no habían tenido ningún aborto previo, mientras que un 10 % que corresponden a 2 pacientes en cada grupo habían tenido un aborto previo.

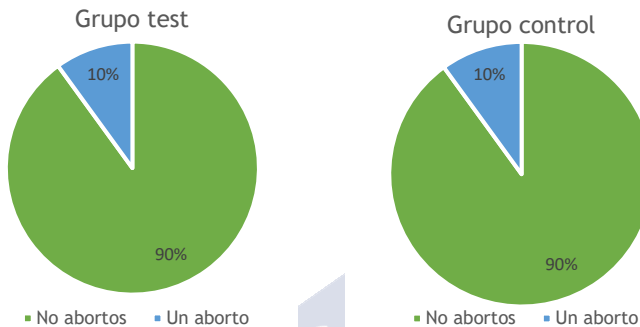


Figura 23. Abortos previos. Estadística descriptiva.

### 4.6.4 Sexo de recién nacido

En el grupo test el porcentaje de varones fue del 45% y de hembras fue del 55% mientras que en el grupo control el porcentaje de hombres fue de 35% y de hembras fue de 65%.

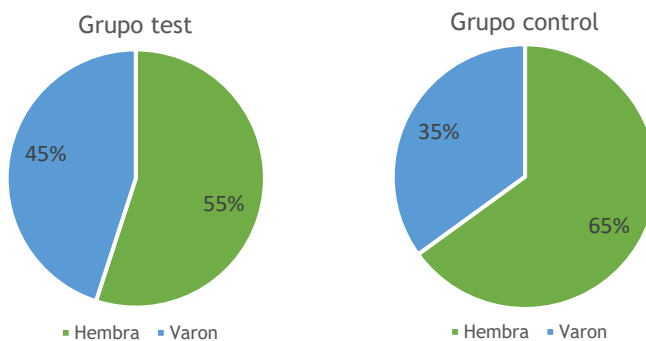


Figura 24. Sexo del recién nacido. Estadística descriptiva

### 4.6.5 Tipo de parto

En el grupo test el porcentaje de partos vaginales fue de 70% y de cesáreas fue de 30% mientras que en el grupo control el porcentaje de partos vaginales fue de 85% y de cesáreas fue de 15%.

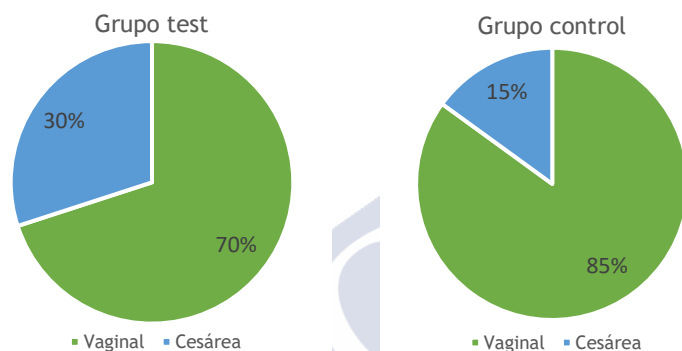


Figura 25. Tipo de parto. Estadística descriptiva

### 4.7 VARIABLE PRINCIPAL

Cuando se analizaron las variables principales parto prematuro y bajo peso al nacimiento mediante Odds Ratio (OR), en ambas la asociación es inferior a 1 ( $OR=0.28$ ), es decir la presencia del factor tratamiento no se asoció con una menor ocurrencia de parto prematuro o bajo peso al nacimiento.

| Variable principal                   |       | Grupo test (n=20) | Grupo control (n=20) | Total |
|--------------------------------------|-------|-------------------|----------------------|-------|
| Parto prematuro <sup>†</sup>         | No    | 19                | 17                   | 36    |
|                                      | Si    | 1                 | 3                    | 4     |
|                                      | Total | 20                | 20                   | 40    |
| Bajo peso al nacimiento <sup>‡</sup> | No    | 19                | 17                   | 36    |
|                                      | Si    | 1                 | 3                    | 4     |
|                                      | Total | 20                | 20                   | 40    |

Tabla 18. Tabla 2x2( †, ‡ OR= 0.28; IC= 0.02-2.98).

† Parto prematuro; ‡ Bajo peso al nacimiento.

Tampoco se observaron diferencias estadísticamente significativas cuando se realizó el análisis de covarianza (ANCOVA), siendo la variable dependiente el parto prematuro o el bajo peso al nacimiento y la independiente el tratamiento de la periodontitis.

| VARIABLES               | Suma de cuadrados tipo III | p     |
|-------------------------|----------------------------|-------|
| Edad                    | 0.206                      | 0.764 |
| Índice de masa corporal | 0.181                      | 0.778 |
| Tratamiento             | 1.194                      | 0.47  |

**Tabla 19.** Variable dependiente: parto prematuro (semanas). ANCOVA.  $R^2 = 0.019$  ( $R^2$  corregida = -0.065)

| VARIABLES               | Suma de cuadrados tipo III | p  |
|-------------------------|----------------------------|----|
| Edad                    | 91359.53                   | NS |
| Índice de masa corporal | 1555.01                    | NS |
| Tratamiento             | 685694.99                  | NS |

**Tabla 20.** Variable dependiente: peso al nacimiento (gr). ANCOVA.  $R^2 = 0.116$  ( $R^2$  corregida = -0.040). NS: no significativo.



# DISCUSIÓN

---



## 5 DISCUSIÓN

El objetivo principal de este estudio ha sido evaluar los efectos del tratamiento periodontal no quirúrgico -durante el segundo trimestre de embarazo- sobre las tasas de parto prematuro/bajo peso al nacimiento. En los resultados no se observó una reducción significativa del riesgo de resultados adversos del embarazo en las pacientes diagnosticadas y tratadas de periodontitis estadio II, grado B, por lo que el tratamiento periodontal parece no tener influencia en los resultados adversos del embarazo en este tipo de pacientes.

Estos resultados son consistentes con los obtenidos en otros estudios publicados con anterioridad (Jeffcoat y cols., 2003; Macones y cols., 2010; Michalowicz y cols., 2006; Newnham y cols., 2009; Offenbacher y cols., 2009; Oliveira y cols., 2011; Pirie y cols., 2013; Reddy y cols., 2014), en los que se observa que la realización del tratamiento periodontal durante la gestación es seguro, pero no reduce la incidencia de alguno de los resultados adversos del embarazo como el parto prematuro o el bajo peso al nacimiento entre otros. De entre ellos podemos destacar, por el gran número de pacientes incluidas, el publicado por Offenbacher y cols. (2009), llevado a cabo en 1.806 pacientes y en las que no se observó que el tratamiento periodontal redujese la incidencia de partos prematuros (13.1% en las que recibieron el tratamiento durante la gestación y 11.5% en las que no recibieron el tratamiento,  $p=0.316$ ) y el publicado por Newnham y cols. (2009), en el que el tamaño muestral fue de 1.078 pacientes embarazadas con periodontitis, la mitad de ellas recibieron tratamiento periodontal en la semana 20 de gestación. Las tasas de partos prematuros fueron similares en ambos grupos (9.7% en las que

recibieron el tratamiento durante la gestación y 9.3% en las que no recibieron el tratamiento; OR1.05, IC95% 0.07-1.58).

Por el contrario, existen otros artículos que demuestran un efecto positivo del tratamiento periodontal no quirúrgico, tanto en el estado periodontal de la paciente, como en los resultados adversos del embarazo (Jeffcoat y cols., 2011; Lopez y cols., 2005; Offenbacher, Boggess, y cols., 2006; Radnai y cols., 2009; Sadatmansouri y cols., 2006; Tarannum & Faizuddin, 2007). Offenbacher y cols. 2006 demostraron que el tratamiento periodontal redujo 3.8 veces la tasa de partos prematuros; esto puede ser debido a que muchas pacientes incluidas tenían bajo nivel socioeconómico y habían tenido anteriormente partos prematuros (>12 semanas), por lo tanto, esta población de estudio representaba una población con mayor riesgo de resultados adversos del embarazo (Xiong y cols., 2006). Jeffcoat y cols. (2011) demuestran que la terapia periodontal exitosa reduce el riesgo de parto prematuro pero los resultados obtenidos en este estudio no pueden extrapolarse a otras poblaciones con características diferentes a las elegidas, debido a que la muestra empleada eran mujeres afroamericanas que nunca habían visitado a un odontólogo para una limpieza bucodental. Radnai y cols. (2009) también consideran que el tratamiento periodontal tiene un resultado positivo en el embarazo en una población europea caucásica demográficamente homogénea, aunque estas mujeres presentaban una periodontitis crónica localizada inicial. Tarannum y cols. (2007), sobre una muestra poblacional india, proporcionan evidencia de que la terapia periodontal no quirúrgica puede reducir el riesgo de parto prematuro/bajo peso al nacimiento, si bien las participantes en el estudio pertenecían a estratos socioeconómicos bajos (basándose en la ocupación), tenían niveles de alfabetización bajos y, en algunos casos, un historial de consumo de alcohol/tabaco. Por último, el estudio López y cols. (2005) también sugiere un resultado positivo del

tratamiento periodontal en los resultados adversos del embarazo en pacientes diagnosticadas con gingivitis y periodontitis, pero el tratamiento periodontal incluyó un enjuague diario de clorhexidina al 0.12% y las mujeres con infecciones urinarias fueron tratadas con antibióticos.

Los datos publicados con respecto a la influencia de la terapia periodontal en la prevención de los efectos adversos del embarazo son muy dispares y controvertidos, probablemente debido a la gran variabilidad que nos encontramos en el diagnóstico, a los criterios de diagnóstico de la periodontitis, a la definición de la variable principal, a las diferencias en los tratamientos recibidos en el grupo test y en el grupo control u otras condiciones comunes a ambas patologías como pueden ser el hábito tabáquico y la raza.

El análisis que se realiza de la variable principal difiere de unos estudios a otros; en nuestro estudio sólo se analizaron partos prematuros (<37 semanas de gestación) o de bajo peso (<2500gramos) ya que no se produjo ningún evento adverso diferente a los incluidos. En la literatura existen, en cambio, estudios como los publicados por Michalowicz y cols. (2006) y Offenbacher y cols. (2009), que consideraron para su análisis todos los eventos ocurridos antes de las 37 semanas de gestación incluyendo abortos espontáneos, mortinatos o nacimientos prematuros médicamente inducidos dentro de la variable principal. Otros estudios, consideraron los abortos espontáneos después de la aleatorización como eventos separados (Macones y cols., 2010), o bien los excluyeron del análisis (Newnham y cols., 2009), mientras que otros estudios no informaron de la existencia de estos efectos adversos, desconociendo si es por que no se observaron o simplemente porque se excluyeron del análisis.

Existe también mucha variabilidad a la hora de describir los métodos utilizados para estimar la edad gestacional. En nuestro

estudio se realizó mediante la fecha de la última menstruación en combinación con ecografías, coincidiendo en el método con estudios como Lopez y cols. (2005), Michalowicz y cols. (2006), Radnai y cols. (2009) y Oliveira y cols. (2011), que también emplearon una combinación de ambas; mientras que estudios como Offenbacher y cols. (2009) utilizaron solamente datos de ecografías obtenidas antes de las 16 semanas de gestación; otros como Sadatmansouri y cols. (2006) o Newham y cols. (2009) no especificaron el método utilizado; mientras que Macones y cols. (2010) y Jeffcoat y cols. (2011) obtienen la información de los registros médicos.

La definición de periodontitis es uno de los parámetros con mayor variabilidad de un estudio a otro. En los estudios clínicos esta diversidad puede afectar a la incidencia de los efectos adversos del embarazo. Los estudios que utilizan la pérdida de inserción con única variable para definir la periodontitis, probablemente no incluyan a pacientes embarazadas con enfermedad periodontal activa, ya que algunas pueden presentar sólo recesión y no tendrían la misma incidencia de efectos adversos al embarazo en las pacientes a las que se le realiza tratamiento periodontal; de hecho, algunos estudios en los que sólo se utilizaba la pérdida de inserción para definir la enfermedad periodontal no mostraron ningún efecto del tratamiento periodontal sobre los resultados adversos del embarazo (Macones y cols., 2010; Offenbacher y cols., 2009). Gomes-Filho y cols. (2016) utilizaron cuatro definiciones para el diagnóstico de la enfermedad periodontal y analizaron cómo es la relación con los efectos adversos del embarazo en función de la definición utilizada. La OR disminuyó a medida en que los criterios diagnósticos se volvían más estrictos, con la consiguiente subestimación de la asociación entre la enfermedad periodontal y el parto prematuro.

En contraste, definiciones menos rigurosas sobreestimaron dicha asociación; por ello, en nuestro estudio, hemos empleado la definición de periodontitis descrita en el último World Workshop en el año 2018 -en la que se incluyen estadios para poder describir la gravedad y extensión y grados en los que se describe la tasa de progresión de la enfermedad (Tonetti y cols., 2018)-, según la cual el diagnóstico requiere una pérdida de inserción clínica interdental en dos o más dientes no adyacentes, o bien una pérdida de inserción vestibular  $\geq 3\text{mm}$  con bolsas de  $>3\text{mm}$  en dos o más dientes siempre que esta pérdida de inserción no esté relacionada con (i) una recesión gingival por razones traumáticas, con (ii) caries en la región cervical, con (iii) una pérdida de inserción clínica en la cara distal de un segundo molar -posiblemente asociada a una malposición o extracción del tercer molar-, o (iv) con una lesión endodóntica o fractura radicular vertical.

Al igual que en el nuestro, en la mayoría de los estudios publicados el tratamiento periodontal no quirúrgico que se lleva a cabo en el grupo test consiste en el desbridamiento mecánico supra y subgingival e instrucciones en higiene oral; sin embargo, en estudios en los que el tratamiento periodontal tiene alguna incidencia sobre los efectos adversos del embarazo, como el llevado a cabo en Chile (López y cols., 2002), uno de los grupos de tratamiento recibe terapia antimicrobiana adjunta de metronidazol y amoxicilina al desbridamiento supra y subgingival, que, además de que pudo afectar a la microbiota oral, también pudo hacerlo en la vaginal, por lo que aunque se obtuvo una reducción en los partos prematuros y el bajo peso al nacimiento estos datos pudieron verse afectados por la terapia antimicrobiana.

Además, parece que la realización del tratamiento periodontal no quirúrgico durante el segundo trimestre del embarazo produce resultados menos consistentes, a diferencia de los estudios en los que

se realizan múltiples tratamientos durante todo el embarazo hasta que las condiciones de salud mejoran (Lopez y cols., 2005; Michalowicz y cols., 2006; Offenbacher, Lin, y cols., 2006; Radnai y cols., 2009). Una explicación podría ser que el tratamiento en el segundo trimestre no evita que la periodontitis pueda empeorar en el tercer trimestre; además, ha sido documentado que las condiciones gingivales cambian durante el embarazo y mejoran después del parto (Raber-Durlacher y cols., 1994). Por lo tanto, un solo tratamiento puede no ser suficiente para prevenir la inflamación gingival, ya que la bacteriemia y la transmisión hematogena pueden ocurrir como resultado del tratamiento o cuando las condiciones periodontales de mejora después del tratamiento se detienen. Por lo tanto, puede ser necesario realizar múltiples tratamientos para mantener la inflamación periodontal controlada (Han, 2011).

En cuanto a los grupos de tratamiento de los estudios hay que destacar que también parecen existir diferencias en los grupos control, ya que, aunque en la mayoría de los estudios publicados el grupo control no recibe ningún tratamiento, hay estudios en los que el grupo control recibe instrucciones de higiene oral (Jeffcoat y cols., 2011; Tarannum & Faizuddin, 2007) o bien desbridamiento mecánico supragingival (Macones y cols., 2010; Offenbacher, Lin, y cols., 2006) e, incluso, como en nuestro estudio, el grupo control recibe instrucciones en higiene oral y desbridamiento mecánico supragingival (Pirie y cols., 2013). Todos estos procedimientos pueden llegar a alterar los niveles de inflamación y la proporción de patógenos periodontales, especialmente si la profundidad de sondaje no es muy elevada (Macones y cols., 2010).

Otra de las características a tener en cuenta de los estudios que hay publicados en la literatura es la eficacia del tratamiento periodontal. Hay estudios que no aportan datos de las mediciones

clínicas después de la realización del tratamiento (Jeffcoat y cols., 2003; Macones y cols., 2010; Radnai y cols., 2009; Tarannum & Faizuddin, 2007). Existen, por otra parte, estudios con resultados muy similares al nuestro en el que se observan reducciones en los parámetros clínicos, pero no a los niveles que se pueden considerar como salud periodontal, coincidiendo además en que el tratamiento periodontal no obtuvo ninguna incidencia en los resultados adversos del embarazo (Lopez y cols., 2015; Michalowicz y cols., 2006; Newnham y cols., 2009). En el estudio publicado por Offenbacher y cols., en 2009, en el que se incluyeron 1.800 pacientes no se observaron efectos de la terapia periodontal en los resultados adversos del embarazo; aunque el grupo de tratamiento obtuvo mejores mediciones clínicas que el grupo control, se observó progresión de la enfermedad periodontal en un 40.7% de las pacientes que recibieron tratamiento periodontal (Offenbacher y cols., 2009).

Los marcadores bioquímicos (fibrinógeno, TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$  y proteína C-reactiva) se analizaron mediante muestras serológicas, no observando ninguna diferencia entre los grupos en ninguno de los tres trimestres. Los eventos inmunológicos complejos que ocurren durante el embarazo pueden limitar la capacidad de evaluar el efecto sistémico de la terapia periodontal, porque los estudios han demostrado que las mujeres embarazadas presentan una mayor producción de citoquinas dependiendo del período gestacional y el resultado del embarazo (Fiorini y cols., 2013).

En la literatura los resultados con respecto a los efectos de la terapia periodontal no quirúrgica en los marcadores inflamatorios sistémicos (suero o cordón umbilical) y locales (FCG) son contradictorios (Fiorini y cols., 2013; Penova-Veselinovic y cols., 2015; Thunell y cols., 2010); así, algunos de los estudios publicados no observaron efectos en los marcadores inflamatorios en suero

(Fiorini y cols., 2013; Michalowicz y cols., 2009), mientras que otros sí observaron una reducción significativa una vez realizado el tratamiento periodontal (Khairnar y cols., 2015; Offenbacher, Boggess, y cols., 2006).

Cuando las mediciones se realizaron en FCG, como en el estudio realizado por Penova-Veselinovic y cols. (2015), en el que 40 pacientes embarazadas recibieron tratamiento periodontal no quirúrgico entre las semanas 20-28 de gestación, se observó que el grupo que recibió tratamiento mostró niveles significativamente más bajos de IL-1 $\beta$ , IL-10, IL-12p70 e IL-6 en el fluido gingival crevicular en comparación con el grupo que no recibió tratamiento; sin embargo, no se observaron diferencias en los partos prematuros entre los grupos analizados. Fiorini y cols. (2013) también observaron un impacto significativo de la terapia periodontal sobre los niveles de IL-1 $\beta$  en el fluido crevicular gingival.

En los estudios en los que los marcadores inflamatorios se analizaron mediante suero los resultados no son tan consistentes como los realizados en FCG; así, por ejemplo, Offenbacher y cols. (2006) reportaron que las pacientes embarazadas con periodontitis que recibieron tratamiento periodontal no quirúrgico mostraron una reducción pequeña pero significativa en los niveles de FCG de IL-1 $\beta$  ( $p=0.01$ ) y en suero en los niveles de IL-6 ( $p=0.03$ ) después del parto, mientras que las pacientes que no recibieron tratamiento durante el embarazo los niveles séricos de la IL-6 y la proteína C-reactiva se mostraron elevados durante la gestación. Además se observaron menos partos prematuros en mujeres que habían recibido tratamiento periodontal ( $p=0.026$ ) (Offenbacher, Lin, y cols., 2006). Michalowicz y cols. (2009), en un estudio con un seguimiento de 823 pacientes embarazadas con enfermedad periodontal, a las cuales se les realizó tratamiento periodontal antes de la semana 21 de gestación,

observaron que los niveles de marcadores inflamatorios (TNF- $\alpha$ , IL-6, IL-8, IL-1 $\beta$ , proteína C-reactiva, fibrinógeno) en suero no se redujeron y tampoco se asociaron con un aumento en el riesgo de efectos adversos del embarazo.

Cuando las muestras se recogieron en cordón umbilical, como en el estudio publicado por Pirie y cols. (2013), no se observaron diferencias estadísticamente significativas entre el grupo de tratamiento y no tratamiento en las IL-8, IL-1 $\beta$  e IL-6.

Una de las posibles causas por la cual los resultados que hay publicados en la literatura no son consistentes puede ser consecuencia del momento en el que se realiza el tratamiento periodontal; es posible que el diagnóstico y tratamiento durante el embarazo se realicen demasiado tarde para detener la cascada inflamatoria y mejorar o prevenir los resultados adversos del embarazo (Goldenberg & Culhane, 2006).

La falta de consistencia puede ser debida, asimismo, a las características de las muestra; es decir, hay estudios como el de Offenbacher y cols. (2006) o el publicado por Khairnar y cols. (2015) en los que se observa que el tratamiento periodontal es efectivo, pero la muestra la componen pacientes de diferentes razas, entre las que se incluye la raza afroamericana (Khairnar y cols., 2015; Offenbacher, Lin, y cols., 2006), lo que ya supone un mayor riesgo para el parto prematuro (Jeffcoat y cols., 2011), y no puede generalizarse a poblaciones caucásicas.

En el año 2017 se publicó una revisión sistemática y metanálisis de los efectos del tratamiento periodontal durante la gestación en los resultados adversos del embarazo a nivel de los biomarcadores inflamatorios, y los resultados demostraron un efecto positivos del tratamiento periodontal en los parámetros inflamatorios en el fluido

crevicular gingival (FCG) y en algunos a nivel sérico, pero no a nivel del cordón umbilical (da Silva y cols., 2017).

En cuanto a la presencia de periodontopatógenos, el tratamiento periodontal no quirúrgico realizado en el segundo trimestre de la gestación redujo el número de todos los patógenos periodontales subgingivales analizados mediante cultivo ( $p < 0.01$ ). Estos hallazgos indican que la terapia periodontal en las mujeres embarazadas con periodontitis estadio II, grado B produjo cambios cuantitativos y cualitativos en la microbiota. Los microorganismos más prevalentes fueron *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia* y *F. Nucleatum*, resultados que coinciden con otros estudios publicados en la literatura en los que se encontraron altas prevalencias de *P. gingivalis*, *P. intermedia*, *T. forsythia* y *F. nucleatum* (Martinez-Martinez y cols., 2016; Santa Cruz y cols., 2013).

Otros estudios en la literatura han analizado la posible asociación entre las bacterias específicas de la periodontitis y los resultados adversos del embarazo utilizando para su análisis, en la mayoría de ellas, técnicas de hibridación de ADN. Madianos y cols. (2001) no observaron diferencias en la presencia de patógenos del complejo rojo o naranja en las pacientes con parto prematuro en comparación con mujeres con un parto a término. También se observaron resultados similares en estudios en los que el análisis se realizó mediante técnicas de PCR (Martinez-Martinez y cols., 2016; Noack y cols., 2005; Novak y cols., 2008); sin embargo, cuando el análisis se realizó mediante técnicas de cultivo, se encontró una asociación significativa entre la presencia de *E. corrodens* con parto prematuro y la presencia de *Capnocytophaga spp* con bajo peso al nacimiento (Santa Cruz y cols., 2013).

# CONCLUSIONES

---



## 6 CONCLUSIONES

1. El tratamiento de la periodontitis estadio II, grado B, en pacientes embarazadas no reduce los resultados adversos del embarazo.
2. Se ha observado una mejoría de las variables clínicas periodontales, aunque no se puede asegurar que se haya controlado la periodontitis por completo.
3. Las variables bioquímicas no han sufrido modificaciones estadísticamente significativas a lo largo de la gestación en ninguno de los dos grupos de tratamiento.
4. Las variables microbiológicas han experimentado una mejoría en el grupo de tratamiento, mientras que en el grupo control han permanecido estables.





**LIMITACIONES Y LINEAS  
DE INVESTIGACIÓN  
FUTURAS**

---



## 7 LIMITACIONES

Una de las principales limitaciones de este estudio es el tamaño muestral. En los artículos publicados en la literatura, el tamaño muestral varía mucho de unos a otros (Offenbacher y cols., 2009; Pirie y cols., 2013) y se ha indicado que el tamaño muestral elevado presenta mayor calidad y menor probabilidad de sesgos (Chambrone y cols., 2011; Polyzos y cols., 2010) ya que los estudios pequeños presentan más riesgo de estar desequilibrados en términos de factores pronósticos. Pero, si bien es verdad, el hecho de haber empelado unos criterios de inclusión y exclusión tan estrictos como los aplicados en este estudio determina que el tamaño muestral sea necesariamente inferior.

Otra limitación es el tipo de periodontitis de nuestras pacientes, que en este caso fue la periodontitis estadio II grado B. Debido a la importancia de la severidad de la enfermedad, es muy probable que con periodontitis estadio III/IV los resultados pudiesen ser diferentes, ya que el grado de inflamación y pérdida de inserción serían mayores.

### LINEAS DE INVESTIGACIÓN FUTURAS

La evidencia disponible demuestra que el tratamiento no quirúrgico de la periodontitis durante el embarazo no mejora los resultados adversos del mismo. Sin embargo, no sugiere que las infecciones periodontales no puedan estar relacionadas con los efectos adversos del embarazo, sino que ese aumento del riesgo puede no ser revertido mediante una intervención puntual durante la gestación. Por ello, se considera que las futuras investigaciones deberían de centrarse

en evaluar el riesgo de las pacientes previo a la concepción, para así poder llegar al momento de la gestación con unos niveles de concentraciones bacterianas y de inflamación que puedan suponer un menor riesgo de exposición del feto a los cambios que se puedan producir en el periodonto.

Por otro lado, los estudios clínicos que se vayan a realizar durante la gestación deberían de homogeneizar algunos criterios, como el diagnóstico de la periodontitis, la raza, el tamaño muestral, el tratamiento periodontal, la administración de terapia antibiótica, etc...



# BIBLIOGRAFÍA

---





## 8 BIBLIOGRAFÍA

- Abati, S., Villa, A., Cetin, I., Dessole, S., Luglie, P. F., Strohmer, L., Ottolenghi, L., & Campus, G. G. (2013, Mar). Lack of association between maternal periodontal status and adverse pregnancy outcomes: a multicentric epidemiologic study. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 26(4), 369-372. <https://doi.org/10.3109/14767058.2012.733776>
- Adams Waldorf, K. M., Singh, N., Mohan, A. R., Young, R. C., Ngo, L., Das, A., Tsai, J., Bansal, A., Paoletta, L., Herbert, B. R., Sooranna, S. R., Gough, G. M., Astley, C., Vogel, K., Baldessari, A. E., Bammler, T. K., MacDonald, J., Gravett, M. G., Rajagopal, L., & Johnson, M. R. (2015, Dec). Uterine overdistention induces preterm labor mediated by inflammation: observations in pregnant women and nonhuman primates. *Am J Obstet Gynecol*, 213(6), 830 e831-830 e819. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.08.028>
- Agueda, A., Ramon, J. M., Manau, C., Guerrero, A., & Echeverria, J. J. (2008, Jan). Periodontal disease as a risk factor for adverse pregnancy outcomes: a prospective cohort study. *J Clin Periodontol*, 35(1), 16-22. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2007.01166.x>
- Ainamo, J., & Bay, I. (1975, Dec). Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J*, 25(4), 229-235.

- Al Habashneh, R., Khader, Y. S., Jabali, O. A., & Alchalabi, H. (2013, Feb). Prediction of preterm and low birth weight delivery by maternal periodontal parameters: receiver operating characteristic (ROC) curve analysis. *Matern Child Health J*, *17*(2), 299-306. <https://doi.org/10.1007/s10995-012-0974-2>
- Alsina, M., Olle, E., & Frias, J. (2001, Feb). Improved, low-cost selective culture medium for *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Clin Microbiol*, *39*(2), 509-513. <https://doi.org/10.1128/JCM.39.2.509-513.2001>
- Ao, M., Miyauchi, M., Furusho, H., Inubushi, T., Kitagawa, M., Nagasaki, A., Sakamoto, S., Kozai, K., & Takata, T. (2015). Dental Infection of *Porphyromonas gingivalis* Induces Preterm Birth in Mice. *PLoS One*, *10*(8), e0137249. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0137249>
- Ara, T., Kurata, K., Hirai, K., Uchihashi, T., Uematsu, T., Imamura, Y., Furusawa, K., Kurihara, S., & Wang, P. L. (2009, Feb). Human gingival fibroblasts are critical in sustaining inflammation in periodontal disease. *J Periodontol Res*, *44*(1), 21-27. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2007.01041.x>
- Armitage, G. C. (2013, Feb). Bi-directional relationship between pregnancy and periodontal disease. *Periodontol 2000*, *61*(1), 160-176. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2011.00396.x>
- Badersten, A., Nilveus, R., & Egelberg, J. (1981, Feb). Effect of nonsurgical periodontal therapy. I. Moderately advanced periodontitis. *J Clin Periodontol*, *8*(1), 57-72. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.1981.tb02024.x>

- Bassani, D. G., Olinto, M. T., & Kreiger, N. (2007, Jan). Periodontal disease and perinatal outcomes: a case-control study. *J Clin Periodontol*, 34(1), 31-39. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2006.01012.x>
- Blanc, V., O'Valle, F., Pozo, E., Puertas, A., Leon, R., & Mesa, F. (2015, Oct). Oral bacteria in placental tissues: increased molecular detection in pregnant periodontitis patients. *Oral Dis*, 21(7), 905-912. <https://doi.org/10.1111/odi.12364>
- Blencowe, H., Cousens, S., Oestergaard, M. Z., Chou, D., Moller, A. B., Narwal, R., Adler, A., Vera Garcia, C., Rohde, S., Say, L., & Lawn, J. E. (2012, Jun 9). National, regional, and worldwide estimates of preterm birth rates in the year 2010 with time trends since 1990 for selected countries: a systematic analysis and implications. *Lancet*, 379(9832), 2162-2172. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60820-4](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60820-4)
- Bobetsis, Y. A., Barros, S. P., & Offenbacher, S. (2006, Oct). Exploring the relationship between periodontal disease and pregnancy complications. *J Am Dent Assoc*, 137 Suppl, 7S-13S. <https://doi.org/10.14219/jada.archive.2006.0403>
- Bobetsis, Y. A., Graziani, F., Gursoy, M., & Madianos, P. N. (2020, Jun). Periodontal disease and adverse pregnancy outcomes. *Periodontol* 2000, 83(1), 154-174. <https://doi.org/10.1111/prd.12294>
- Bravo Pérez, M., Almerich Silla, J., Ausina Márquez, V., Avilés Gutiérrez, P., Blanco González, J., Canorea Díaz, E., Casals Peidró, E., Gómez Santos, G., Hita Iglesias, C., & Llodra Calvo, J. C. (2016). Encuesta de salud oral en España 2015.

- Buhimschi, C. S., Schatz, F., Krikun, G., Buhimschi, I. A., & Lockwood, C. J. (2010, Nov 1). Novel insights into molecular mechanisms of abruption-induced preterm birth. *Expert Rev Mol Med*, *12*, e35. <https://doi.org/10.1017/S1462399410001675>
- Carasol, M., Llodra, J. C., Fernandez-Meseguer, A., Bravo, M., Garcia-Margallo, M. T., Calvo-Bonacho, E., Sanz, M., & Herrera, D. (2016, Jul). Periodontal conditions among employed adults in Spain. *J Clin Periodontol*, *43*(7), 548-556. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12558>
- Challis, J. R., & Hooper, S. (1989, Nov). Birth: outcome of a positive cascade. *Baillieres Clin Endocrinol Metab*, *3*(3), 781-793. [https://doi.org/10.1016/s0950-351x\(89\)80053-9](https://doi.org/10.1016/s0950-351x(89)80053-9)
- Chambrone, L., Guglielmetti, M. R., Pannuti, C. M., & Chambrone, L. A. (2011, Sep). Evidence grade associating periodontitis to preterm birth and/or low birth weight: I. A systematic review of prospective cohort studies. *J Clin Periodontol*, *38*(9), 795-808. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2011.01755.x>
- Cobb, C. M. (1996, Nov). Non-surgical pocket therapy: mechanical. *Ann Periodontol*, *1*(1), 443-490. <https://doi.org/10.1902/annals.1996.1.1.443>
- Cobb, C. M. (2002, May). Clinical significance of non-surgical periodontal therapy: an evidence-based perspective of scaling and root planing. *J Clin Periodontol*, *29 Suppl 2*, 6-16.
- Cohen, J. (1960). A Coefficient of Agreement for Nominal Scales Educ Psychol Meas. *SAGE Publications Inc*, *20*, 37-46.

- Contreras, A., Herrera, J. A., Soto, J. E., Arce, R. M., Jaramillo, A., & Botero, J. E. (2006, Feb). Periodontitis is associated with preeclampsia in pregnant women. *J Periodontol*, 77(2), 182-188. <https://doi.org/10.1902/jop.2006.050020>
- da Silva, H. E. C., Stefani, C. M., de Santos Melo, N., de Almeida de Lima, A., Rosing, C. K., Porporatti, A. L., & Canto, G. L. (2017, Oct 10). Effect of intra-pregnancy nonsurgical periodontal therapy on inflammatory biomarkers and adverse pregnancy outcomes: a systematic review with meta-analysis. *Syst Rev*, 6(1), 197. <https://doi.org/10.1186/s13643-017-0587-3>
- Davenport, E. S., Williams, C. E., Sterne, J. A., Murad, S., Sivapathasundram, V., & Curtis, M. A. (2002, May). Maternal periodontal disease and preterm low birthweight: case-control study. *J Dent Res*, 81(5), 313-318. <https://doi.org/10.1177/154405910208100505>
- Dinarello, C. A. (2000, Aug). Proinflammatory cytokines. *Chest*, 118(2), 503-508. <https://doi.org/10.1378/chest.118.2.503>
- Dortbudak, O., Eberhardt, R., Ulm, M., & Persson, G. R. (2005, Jan). Periodontitis, a marker of risk in pregnancy for preterm birth. *J Clin Periodontol*, 32(1), 45-52. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2004.00630.x>
- Esplin, M. S., O'Brien, E., Fraser, A., Kerber, R. A., Clark, E., Simonsen, S. E., Holmgren, C., Mineau, G. P., & Varner, M. W. (2008, Sep). Estimating recurrence of spontaneous preterm delivery. *Obstet Gynecol*, 112(3), 516-523. <https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e318184181a>

- Fiorini, T., Susin, C., da Rocha, J. M., Weidlich, P., Vianna, P., Moreira, C. H., Bogo Chies, J. A., Rosing, C. K., & Oppermann, R. V. (2013, Feb). Effect of nonsurgical periodontal therapy on serum and gingival crevicular fluid cytokine levels during pregnancy and postpartum. *J Periodontal Res*, 48(1), 126-133. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2012.01513.x>
- Fuchs, F., Monet, B., Ducruet, T., Chaillet, N., & Audibert, F. (2018). Effect of maternal age on the risk of preterm birth: A large cohort study. *PLoS One*, 13(1), e0191002. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0191002>
- Garlet, G. P. (2010, Dec). Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *J Dent Res*, 89(12), 1349-1363. <https://doi.org/10.1177/0022034510376402>
- Garrett, J. S. (1983, Sep). Effects of nonsurgical periodontal therapy on periodontitis in humans. A review. *J Clin Periodontol*, 10(5), 515-523. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.1983.tb02181.x>
- Gibbs, R. S., Romero, R., Hillier, S. L., Eschenbach, D. A., & Sweet, R. L. (1992, May). A review of premature birth and subclinical infection. *Am J Obstet Gynecol*, 166(5), 1515-1528. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(92\)91628-n](https://doi.org/10.1016/0002-9378(92)91628-n)
- Goldenberg, R. L., & Culhane, J. F. (2006, Nov 2). Preterm birth and periodontal disease. *N Engl J Med*, 355(18), 1925-1927. <https://doi.org/10.1056/NEJMe068210>

- Gomes-Filho, I. S., Pereira, E. C., Cruz, S. S., Adan, L. F., Vianna, M. I., Passos-Soares, J. S., Trindade, S. C., Oliveira, E. P., Oliveira, M. T., Cerqueira Ede, M., Pereira, A. L., Barreto, M. L., & Seymour, G. J. (2016, Mar). Relationship Among Mothers' Glycemic Level, Periodontitis, and Birth Weight. *J Periodontol*, 87(3), 238-247. <https://doi.org/10.1902/jop.2015.150423>
- Graves, D. T., Fine, D., Teng, Y. T., Van Dyke, T. E., & Hajishengallis, G. (2008, Feb). The use of rodent models to investigate host-bacteria interactions related to periodontal diseases. *J Clin Periodontol*, 35(2), 89-105. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2007.01172.x>
- Guntheroth, W. G. (1984, Oct 1). How important are dental procedures as a cause of infective endocarditis? *Am J Cardiol*, 54(7), 797-801. [https://doi.org/10.1016/s0002-9149\(84\)80211-8](https://doi.org/10.1016/s0002-9149(84)80211-8)
- Haerian-Ardakani, A., Eslami, Z., Rashidi-Meibodi, F., Haerian, A., Dallalnejad, P., Shekari, M., Moein Taghavi, A., & Akbari, S. (2013, Aug). Relationship between maternal periodontal disease and low birth weight babies. *Iran J Reprod Med*, 11(8), 625-630.
- Halasz, M., & Szekeres-Bartho, J. (2013, Mar). The role of progesterone in implantation and trophoblast invasion. *J Reprod Immunol*, 97(1), 43-50. <https://doi.org/10.1016/j.jri.2012.10.011>
- Han, Y. W. (2011, Mar). Oral health and adverse pregnancy outcomes - what's next? *J Dent Res*, 90(3), 289-293. <https://doi.org/10.1177/0022034510381905>

- Han, Y. W., Redline, R. W., Li, M., Yin, L., Hill, G. B., & McCormick, T. S. (2004, Apr). *Fusobacterium nucleatum* induces premature and term stillbirths in pregnant mice: implication of oral bacteria in preterm birth. *Infect Immun*, 72(4), 2272-2279. <https://doi.org/10.1128/iai.72.4.2272-2279.2004>
- Han, Y. W., Shen, T., Chung, P., Buhimschi, I. A., & Buhimschi, C. S. (2009, Jan). Uncultivated bacteria as etiologic agents of intra-amniotic inflammation leading to preterm birth. *J Clin Microbiol*, 47(1), 38-47. <https://doi.org/10.1128/JCM.01206-08>
- Haram, K., Mortensen, J. H., & Wollen, A. L. (2003, Aug). Preterm delivery: an overview. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 82(8), 687-704. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0412.2003.00218.x>
- Harger, J. H., Hsing, A. W., Tuomala, R. E., Gibbs, R. S., Mead, P. B., Eschenbach, D. A., Knox, G. E., & Polk, B. F. (1990, Jul). Risk factors for preterm premature rupture of fetal membranes: a multicenter case-control study. *Am J Obstet Gynecol*, 163(1 Pt 1), 130-137. [https://doi.org/10.1016/s0002-9378\(11\)90686-3](https://doi.org/10.1016/s0002-9378(11)90686-3)
- Herrera, J. A., Parra, B., Herrera, E., Botero, J. E., Arce, R. M., Contreras, A., & Lopez-Jaramillo, P. (2007, Jul). Periodontal disease severity is related to high levels of C-reactive protein in pre-eclampsia. *J Hypertens*, 25(7), 1459-1464. <https://doi.org/10.1097/HJH.0b013e3281139ea9>
- Hughes, F. J., & Smales, F. C. (1986, Nov). Immunohistochemical investigation of the presence and distribution of cementum-associated lipopolysaccharides in periodontal disease. *J*

*Periodontal Res*, 21(6), 660-667.  
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.1986.tb01503.x>

Ide, M., & Papapanou, P. N. (2013, Apr). Epidemiology of association between maternal periodontal disease and adverse pregnancy outcomes--systematic review. *J Clin Periodontol*, 40 Suppl 14, S181-194. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12063>

Jacob, P. S., & Nath, S. (2014, Apr). Periodontitis among poor rural Indian mothers increases the risk of low birth weight babies: a hospital-based case control study. *J Periodontal Implant Sci*, 44(2), 85-93. <https://doi.org/10.5051/jpis.2014.44.2.85>

Jeffcoat, M., Parry, S., Sammel, M., Clothier, B., Catlin, A., & Macones, G. (2011, Jan). Periodontal infection and preterm birth: successful periodontal therapy reduces the risk of preterm birth. *BJOG*, 118(2), 250-256. <https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2010.02713.x>

Jeffcoat, M. K., Hauth, J. C., Geurs, N. C., Reddy, M. S., Cliver, S. P., Hodgkins, P. M., & Goldenberg, R. L. (2003, Aug). Periodontal disease and preterm birth: results of a pilot intervention study. *J Periodontol*, 74(8), 1214-1218. <https://doi.org/10.1902/jop.2003.74.8.1214>

Kassebaum, N. J., Bernabe, E., Dahiya, M., Bhandari, B., Murray, C. J., & Marcenes, W. (2014, Nov). Global burden of severe periodontitis in 1990-2010: a systematic review and meta-regression. *J Dent Res*, 93(11), 1045-1053. <https://doi.org/10.1177/0022034514552491>

Kaur, M., Geisinger, M. L., Geurs, N. C., Griffin, R., Vassilopoulos, P. J., Vermeulen, L., Haigh, S., & Reddy, M. S. (2014, Dec).

Effect of intensive oral hygiene regimen during pregnancy on periodontal health, cytokine levels, and pregnancy outcomes: a pilot study. *J Periodontol*, 85(12), 1684-1692. <https://doi.org/10.1902/jop.2014.140248>

Khairnar, M. S., Pawar, B. R., Marawar, P. P., & Khairnar, D. M. (2015, Mar). Estimation of changes in C-reactive protein level and pregnancy outcome after nonsurgical supportive periodontal therapy in women affected with periodontitis in a rural set up of India. *Contemp Clin Dent*, 6(Suppl 1), S5-S11. <https://doi.org/10.4103/0976-237X.152930>

Kiely, J. L. (1998, Mar). What is the population-based risk of preterm birth among twins and other multiples? *Clin Obstet Gynecol*, 41(1), 3-11. <https://doi.org/10.1097/00003081-199803000-00005>

Kieser, J. B. (1994). Nonsurgical periodontal therapy. Proceedings of the 1st European Workshop on Periodontology,

Kim, C. J., Romero, R., Chaemsathong, P., Chaiyasit, N., Yoon, B. H., & Kim, Y. M. (2015, Oct). Acute chorioamnionitis and funisitis: definition, pathologic features, and clinical significance. *Am J Obstet Gynecol*, 213(4 Suppl), S29-52. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.08.040>

Kim, C. J., Romero, R., Chaemsathong, P., & Kim, J. S. (2015, Oct). Chronic inflammation of the placenta: definition, classification, pathogenesis, and clinical significance. *Am J Obstet Gynecol*, 213(4 Suppl), S53-69. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.08.041>

- Klatsky, P. C., Tran, N. D., Caughey, A. B., & Fujimoto, V. Y. (2008, Apr). Fibroids and reproductive outcomes: a systematic literature review from conception to delivery. *Am J Obstet Gynecol*, 198(4), 357-366. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2007.12.039>
- Korebrits, C., Ramirez, M. M., Watson, L., Brinkman, E., Bocking, A. D., & Challis, J. R. (1998, May). Maternal corticotropin-releasing hormone is increased with impending preterm birth. *J Clin Endocrinol Metab*, 83(5), 1585-1591. <https://doi.org/10.1210/jcem.83.5.4804>
- Kumar, A., Begum, N., Prasad, S., Lamba, A. K., Verma, M., Agarwal, S., & Sharma, S. (2014, Apr). Role of cytokines in development of pre-eclampsia associated with periodontal disease - Cohort Study. *J Clin Periodontol*, 41(4), 357-365. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12226>
- Kyrklund-Blomberg, N. B., & Cnattingius, S. (1998, Oct). Preterm birth and maternal smoking: risks related to gestational age and onset of delivery. *Am J Obstet Gynecol*, 179(4), 1051-1055. [https://doi.org/10.1016/s0002-9378\(98\)70214-5](https://doi.org/10.1016/s0002-9378(98)70214-5)
- Lockwood, C. J. (1999, Jan). Stress-associated preterm delivery: the role of corticotropin-releasing hormone. *Am J Obstet Gynecol*, 180(1 Pt 3), S264-266. [https://doi.org/10.1016/s0002-9378\(99\)70713-1](https://doi.org/10.1016/s0002-9378(99)70713-1)
- Lohana, M. H., Suragimath, G., Patange, R. P., Varma, S., & Zope, S. A. (2017, Feb). A Prospective Cohort Study to Assess and Correlate the Maternal Periodontal Status with Their Pregnancy Outcome. *J Obstet Gynaecol India*, 67(1), 27-32. <https://doi.org/10.1007/s13224-016-0920-0>

- Lopez, N. J., Da Silva, I., Ipinza, J., & Gutierrez, J. (2005, Nov). Periodontal Therapy Reduces the Rate of Preterm Low Birth Weight in Women With Pregnancy-Associated Gingivitis. *J Periodontol*, 76 Suppl 11S, 2144-2153. <https://doi.org/10.1902/jop.2005.76.11-S.2144>
- Lopez, N. J., Smith, P. C., & Gutierrez, J. (2002, Aug). Periodontal therapy may reduce the risk of preterm low birth weight in women with periodontal disease: a randomized controlled trial. *J Periodontol*, 73(8), 911-924. <https://doi.org/10.1902/jop.2002.73.8.911>
- Lopez, N. J., Uribe, S., & Martinez, B. (2015, Feb). Effect of periodontal treatment on preterm birth rate: a systematic review of meta-analyses. *Periodontol 2000*, 67(1), 87-130. <https://doi.org/10.1111/prd.12073>
- Ludmir, J., & Sehdev, H. M. (2000, Sep). Anatomy and physiology of the uterine cervix. *Clin Obstet Gynecol*, 43(3), 433-439. <https://doi.org/10.1097/00003081-200009000-00003>
- Lykke, J. A., Dideriksen, K. L., Lidegaard, O., & Langhoff-Roos, J. (2010, May). First-trimester vaginal bleeding and complications later in pregnancy. *Obstet Gynecol*, 115(5), 935-944. <https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e3181da8d38>
- Macones, G. A., Parry, S., Nelson, D. B., Strauss, J. F., Ludmir, J., Cohen, A. W., Stamilio, D. M., Appleby, D., Clothier, B., Sammel, M. D., & Jeffcoat, M. (2010, Feb). Treatment of localized periodontal disease in pregnancy does not reduce the occurrence of preterm birth: results from the Periodontal Infections and Prematurity Study (PIPS). *Am J Obstet*

*Gynecol*, 202(2), 147 e141-148.  
<https://doi.org/10.1016/j.ajog.2009.10.892>

Madianos, P. N., Bobetsis, Y. A., & Offenbacher, S. (2013a, Apr). Adverse pregnancy outcomes (APOs) and periodontal disease: pathogenic mechanisms. *J Clin Periodontol*, 40 Suppl 14, S170-180. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12082>

Madianos, P. N., Bobetsis, Y. A., & Offenbacher, S. (2013b, Apr). Adverse pregnancy outcomes (APOs) and periodontal disease: pathogenic mechanisms. *J Periodontol*, 84(4 Suppl), S170-180. <https://doi.org/10.1902/jop.2013.1340015>

Madianos, P. N., Lieff, S., Murtha, A. P., Boggess, K. A., Auten, R. L., Jr., Beck, J. D., & Offenbacher, S. (2001, Dec). Maternal periodontitis and prematurity. Part II: Maternal infection and fetal exposure. *Ann Periodontol*, 6(1), 175-182. <https://doi.org/10.1902/annals.2001.6.1.175>

Manau, C., Echeverria, A., Agueda, A., Guerrero, A., & Echeverria, J. J. (2008, May). Periodontal disease definition may determine the association between periodontitis and pregnancy outcomes. *J Clin Periodontol*, 35(5), 385-397. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2008.01222.x>

Marsh, P. D. (2003, Feb). Are dental diseases examples of ecological catastrophes? *Microbiology (Reading)*, 149(Pt 2), 279-294. <https://doi.org/10.1099/mic.0.26082-0>

Martinez de Tejada, B., Gayet-Ageron, A., Combescure, C., Irion, O., & Baehni, P. (2012, Nov). Association between early preterm birth and periodontitis according to USA and European

consensus definitions. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 25(11), 2160-2166. <https://doi.org/10.3109/14767058.2012.663827>

Martinez-Martinez, R. E., Moreno-Castillo, D. F., Loyola-Rodriguez, J. P., Sanchez-Medrano, A. G., Miguel-Hernandez, J. H., Olvera-Delgado, J. H., & Dominguez-Perez, R. A. (2016, Jul). Association between periodontitis, periodontopathogens and preterm birth: is it real? *Arch Gynecol Obstet*, 294(1), 47-54. <https://doi.org/10.1007/s00404-015-3945-1>

Mercer, B. M., Goldenberg, R. L., Moawad, A. H., Meis, P. J., Iams, J. D., Das, A. F., Caritis, S. N., Miodovnik, M., Menard, M. K., Thurnau, G. R., Dombrowski, M. P., Roberts, J. M., & McNellis, D. (1999, Nov). The preterm prediction study: effect of gestational age and cause of preterm birth on subsequent obstetric outcome. National Institute of Child Health and Human Development Maternal-Fetal Medicine Units Network. *Am J Obstet Gynecol*, 181(5 Pt 1), 1216-1221. [https://doi.org/10.1016/s0002-9378\(99\)70111-0](https://doi.org/10.1016/s0002-9378(99)70111-0)

Mesa, F., Pozo, E., Blanc, V., Puertas, A., Bravo, M., & O'Valle, F. (2013, Sep). Are periodontal bacterial profiles and placental inflammatory infiltrate in pregnancy related to birth outcomes? *J Periodontol*, 84(9), 1327-1336. <https://doi.org/10.1902/jop.2012.120462>

Meyle, J., & Chapple, I. (2015, Oct). Molecular aspects of the pathogenesis of periodontitis. *Periodontol 2000*, 69(1), 7-17. <https://doi.org/10.1111/prd.12104>

Michalowicz, B. S., Hodges, J. S., DiAngelis, A. J., Lupo, V. R., Novak, M. J., Ferguson, J. E., Buchanan, W., Bofill, J., Papapanou, P. N., Mitchell, D. A., Matseoane, S., Tschida, P.

- A., & Study, O. P. T. (2006, Nov 2). Treatment of periodontal disease and the risk of preterm birth. *N Engl J Med*, 355(18), 1885-1894. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa062249>
- Michalowicz, B. S., Novak, M. J., Hodges, J. S., DiAngelis, A., Buchanan, W., Papapanou, P. N., Mitchell, D. A., Ferguson, J. E., Lupo, V., Bofill, J., Matseoane, S., Steffen, M., & Ebersole, J. L. (2009, Nov). Serum inflammatory mediators in pregnancy: changes after periodontal treatment and association with pregnancy outcomes. *J Periodontol*, 80(11), 1731-1741. <https://doi.org/10.1902/jop.2009.090236>
- Michelin, M. C., Teixeira, S. R., Ando-Sugimoto, E. S., Lucas, S. R., & Mayer, M. P. (2012, Oct). Porphyromonas gingivalis infection at different gestation periods on fetus development and cytokines profile. *Oral Dis*, 18(7), 648-654. <https://doi.org/10.1111/j.1601-0825.2012.01917.x>
- Mitchell-Lewis, D., Engebretson, S. P., Chen, J., Lamster, I. B., & Papapanou, P. N. (2001, Feb). Periodontal infections and preterm birth: early findings from a cohort of young minority women in New York. *Eur J Oral Sci*, 109(1), 34-39. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0722.2001.00966.x>
- Moore, S., Randhawa, M., & Ide, M. (2005, Jan). A case-control study to investigate an association between adverse pregnancy outcome and periodontal disease. *J Clin Periodontol*, 32(1), 1-5. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2004.00598.x>
- Moroz, L. A., & Simhan, H. N. (2014, Jun). Rate of sonographic cervical shortening and biologic pathways of spontaneous preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*, 210(6), 555 e551-555. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2013.12.037>

- Nakajima, S. T., Nason, F. G., Badger, G. J., & Gibson, M. (1991, Mar). Progesterone production in early pregnancy. *Fertil Steril*, 55(3), 516-521.
- Newman, R. B., Goldenberg, R. L., Iams, J. D., Meis, P. J., Mercer, B. M., Moawad, A. H., Thom, E., Miodovnik, M., Caritis, S. N., Dombrowski, M., National Institute of Child, H., & Human Development Maternal-Fetal Medicine Units, N. (2008, Sep). Preterm prediction study: comparison of the cervical score and Bishop score for prediction of spontaneous preterm delivery. *Obstet Gynecol*, 112(3), 508-515. <https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e3181842087>
- Newnham, J. P., Newnham, I. A., Ball, C. M., Wright, M., Pennell, C. E., Swain, J., & Doherty, D. A. (2009, Dec). Treatment of periodontal disease during pregnancy: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol*, 114(6), 1239-1248. <https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e3181c15b40>
- Noack, B., Klingenberg, J., Weigelt, J., & Hoffmann, T. (2005, Aug). Periodontal status and preterm low birth weight: a case control study. *J Periodontal Res*, 40(4), 339-345. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2005.00808.x>
- Novak, M. J., Novak, K. F., Hodges, J. S., Kirakodu, S., Govindaswami, M., Diangelis, A., Buchanan, W., Papapanou, P. N., & Michalowicz, B. S. (2008, Oct). Periodontal bacterial profiles in pregnant women: response to treatment and associations with birth outcomes in the obstetrics and periodontal therapy (OPT) study. *J Periodontol*, 79(10), 1870-1879. <https://doi.org/10.1902/jop.2008.070554>

- O'Leary, T. J., Drake, R. B., & Naylor, J. E. (1972, Jan). The plaque control record. *J Periodontol*, 43(1), 38.  
<https://doi.org/10.1902/jop.1972.43.1.38>
- Offenbacher, S., Beck, J. D., Jared, H. L., Mauriello, S. M., Mendoza, L. C., Couper, D. J., Stewart, D. D., Murtha, A. P., Cochran, D. L., Dudley, D. J., Reddy, M. S., Geurs, N. C., Hauth, J. C., & Maternal Oral Therapy to Reduce Obstetric Risk, I. (2009, Sep). Effects of periodontal therapy on rate of preterm delivery: a randomized controlled trial. *Obstet Gynecol*, 114(3), 551-559.  
<https://doi.org/10.1097/AOG.0b013e3181b1341f>
- Offenbacher, S., Boggess, K. A., Murtha, A. P., Jared, H. L., Lieff, S., McKaig, R. G., Mauriello, S. M., Moss, K. L., & Beck, J. D. (2006, Jan). Progressive periodontal disease and risk of very preterm delivery. *Obstet Gynecol*, 107(1), 29-36.  
<https://doi.org/10.1097/01.AOG.0000190212.87012.96>
- Offenbacher, S., Katz, V., Fertik, G., Collins, J., Boyd, D., Maynor, G., McKaig, R., & Beck, J. (1996, Oct). Periodontal Infection as a Possible Risk Factor for Preterm Low Birth Weight. *J Periodontol*, 67 Suppl 10S, 1103-1113.  
<https://doi.org/10.1902/jop.1996.67.10s.1103>
- Offenbacher, S., Lieff, S., Boggess, K. A., Murtha, A. P., Madianos, P. N., Champagne, C. M., McKaig, R. G., Jared, H. L., Mauriello, S. M., Auten, R. L., Jr., Herbert, W. N., & Beck, J. D. (2001, Dec). Maternal periodontitis and prematurity. Part I: Obstetric outcome of prematurity and growth restriction. *Ann Periodontol*, 6(1), 164-174.  
<https://doi.org/10.1902/annals.2001.6.1.164>

- Offenbacher, S., Lin, D., Strauss, R., McKaig, R., Irving, J., Barros, S. P., Moss, K., Barrow, D. A., Hefti, A., & Beck, J. D. (2006, Dec). Effects of periodontal therapy during pregnancy on periodontal status, biologic parameters, and pregnancy outcomes: a pilot study. *J Periodontol*, 77(12), 2011-2024. <https://doi.org/10.1902/jop.2006.060047>
- Oliveira, A. M., de Oliveira, P. A., Cota, L. O., Magalhaes, C. S., Moreira, A. N., & Costa, F. O. (2011, Oct). Periodontal therapy and risk for adverse pregnancy outcomes. *Clin Oral Investig*, 15(5), 609-615. <https://doi.org/10.1007/s00784-010-0424-8>
- Organization, W. H. (1950). *Technical report series*. World Health Organization.
- Page, R. C., & Kornman, K. S. (1997, Jun). The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontol 2000*, 14, 9-11. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.1997.tb00189.x>
- Papapanou, P. N., Sanz, M., Buduneli, N., Dietrich, T., Feres, M., Fine, D. H., Flemmig, T. F., Garcia, R., Giannobile, W. V., Graziani, F., Greenwell, H., Herrera, D., Kao, R. T., Kerschull, M., Kinane, D. F., Kirkwood, K. L., Kocher, T., Kornman, K. S., Kumar, P. S., Loos, B. G., Machtei, E., Meng, H., Mombelli, A., Needleman, I., Offenbacher, S., Seymour, G. J., Teles, R., & Tonetti, M. S. (2018, Jun). Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J Clin Periodontol*, 45 Suppl 20, S162-S170. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12946>

- Park, C. W., Yoon, B. H., Park, J. S., & Jun, J. K. (2013, Jun). An elevated maternal serum C-reactive protein in the context of intra-amniotic inflammation is an indicator that the development of amnionitis, an intense fetal and AF inflammatory response are likely in patients with preterm labor: clinical implications. *J Matern Fetal Neonatal Med*, 26(9), 847-853.  
<https://doi.org/10.3109/14767058.2013.783806>
- Penova-Veselinovic, B., Keelan, J. A., Wang, C. A., Newnham, J. P., & Pennell, C. E. (2015, Nov). Changes in inflammatory mediators in gingival crevicular fluid following periodontal disease treatment in pregnancy: relationship to adverse pregnancy outcome. *J Reprod Immunol*, 112, 1-10.  
<https://doi.org/10.1016/j.jri.2015.05.002>
- Petrini, M., Gürsoy, M., Gennai, S., & Graziani, F. (2017). Biological mechanisms between periodontal diseases and pregnancy complications. A systematic review and meta-analysis of epidemiological association between adverse pregnancy outcomes and periodontitis: an update of the review by Ide & Papananou (2013). *Eur Fed Periodontol*, 000-000.
- Pirie, M., Linden, G., & Irwin, C. (2013, Oct). Intrapregnancy non-surgical periodontal treatment and pregnancy outcome: a randomized controlled trial. *J Periodontol*, 84(10), 1391-1400.  
<https://doi.org/10.1902/jop.2012.120572>
- Polyzos, N. P., Polyzos, I. P., Zavos, A., Valachis, A., Mauri, D., Papanikolaou, E. G., Tzioras, S., Weber, D., & Messinis, I. E. (2010, Dec 29). Obstetric outcomes after treatment of periodontal disease during pregnancy: systematic review and

meta-analysis. *BMJ*, 341, c7017.  
<https://doi.org/10.1136/bmj.c7017>

Prince, A. L., Ma, J., Kannan, P. S., Alvarez, M., Gisslen, T., Harris, R. A., Sweeney, E. L., Knox, C. L., Lambers, D. S., Jobe, A. H., Chougnet, C. A., Kallapur, S. G., & Aagaard, K. M. (2016, May). The placental membrane microbiome is altered among subjects with spontaneous preterm birth with and without chorioamnionitis. *Am J Obstet Gynecol*, 214(5), 627 e621-627 e616. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2016.01.193>

Raber-Durlacher, J. E., van Steenberg, T. J., Van der Velden, U., de Graaff, J., & Abraham-Inpijn, L. (1994, Sep). Experimental gingivitis during pregnancy and post-partum: clinical, endocrinological, and microbiological aspects. *J Clin Periodontol*, 21(8), 549-558. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.1994.tb01172.x>

Radnai, M., Pal, A., Novak, T., Urban, E., Eller, J., & Gorzo, I. (2009, Mar). Benefits of periodontal therapy when preterm birth threatens. *J Dent Res*, 88(3), 280-284. <https://doi.org/10.1177/0022034508330229>

Reddy, B. V., Tanneeru, S., & Chava, V. K. (2014, Jan). The effect of phase-I periodontal therapy on pregnancy outcome in chronic periodontitis patients. *J Obstet Gynaecol*, 34(1), 29-32. <https://doi.org/10.3109/01443615.2013.829029>

Saccone, G., Perriera, L., & Berghella, V. (2016, May). Prior uterine evacuation of pregnancy as independent risk factor for preterm birth: a systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol*, 214(5), 572-591. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2015.12.044>

- Sadatmansouri, S., Sedighpoor, N., & Aghaloo, M. (2006, Mar). Effects of periodontal treatment phase I on birth term and birth weight. *J Indian Soc Pedod Prev Dent*, 24(1), 23-26. <https://doi.org/10.4103/0970-4388.22831>
- Salafia, C. M., Vogel, C. A., Vintzileos, A. M., Bantham, K. F., Pezzullo, J., & Silberman, L. (1991, Oct). Placental pathologic findings in preterm birth. *Am J Obstet Gynecol*, 165(4 Pt 1), 934-938. [https://doi.org/10.1016/0002-9378\(91\)90443-u](https://doi.org/10.1016/0002-9378(91)90443-u)
- Santa Cruz, I., Herrera, D., Martin, C., Herrero, A., & Sanz, M. (2013, Aug). Association between periodontal status and pre-term and/or low-birth weight in Spain: clinical and microbiological parameters. *J Periodontal Res*, 48(4), 443-451. <https://doi.org/10.1111/jre.12024>
- Sanz, M., Kornman, K., & Working group 3 of joint, E. F. P. A. A. P. w. (2013, Apr). Periodontitis and adverse pregnancy outcomes: consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J Clin Periodontol*, 40 Suppl 14, S164-169. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12083>
- Schieve, L. A., Meikle, S. F., Ferre, C., Peterson, H. B., Jeng, G., & Wilcox, L. S. (2002, Mar 7). Low and very low birth weight in infants conceived with use of assisted reproductive technology. *N Engl J Med*, 346(10), 731-737. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa010806>
- Shapiro-Mendoza, C. K., Barfield, W. D., Henderson, Z., James, A., Howse, J. L., Iskander, J., & Thorpe, P. G. (2016, Aug 19). CDC Grand Rounds: Public Health Strategies to Prevent Preterm Birth. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep*, 65(32), 826-830. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6532a4>

- Sharma, A., Ramesh, A., & Thomas, B. (2009, Sep). Evaluation of plasma C-reactive protein levels in pregnant women with and without periodontal disease: A comparative study. *J Indian Soc Periodontol*, 13(3), 145-149. <https://doi.org/10.4103/0972-124X.60227>
- Siqueira, F. M., Cota, L. O., Costa, J. E., Haddad, J. P., Lana, A. M., & Costa, F. O. (2007, Dec). Intrauterine growth restriction, low birth weight, and preterm birth: adverse pregnancy outcomes and their association with maternal periodontitis. *J Periodontol*, 78(12), 2266-2276. <https://doi.org/10.1902/jop.2007.070196>
- Socransky, S. S., Haffajee, A. D., Cugini, M. A., Smith, C., & Kent, R. L., Jr. (1998, Feb). Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*, 25(2), 134-144. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.1998.tb02419.x>
- Srinivasjois, R. M., Shah, S., Shah, P. S., & Knowledge Synthesis Group on Determinants Of Preterm, L. B. W. B. (2012, Oct). Biracial couples and adverse birth outcomes: a systematic review and meta-analyses. *Acta Obstet Gynecol Scand*, 91(10), 1134-1146. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0412.2012.01501.x>
- Stout, M. J., Conlon, B., Landeau, M., Lee, I., Bower, C., Zhao, Q., Roehl, K. A., Nelson, D. M., Macones, G. A., & Mysorekar, I. U. (2013, Mar). Identification of intracellular bacteria in the basal plate of the human placenta in term and preterm gestations. *Am J Obstet Gynecol*, 208(3), 226 e221-227. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2013.01.018>

- Suvan, J. E. (2005). Effectiveness of mechanical nonsurgical pocket therapy. *Periodontol* 2000, 37, 48-71. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2004.03794.x>
- Swati, P., Ambika Devi, K., Thomas, B., Vahab, S. A., Kapaettu, S., & Kushtagi, P. (2012, Mar). Simultaneous detection of periodontal pathogens in subgingival plaque and placenta of women with hypertension in pregnancy. *Arch Gynecol Obstet*, 285(3), 613-619. <https://doi.org/10.1007/s00404-011-2012-9>
- Syed, S. A., & Loesche, W. J. (1972, Oct). Survival of human dental plaque flora in various transport media. *Appl Microbiol*, 24(4), 638-644.
- Taani, D. Q., Habashneh, R., Hammad, M. M., & Batieha, A. (2003, Apr). The periodontal status of pregnant women and its relationship with socio-demographic and clinical variables. *J Oral Rehabil*, 30(4), 440-445. <https://doi.org/10.1046/j.1365-2842.2003.01058.x>
- TambyRaja, R. L., & Ratnam, S. S. (1981). Plasma steroid changes in twin pregnancies. *Prog Clin Biol Res*, 69A, 189-195.
- Tarannum, F., & Faizuddin, M. (2007, Nov). Effect of periodontal therapy on pregnancy outcome in women affected by periodontitis. *J Periodontol*, 78(11), 2095-2103. <https://doi.org/10.1902/jop.2007.060388>
- Temoin, S., Chakaki, A., Askari, A., El-Halaby, A., Fitzgerald, S., Marcus, R. E., Han, Y. W., & Bissada, N. F. (2012, Apr). Identification of oral bacterial DNA in synovial fluid of patients with arthritis with native and failed prosthetic joints. *J*

*Clin Rheumatol*, 18(3), 117-121.  
<https://doi.org/10.1097/RHU.0b013e3182500c95>

Thunell, D. H., Tymkiw, K. D., Johnson, G. K., Joly, S., Burnell, K. K., Cavanaugh, J. E., Brogden, K. A., & Guthmiller, J. M. (2010, Feb). A multiplex immunoassay demonstrates reductions in gingival crevicular fluid cytokines following initial periodontal therapy. *J Periodontal Res*, 45(1), 148-152.  
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2009.01204.x>

Tonetti, M. S., Greenwell, H., & Kornman, K. S. (2018, Jun). Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. *J Clin Periodontol*, 45 Suppl 20, S149-S161. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12945>

Van der Weijden, G. A., & Timmerman, M. F. (2002). A systematic review on the clinical efficacy of subgingival debridement in the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*, 29 Suppl 3, 55-71; discussion 90-51.  
<https://doi.org/10.1034/j.1600-051x.29.s3.3.x>

Van Dyke, T. E. (2008, Aug). The management of inflammation in periodontal disease. *J Periodontol*, 79(8 Suppl), 1601-1608.  
<https://doi.org/10.1902/jop.2008.080173>

Vettore, M. V., Leao, A. T., Leal Mdo, C., Feres, M., & Sheiham, A. (2008, Dec). The relationship between periodontal disease and preterm low birthweight: clinical and microbiological results. *J Periodontal Res*, 43(6), 615-626.  
<https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2007.01027.x>

Vogt, M., Sallum, A. W., Cecatti, J. G., & Morais, S. S. (2010, Nov 3). Periodontal disease and some adverse perinatal outcomes in

- a cohort of low risk pregnant women. *Reprod Health*, 7, 29.  
<https://doi.org/10.1186/1742-4755-7-29>
- Vogt, M., Sallum, A. W., Cecatti, J. G., & Morais, S. S. (2012, Jan 24). Factors associated with the prevalence of periodontal disease in low-risk pregnant women. *Reprod Health*, 9, 3.  
<https://doi.org/10.1186/1742-4755-9-3>
- Wang, Y. L., Liou, J. D., & Pan, W. L. (2013, Mar). Association between maternal periodontal disease and preterm delivery and low birth weight. *Taiwan J Obstet Gynecol*, 52(1), 71-76.  
<https://doi.org/10.1016/j.tjog.2013.01.011>
- Weiss, A., Goldman, S., & Shalev, E. (2007, Jan 1). The matrix metalloproteinases (MMPS) in the decidua and fetal membranes. *Front Biosci*, 12, 649-659.  
<https://doi.org/10.2741/2089>
- Wennstrom, J. L., Tomasi, C., Bertelle, A., & Dellasega, E. (2005, Aug). Full-mouth ultrasonic debridement versus quadrant scaling and root planing as an initial approach in the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*, 32(8), 851-859.  
<https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2005.00776.x>
- Xiong, X., Buekens, P., Fraser, W. D., Beck, J., & Offenbacher, S. (2006, Feb). Periodontal disease and adverse pregnancy outcomes: a systematic review. *BJOG*, 113(2), 135-143.  
<https://doi.org/10.1111/j.1471-0528.2005.00827.x>
- Yalcin, F., Eskinazi, E., Soydinc, M., Basegmez, C., Issever, H., Isik, G., Berber, L., Has, R., Sabuncu, H., & Onan, U. (2002, Feb). The effect of sociocultural status on periodontal conditions in

pregnancy. *J Periodontol*, 73(2), 178-182.  
<https://doi.org/10.1902/jop.2002.73.2.178>

Zhang, G., Feenstra, B., Bacelis, J., Liu, X., Muglia, L. M., Juodakis, J., Miller, D. E., Litterman, N., Jiang, P. P., Russell, L., Hinds, D. A., Hu, Y., Weirauch, M. T., Chen, X., Chavan, A. R., Wagner, G. P., Pavlicev, M., Nnamani, M. C., Maziarz, J., Karjalainen, M. K., Ramet, M., Sengpiel, V., Geller, F., Boyd, H. A., Palotie, A., Momany, A., Bedell, B., Ryckman, K. K., Huusko, J. M., Forney, C. R., Kottyan, L. C., Hallman, M., Teramo, K., Nohr, E. A., Davey Smith, G., Melbye, M., Jacobsson, B., & Muglia, L. J. (2017, Sep 21). Genetic Associations with Gestational Duration and Spontaneous Preterm Birth. *N Engl J Med*, 377(12), 1156-1167.  
<https://doi.org/10.1056/NEJMoal612665>

Zhuang, H., Hong, S., Zheng, L., Zhang, L., Zhuang, X., Wei, H., & Yang, Y. (2019, Jan). Effects of cervical conisation on pregnancy outcome: a meta-analysis. *J Obstet Gynaecol*, 39(1), 74-81. <https://doi.org/10.1080/01443615.2018.1463206>



# **ANEXOS**

---



## 9 ANEXO 1

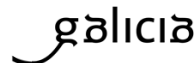
Informe del Comité de ética de investigación Santiago-Lugo.







Secretaría Técnica  
Comité Autonómico de Ética da Investigación de Galicia  
Secretaría Xeral, Consellería de Sanidade  
Edificio Administrativo San Lázaro  
15703 SANTIAGO DE COMPOSTELA  
Tel: 881 546425; ceic@sergas.es



## DITAME DO COMITÉ DE ÉTICA DA INVESTIGACIÓN DE SANTIAGO-LUGO

Carlos Rodríguez Moreno, presidente do Comité de Ética da Investigación de Santiago-Lugo

### CERTIFICA:

Que este Comité avaliou na súa reunión do día 9/15/2016 o estudo:

**Título:** Enfermedad periodontal como factor de riesgo para el nacimiento de niños prematuros y/o bajo peso al nacimiento

**Promotor:** Juan Blanco Carrión

**Tipo de estudo:** Outros

**Versión:**

**Código do Promotor:**

**Código de Rexistro:** 2016/451

E, tomando en consideración as seguintes cuestións:

- A pertinencia do estudo, tendo en conta o coñecemento dispoñible, así coma os requisitos legais aplicables, e en particular a Lei 14/2007, de investigación biomédica, o Real Decreto 1716/2011, de 18 de novembro, polo que se establecen os requisitos básicos de autorización e funcionamento dos biobancos con fins de investigación biomédica e do tratamento das mostras biolóxicas de orixe humana, e se regula o funcionamento e organización do Rexistro Nacional de Biobancos para investigación biomédica, a ORDE SAS/3470/2009, de 16 de decembro, pola que se publican as Directrices sobre estudos Posautorización de Tipo Observacional para medicamentos de uso humano, e o RD 1090/2015, de 4 de decembro, polo que se regulan os ensaios clínicos con medicamentos, os Comités de Ética da Investigación con medicamentos e Rexistro Español de Estudos Clínicos
- A idoneidade do protocolo en relación cos obxectivos do estudo, xustificación dos riscos e molestias previsibles para o suxeito, así coma os beneficios esperados.
- Os principios éticos da Declaración de Helsinki vixente.
- Os Procedementos Normalizados de Traballo do Comité.

Emite un **INFORME FAVORABLE\*** para a realización do estudo polo/a investigador/a do centro:

| Centros                             | Investigadores Principais |
|-------------------------------------|---------------------------|
| Facultade de Medicina e Odontoloxía | Juan Blanco Carrión       |

1.- En la hoja de información al paciente (HIP) se debe incluir un apartado independiente que explique por qué se ofrece participar al paciente.

2.- Debe aclararse qué se hace con los datos al terminar puesto que en el protocolo se dice que los datos se destruyen o anonimizan, solicitándose al paciente en el consentimiento informado (CI) (no se dice nada de las muestras). Sin embargo, dado que en el CI sólo da la opción "Accedo a que se utilicen mis datos en las condiciones detalladas en la hoja de información al participante" (HIP) debe informar que los datos también serán destruidos (como dice con las muestras)

En Santiago de Compostela, a  
O presidente

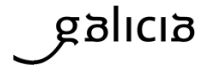


Firmado digitalmente por: RODRIGUEZ  
MORENO CARLOS - 05614327G  
ND: CN = RODRIGUEZ MORENO  
CARLOS - 05614327G C = ES  
Fecha: 2016.09.19 12:15:54 +02'00'



XUNTA DE GALICIA  
CONSELLERÍA DE SANIDADE  
Secretaría Xeral Técnica

Secretaría Técnica  
Comité Autonómico de Ética da Investigación de Galicia  
Secretaría Xeral, Consellería de Sanidade  
Edificio Administrativo San Lázaro  
15703 SANTIAGO DE COMPOSTELA  
Tel: 881 546425; celo@sergas.es



Carlos Rodríguez Moreno, presidente do Comité Territorial de Ética da Investigación de Santiago-Lugo,

**FAI CONSTAR QUE:**

1. O Comité Territorial de Ética da Investigación de Santiago-Lugo cumpre tanto na súa composición coma nos seus PNTs os requisitos legais vixentes (R.D 1090/2015 de ensaios clínicos, e a Lei 14/2007 de Investigación Biomédica).
2. A composición actual do Comité Territorial de Ética da Investigación de Santiago-Lugo é:

**Carlos Rodríguez Moreno (Presidente).** Médico especialista en Farmacoloxía clínica. Área de Xestión Integrada de Santiago.

**Pilar Rodríguez Ledo (Vicepresidenta).** Médico especialista en Medicina Familiar e Comunitaria. Área de Xestión Integrada de Lugo.

**Juan M. Vázquez Lago (Secretario).** Médico especialista en Medicina Preventiva e Saúde Pública. Área de Xestión Integrada de Santiago.

**Lorenzo Armenteros del Olmo.** Médico especialista en Medicina Familiar e Comunitaria. Área de Xestión Integrada de Lugo.

**Francisco Campos Pérez.** Investigador. Instituto de Investigación Sanitaria de Santiago de Compostela.

**Rosana Castelo Domínguez.** Farmacéutica Atención Primaria. Área de Xestión Integrada de Santiago.

**Daniel De La Iglesia García.** Médico especialista en Dixestivo. Área de Xestión Integrada de Santiago.

**Ricardo García Martínez.** Licenciado en Dereito. Área de Xestión Integrada de Lugo.

**Victor Herrán Carreira.** Paciente, ADIL-Asociación de Diabéticos Lucense.

**María Jesús Lamas Díaz.** Farmacéutica especialista en Farmacia Hospitalaria. Área de Xestión Integrada de Santiago.

**María Isabel Loza García.** Licenciada en Farmacia. Universidade de Santiago de Compostela.

**Guillermo José Prada Ramallal.** Médico especialista en Farmacoloxía clínica. Área de Xestión Integrada de Santiago. Fundación "Ramón Domínguez". Santiago

**María Jesús Wandosell Picatoste.** Diplomada en Enfermería. Área de Xestión Integrada de Santiago.

Para que conste onde proceda, e a petición do promotor / investigador, en Santiago de Compostela, a 19 de abril de 2016.

O presidente do Comité Territorial de Ética da Investigación de Santiago Lugo,



Firmado digitalmente por:  
RODRIGUEZ MORENO CARLOS -  
05614327G  
ND: CN = RODRIGUEZ MORENO  
CARLOS - 05614327G C = ES  
Fecha: 2016.09.19 12:16:04 +02'00'

## 10 ANEXO 2

Los resultados de esta tesis se publicaron en la revista *International Journal of Environmental Research an Public Health*.

Caneiro-Queija L, López-Carral J, Martin-Lancharro P, Limeres-Posse J, Diz-Dios P, Blanco-Carrion J. Non-surgical treatment of periodontal disease in a pregnant Caucasian women population: adverse pregnancy outcomes of a randomized clinical trial. *Int J Environ Res Public Health*. 2019 Sep 27;16(19).





Article

# Non-Surgical Treatment of Periodontal Disease in a Pregnant Caucasian Women Population: Adverse Pregnancy Outcomes of a Randomized Clinical Trial

Leticia Caneiro-Queija <sup>1</sup>, Jose López-Carral <sup>1,2</sup>, Pablo Martín-Lancharro <sup>1,2</sup>,  
Jacobo Limeres-Posse <sup>1,3,\*</sup>, Pedro Diz-Dios <sup>1,3</sup> and Juan Blanco-Carrion <sup>1</sup>

- <sup>1</sup> Medical-Surgical Dentistry Research Group (OMEQUI), Health Research Institute of Santiago de Compostela (IDIS), University of Santiago de Compostela (USC), 15782 Santiago de Compostela, Spain; leticiacaneiro@gmail.com (L.C.-Q.); carralami@gmail.com (J.L.-C.); pablo.martin.lancharro@sergas.es (P.M.-L.); pedro.diz@usc.es (P.D.-D.); jblanco@blancoramos.net (J.B.-C.)
- <sup>2</sup> Department of Obstetrics and Gynecology, Clinic University Hospital of Santiago de Compostela, 15782 Santiago de Compostela, Spain
- <sup>3</sup> Special Needs Unit, School of Medicine and Dentistry, Santiago de Compostela University, 15782 Santiago de Compostela, Spain
- \* Correspondence: jacobolimeres@usc.es; Tel.: +3-48-8156-2026; Fax: +3-49-8156-2226

Received: 9 August 2019; Accepted: 24 September 2019; Published: 27 September 2019



**Abstract:** Aim: To analyze if non-surgical treatment of periodontitis in a pregnant Caucasian women population can reduce adverse pregnancy outcomes. Methods and results: A parallel randomized clinical trial was designed and approved by the Ethical Committee of Sanitary Area Santiago-Lugo, Spain (registration number: 2016/451). Forty patients with periodontitis stage II grade B were randomly allocated to receive either comprehensive non-surgical periodontal therapy (test group;  $n = 20$ ) or professional tooth cleaning (control group;  $n = 20$ ) before 24 gestational weeks. Randomization was computer-generated by the statistic program Epidat v.4.1 and allocation was performed using sealed opaque envelopes. Clinical measurements and peripheral blood samples for biochemical variables were collected at baseline, in the middle of second trimester before non-surgical treatment, and in the third trimester. Microbiological samples were collected in the second and third trimester. A statistically significant reduction was verified in all clinical and microbiological parameters after periodontal treatment in the test group. No significant differences were observed for the rest of the variables, including preterm birth and/or low birth weight. No adverse events related to periodontal treatment were reported. Conclusions: Non-surgical periodontal treatment in Caucasian patients with periodontitis stage II grade B did not significantly reduce the risk of adverse pregnancy outcomes.

**Keywords:** preterm birth; low birth weight; pregnancy; periodontal disease

## 1. Introduction

Adverse results of pregnancy, such as preterm birth or low birth weight, can be the cause of mortality and increased morbidity in neonates [1]. Worldwide, preterm birth is the second most common factor of death in children under 5 years old [2].

The prevalence of preterm births varies depending on the country (ranged from 5% in some European countries to 18% in some African countries). Blencowe et al. [3] identified data from 99 countries and estimated the 2010 global prevalence at 11.1% (95% CI = 9.1–13.4%). The preterm birth rate in the 1980s was not vastly different than the current preterm birth rate [4], and it remains an important public health priority worldwide [5].

Periodontitis is an inflammatory infection disease affecting the tooth-supporting tissues, initiated by a biofilm with gram-negative anaerobic microorganism predominance and mediated by the inflammatory response of the host. It is also liable to induce systemic inflammation and consequently modify the normal development of pregnancy [6]. During pregnancy, due to hormonal changes, there may be a tendency towards periodontal disease, in particular, there is an increase of anaerobic gram-negative bacteria such as *Fusobacterium nucleatum*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*, and *Selenomonas sputigena* [7].

Infections account for 75% of premature births and/or low birth weight, while subclinical infections begin to be considered as an important cause of very premature birth (before the 30th week of gestation). However, in more than 50% of cases, the etiological factors of prematurity are unknown [8]. Oral infections might be considered one of these factors, since commensal bacterial species of the oral cavity colonize the fetoplacental unit of women with full-term gestation and with adverse pregnancy outcomes [9]. The bacterial species most strongly associated with adverse pregnancy outcomes include: *Fusobacterium nucleatum*, *Campylobacter rectus*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Bergeyella* spp. [10].

Two main routes have been proposed to trigger an inflammatory response in the fetoplacental unit; the direct route, in which the oral microorganisms and/or their components reach the fetoplacental unit by hematogenous dissemination of the oral cavity or by an ascending route through the genitourinary tract; and the indirect route, in which the inflammatory mediators produced in the periodontal tissues circulate and impact the fetoplacental unit. A large number of studies associate an increase in the levels of local and systemic inflammatory markers with adverse pregnancy outcomes [11]. As well as this, hormonal changes during pregnancy, due to elevated levels of estrogen and progesterone, increase vascular permeability in gingival tissues and, as a consequence, bacteria and/or their products can diffuse more easily [12].

The increase in maternal serum levels of proinflammatory cytokines, such as IL-1, IL-6, IL-8, and TNF- $\alpha$  have been associated with prematurity and low birth weight [13,14]. C-reactive protein, which is an acute-phase reactant synthesized by the liver in response to proinflammatory cytokines, has also been associated with prematurity [15].

Cohort studies have shown a relationship between periodontal disease, premature delivery, and low birth weight [16–18], as it has been confirmed in some systematic reviews [19–22]. On the other hand, clinical trials have studied the effect of periodontal treatment on adverse pregnancy outcomes and showed controversial results [8,21–31]. This is probably because there is a marked heterogeneity between studies in terms of the population's characteristics (race, age, etc.) as well as the periodontitis definition applied. Finally, it should be noted the conclusions reached in the Nine European Workshop on Periodontology in 2012 indicating that, up to now, it is not possible to affirm that periodontal treatment reduces the rates of premature delivery or birth of underweight children [32]. However, these studies have provided that non-surgical periodontal treatment, when performed on pregnant women, is safe for the mother and the fetus [32,33].

Our hypothesis was that periodontitis has an effect on pregnancy outcomes, such as preterm birth and/or low birth weight. Therefore, the aim of the current study is to analyze if non-surgical treatment of periodontitis, using the definition suggested by the EFP-AAP Consensus Meeting [34], can reduce adverse pregnancy outcomes in a pregnant Caucasian women population.

## 2. Material and Methods

### 2.1. Study Design

A parallel randomized clinical trial was designed to test whether the non-surgical periodontal treatment provided during pregnancy affected gestational age at delivery and birth weight. Data were gathered on the pregnant women at three visits: at the end of the first trimester (16 weeks of pregnancy), in the middle of second trimester (22–24 weeks of pregnancy), and at the third trimester (33–36 weeks

of pregnancy), as usually recommended follow-up visits in pregnant woman. No relevant changes were performed after trial commencement.

## 2.2. Study Population

Pregnant women who were seen for prenatal care at the University Hospital of Santiago de Compostela (Spain) were invited to participate in the study when they attended the hospital to undergo the first gynecological clinic appointment between June 2017 and May 2018. During this screening visit, a full-mouth periodontal examination was performed and patients with a periodontitis diagnosis [34] were invited to participate. The sample size was done with PASS v.12 (NCSS, LCC; Kaysville, UT, USA) with an 80% power and a significance level of 0.05, sample size was established as 40 patients. The patients who were included in the study were divided in two groups (test and control) according to a previous computer-generated randomization (generated by the statistic program Epidat v. 4.1) and allocation ratio 1:1 (using sealed opaque envelopes labeled with a study number and containing the group allocation opened by examiner after baseline examination). The test group corresponded to patients with non-surgical periodontal treatment, and the control group consisted of patients without periodontal treatment (Figure 1). All potential participants signed an informed consent form to participate in the study. This protocol was approved by the Ethical Committee of the Sanitary Area Santiago-Lugo, Spain (reference: 2016/451).

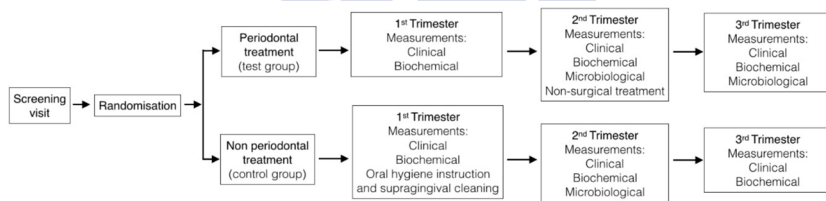


Figure 1. Research outline.

## 2.3. Inclusion/Exclusion Criteria

Inclusion criteria were Caucasian pregnant women (gestational age  $\leq 16$  weeks), aged 18 to 40 years, with more than 20 natural teeth and diagnosis of periodontitis.

Exclusion criteria were multiple gestation; previous preterm low birth weight; more than 1 previous miscarriage or one greater than 18 weeks; diabetes; hypertension; alcoholism; drug abuse; human immunodeficiency virus (HIV) infection; heart disease, kidney disease or liver disease; recurrent cystitis; viral infections; venereal infections; toxoplasmosis; and/or tobacco smoking.

## 2.4. Maternal Characteristics

Demographic data and medical history were assessed by interview during the first visit (16th gestational week). The interview included items on age, educational level (primary or less, high school, and university), area of residence (rural or urban, depending on the number of inhabitants), body mass index (BMI), marital status (single, common-law partner, married), and obstetric history (number of previous pregnancies, previous miscarriage).

The following variables were recorded shortly after delivery: newborn weight, newborn sex, duration of pregnancy, and type of delivery (vaginal or caesarean).

## 2.5. Periodontal Measurements

Full-mouth periodontal examinations were performed by one examiner. The weighted  $\kappa$  values for intra-examiner calibration were 0.82 (CI 95% = 0.68–0.98). Periodontal clinical measurements were recorded at enrolment and repeated at 2nd and 3rd trimester. Exams included all teeth present in

the mouth (excluding third molars). A plaque score [35], periodontal pocket depth (PPD) (six sites per tooth), clinical attachment level (CAL) and bleeding on probing (BOP) [35] (six sites per tooth) were registered. All scores were measured with a manual periodontal probe UNC-15 (Hu-Friedy, Chicago, IL, USA). Periodontitis was defined according to the case definitions of the World Workshop in Periodontology in 2018 [34]:

1. Interdental CAL was detectable at  $\geq 2$  non-adjacent teeth, or
2. Buccal or oral CAL  $\geq 3$  mm with pocketing  $\geq 3$  mm was detectable at  $\geq 2$  teeth but the observed CAL could not be ascribed to non-periodontitis-related causes such as: (1) gingival recession of traumatic origin; (2) dental caries extending in the cervical area of the tooth; (3) presence of CAL on the distal aspect of a second molar and associated with malposition or extraction of a third molar; (4) an endodontic lesion draining through the marginal periodontium; and (5) the occurrence of a vertical root fracture.

#### 2.6. Biochemical Variables

A peripheral blood sample was collected from each subject with venipuncture using a vacuum tube (Vacutainer, Nippon Becton Dickinson Tokyo, Japan). Samples were centrifuged at 2500 rpm for 10 minutes and the serum obtained was dissociated in a plastic tube. At the time of the analyses, the serum concentration of interleukin-6 (IL-6), interleukin-8 (IL-8), tumor necrosis factor- $\alpha$  (TNF), and fibrinogen were determined using commercially available enzyme-linked immunoassays (ELISA).

#### 2.7. Microbiological Variables

In the middle of the second trimester (22–24 weeks of pregnancy) before non-surgical periodontal treatment and before the third trimester, four sites (those with the deepest probing depth) were selected, and two consecutive paper points were inserted and kept in place for 10 s. All paper points were pooled in a vial with reduced transport fluid (RTF) and transferred to the laboratory within 12 h [36].

The obtained samples were dispersed (30 s of vortex), serially diluted and processed for culture by inoculation on two different media: blood agar medium (no 2; Oxoid Ltd., Basingstoke, UK), with horse serum at 5% and with hemin (5mg/L) and Dentaaid-1 medium [37]. The blood agar plates were studied after 14 days of anaerobic incubation (80% N<sub>2</sub>; 10% H<sub>2</sub>; 10% CO<sub>2</sub>) at 37 °C, and after 3–5 days at 37 °C in air with 5% CO<sub>2</sub>.

*Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia*, *Parvimonas micra*, *Campylobacter restus*, *Fusobacterium nucleatum*, *Eikenella corrodens*, and *Capnocytophaga* spp., were identified based mainly on their colony morphology and further confirmed with different specific chemical tests. Counts for every bacterial species were obtained and the percentage relative to the total flora calculated. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* were grown on Dentaaid-1 medium plates, and identified based on colony morphology and catalase reaction.

#### 2.8. Periodontal Treatment

The test group patients received non-surgical periodontal therapy that was completed by the end of week 24 of gestation. This consisted of oral hygiene instructions, followed by mechanical supra and subgingival scaling and root planning (SRP) with Gracey curettes (Hu-Friedy, Chicago, IL, USA). Periodontal therapy was performed over two 1-hour sessions. Periodontal treatment was performed by one periodontist (L.C.) in the Department of Periodontology at the University of Santiago de Compostela (Spain).

The control group received professional tooth cleaning (oral hygiene instructions and supragingival cleaning of all teeth) at the second-trimester visit. All control participants were offered the opportunity to attend for non-surgical periodontal therapy postpartum.

### 2.9. Outcomes

Primary outcomes of the present study were preterm birth and low birth weight. Following the World Health Organization criteria, preterm birth was defined as a delivery at <37 weeks of gestation (gestational age determined by last menstrual period and ultrasound fetal measurement) and low birth weight was defined as a newborn weight of 2500 gr or less. Secondary outcomes were those related to the efficacy of non-surgical periodontal therapy on clinical, biochemical and microbiological variables.

### 2.10. Statistical Analysis

Descriptive analysis was calculated for each variable (mean values, standard deviation). Kolmogorov–Smirnov test was performed to test the normality of the variables. Relationship between each variable and preterm birth/low birth weight were analyzed. All variables were also compared between women with and without treatment. A t-student test was performed for continuous variables whilst A chi-square test was used to analyze categorical variables. Non-normal distribution variables were analyzed by a Mann–Whitney U test for continuous variables and chi-square test for categorical variables. Multivariate analysis was performed using ANCOVA test, with pregnancy and newborn weight as dependent variables with age, body mass index as a covariable, and treatment as an independent variable. Statistical significance was established at the 95% confidence level and *p*-values <0.05 for all analyses were selected to be statistically significant. SPSS for Windows (SPSS Inc. version 20.0, Chicago, IL, USA) was used for all the statistical analyses.

## 3. Results

Initially, 66 women were examined and 50 met the inclusion criteria. Eight rejected to participate and two had a miscarriage. Finally, 40 women with periodontitis stage II grade B complied with all the visits, 20 received non-surgical treatment (test group), and 20 received no treatment was performed (control group), as shown in Figure 2. No adverse events related to periodontal treatment were reported.

Demographic characteristics of the study sample are shown in Table 1. No statistically significant differences were observed between groups. The study population was  $32.00 \pm 4.27$  years old for the test group and  $32.25 \pm 4.21$  for control group; the majority lived in a rural residence, were married, had finished elementary school, and were her first pregnancy and only a 5% had a previous spontaneous abortion.

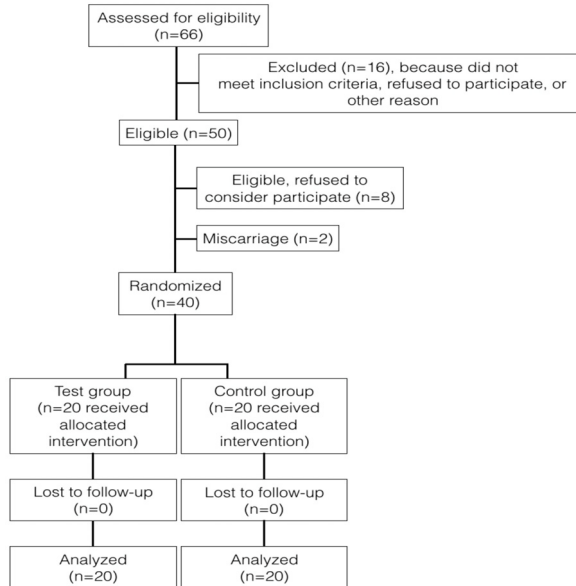


Figure 2. Flow chart to show participants progress through the study.

Table 1. Demographic description of the study population.

|                                                 | Test Group (n = 20) | Control Group (n = 20) |
|-------------------------------------------------|---------------------|------------------------|
| Age (years, mean ± SD)                          | 32.14 ± 4.27        | 32.25 ± 4.21           |
| Body Mass Index (Kg/m <sup>2</sup> , mean ± SD) | 24.89 ± 5.68        | 24.73 ± 3.71           |
| Education level (n, %)                          |                     |                        |
| Primary                                         | 30%                 | 35%                    |
| Secondary                                       | 40%                 | 35%                    |
| University                                      | 30%                 | 30%                    |
| Residence (n, %)                                |                     |                        |
| Rural                                           | 75%                 | 90%                    |
| Urban                                           | 25%                 | 10%                    |
| Marital status (n, %)                           |                     |                        |
| Single                                          | 0%                  | 5%                     |
| Common-law partner                              | 40%                 | 40%                    |
| Married                                         | 60%                 | 55%                    |
| Previous spontaneous abortion (n, %)            |                     |                        |
| No spontaneous abortion                         | 95%                 | 95%                    |
| One spontaneous abortion                        | 5%                  | 5%                     |
| Previous pregnancy (n, %)                       |                     |                        |
| No previous pregnancy                           | 80%                 | 85%                    |
| One previous pregnancy                          | 20%                 | 15%                    |

Table 2 depicts the periodontal status of the study population. Selected pregnant women presented a mean number of teeth in the test group of  $26.95 \pm 1.21$  and  $26.32 \pm 2.77$  in control group, with no significant differences between them. Bleeding on probing, probing pocket depth, and clinical attachment level were statistically higher for the test group in the 1st trimester. However, after non-surgical periodontal treatment these parameters were reversed, and a significative reduction was verified in the 3rd trimester in this test group.

**Table 2.** Evolution of clinical parameters during pregnancy.

| Clinical Parameters                                            |                            | 1st Trimester                    | 2nd Trimester                    | 3rd Trimester                    |
|----------------------------------------------------------------|----------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Number of teeth<br>(mean $\pm$ SD)                             | Test group ( $n = 20$ )    | $26.95 \pm 1.21$                 | $26.95 \pm 1.21$                 | $26.95 \pm 1.21$                 |
|                                                                | Control group ( $n = 20$ ) | $26.32 \pm 2.77$                 | $26.32 \pm 2.77$                 | $26.32 \pm 2.77$                 |
|                                                                |                            | $p = 0.32$ ; CI<br>(-1.91-0.64)  | $p = 0.32$ ; CI<br>(-1.91-0.64)  | $p = 0.32$ ; CI<br>(-1.91-0.64)  |
| Plaque index<br>(mean $\pm$ SD)                                | Test group ( $n = 20$ )    | $41.39 \pm 18.27$                | $40.21 \pm 18.54$                | $21.17 \pm 15.59$                |
|                                                                | Control group ( $n = 20$ ) | $32.96 \pm 20.08$                | $34.36 \pm 18.68$                | $35.68 \pm 17.64$                |
|                                                                |                            | $p = 0.54$ ; CI<br>(-15.69-8.34) | $p = 0.32$ ; CI<br>(-17.61-5.91) | $p = 0.01$ ; CI<br>(3.99-25.01)  |
| Bleeding on<br>probing<br>(mean $\pm$ SD)                      | Test group ( $n = 20$ )    | $48.30 \pm 14.80$                | $54.57 \pm 18.61$                | $27.88 \pm 15.29$                |
|                                                                | Control group ( $n = 20$ ) | $32.78 \pm 14.92$                | $42.59 \pm 18.00$                | $43.21 \pm 20.77$                |
|                                                                |                            | $p = 0.01$ ; CI<br>(-23.81-7.89) | $p = 0.04$ ; CI<br>(-23.55-0.40) | $p = 0.01$ ; CI<br>(3.83-26.81)  |
| Probing depth<br>$\leq 3$ mm<br>(%, mean $\pm$ SD)             | Test group ( $n = 20$ )    | $57.38 \pm 21.28$                | $52.42 \pm 21.43$                | $70.34 \pm 17.46$                |
|                                                                | Control group ( $n = 20$ ) | $74.15 \pm 12.20$                | $70.00 \pm 14.54$                | $65.22 \pm 16.81$                |
|                                                                |                            | $p = 0.01$ ; CI<br>(3.03-22.92)  | $p = 0.01$ ; CI<br>(5.95-29.21)  | $p = 0.35$ ; CI<br>(-15.95-5.72) |
| Probing depth<br>4-5 mm<br>(%, mean $\pm$ SD)                  | Test group ( $n = 20$ )    | $35.64 \pm 17.34$                | $39.88 \pm 19.12$                | $24.39 \pm 12.30$                |
|                                                                | Control group ( $n = 20$ ) | $24.69 \pm 10.36$                | $26.11 \pm 10.67$                | $29.87 \pm 12.96$                |
|                                                                |                            | $p = 0.09$ ; CI<br>(-15.77-1.10) | $p = 0.01$ ; CI<br>(-23.62-3.92) | $p = 0.17$ ; CI<br>(-2.50-13.46) |
| Probing depth $\geq 6$<br>(%, mean $\pm$ SD)                   | Test group ( $n = 20$ )    | $6.90 \pm 9.59$                  | $7.69 \pm 10.55$                 | $5.31 \pm 8.87$                  |
|                                                                | Control group ( $n = 20$ ) | $3.68 \pm 1.17$                  | $4.27 \pm 6.95$                  | $4.77 \pm 6.08$                  |
|                                                                |                            | $p = 0.01$ ; CI<br>(-9.35-1.72)  | $p = 0.23$ ; CI<br>(-9.10-2.25)  | $p = 0.82$ ; CI<br>(-5.37-4.29)  |
| Clinical attachment<br>loss $\geq 3$ mm<br>(mm, mean $\pm$ SD) | Test group ( $n = 20$ )    | $0.74 \pm 0.38$                  | $0.77 \pm 0.46$                  | $0.69 \pm 0.57$                  |
|                                                                | Control group ( $n = 20$ ) | $0.42 \pm 0.27$                  | $0.50 \pm 0.32$                  | $0.60 \pm 0.35$                  |
|                                                                |                            | $p = 0.01$ ; CI<br>(-0.46-0.11)  | $p = 0.03$ ; CI<br>(-0.53-0.18)  | $p = 0.56$ ; CI<br>(-0.39-0.21)  |

Student's *t*-test and U Mann-Whitney.

Table 3 presents the cytokine levels in peripheral blood according to experimental groups and experimental periods. No significant differences were observed for fibrinogen, IL-6, IL-8, and TNF- $\alpha$  between groups.

**Table 3.** Evolution of biochemical parameters during pregnancy.

| Biochemical Parameters              |                           | 1st Trimester                         | 2nd Trimester                         | 3rd Trimester                         |
|-------------------------------------|---------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------|
| Fibrinogen<br>(mg/dL, mean ± SD)    | Test group (n = 20)       | 365.06 ± 55.12                        | 387.06 ± 49.25                        | 447.65 ± 52.27                        |
|                                     | Control group<br>(n = 20) | 352.39 ± 58.17                        | 401.50 ± 75.88                        | 463.61 ± 89.47                        |
|                                     |                           | <i>p</i> = 0.54; CI<br>(−42.28–22.47) | <i>p</i> = 0.28; CI<br>(−18.43–61.76) | <i>p</i> = 0.42; CI<br>(−29.59–68.79) |
| TNF-α<br>(pg/mL, mean ± SD)         | Test group (n = 20)       | 7.80 ± 3.87                           | 7.17 ± 3.20                           | 6.97 ± 2.65                           |
|                                     | Control group<br>(n = 20) | 7.00 ± 3.47                           | 7.80 ± 3.61                           | 7.50 ± 2.72                           |
|                                     |                           | <i>p</i> = 0.99; CI<br>(−2.07–2.06)   | <i>p</i> = 0.61; CI<br>(−1.52–2.55)   | <i>p</i> = 0.50; CI<br>(−1.08–2.15)   |
| Interleukin-6<br>(pg/mL, mean ± SD) | Test group (n = 20)       | 3.04 ± 2.56                           | 2.54 ± 1.33                           | 2.84 ± 1.42                           |
|                                     | Control group<br>(n = 20) | 3.01 ± 2.26                           | 3.05 ± 2.49                           | 2.36 ± 0.97                           |
|                                     |                           | <i>p</i> = 0.63; CI<br>(−1.55–0.95)   | <i>p</i> = 0.43; CI<br>(−0.70–1.61)   | <i>p</i> = 0.33; CI<br>(−1.06–0.37)   |
| Interleukin-8<br>(pg/mL, mean ± SD) | Test group (n = 20)       | 14.94 ± 19.09                         | 10.24 ± 6.27                          | 11.41 ± 10.26                         |
|                                     | Control group<br>(n = 20) | 8.61 ± 4.55                           | 19.94 ± 20.84                         | 10.89 ± 8.21                          |
|                                     |                           | <i>p</i> = 0.54; CI<br>(−9.55–5.13)   | <i>p</i> = 0.27; CI<br>(−4.64–16.25)  | <i>p</i> = 0.80; CI<br>(−6.15–4.76)   |

Student's *t*-test and U Mann–Whitney.

The microbiological findings from 40 pregnant women, showed high proportions of detection of *Porphyromonas gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, and *Tannerella forsythia*. No statistically significant differences were observed between the control and test group. Table 4 shows proportions of different bacterial species in test group before (2nd trimester) and after treatment (3rd trimester), this difference being statistically significant in some bacteria.

**Table 4.** Proportions of different bacterial species in test and control groups in 2nd and 3rd trimester.

| Microbiological Variables                                  | -                        | 2nd Trimester | 3rd Trimester | <i>p</i>                |
|------------------------------------------------------------|--------------------------|---------------|---------------|-------------------------|
| <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> (% mean ± SD) | Test ( <i>n</i> = 20)    | 0.98 ± 3.00   | 0 ± 0         | 0.15; CI (-2.33_0.38)   |
|                                                            | Control ( <i>n</i> = 20) | 0.30 ± 2.83   | 0.28 ± 3.12   | 0.20; CI (-2.51_0.57)   |
| <i>Porphyromonas gingivalis</i> (% mean ± SD)              | Test ( <i>n</i> = 20)    | 22.97 ± 25.62 | 3.63 ± 5.14   | 0.01; CI (-31.17--7.51) |
|                                                            | Control ( <i>n</i> = 20) | 23.38 ± 18.23 | 24.59 ± 19.22 | 0.21; CI (-20.94_5.01)  |
| <i>Prevotella intermedia</i> (% mean ± SD)                 | Test ( <i>n</i> = 20)    | 2.60 ± 1.20   | 0 ± 0         | <0.01; CI (-3.14--2.06) |
|                                                            | Control ( <i>n</i> = 20) | 2.79 ± 1.42   | 2.54 ± 1.55   | 0.59; CI (-2.44_1.45)   |
| <i>Tannerella forsythia</i> (% mean ± SD)                  | Test ( <i>n</i> = 20)    | 3.30 ± 4.67   | 0 ± 0         | <0.01; CI (-5.41--1.19) |
|                                                            | Control ( <i>n</i> = 20) | 4.69 ± 1.28   | 4.80 ± 2.34   | 0.64; CI (-4.56_2.89)   |
| <i>Parvimonas micra</i> (% mean ± SD)                      | Test ( <i>n</i> = 20)    | 0.73 ± 1.65   | 0 ± 0         | 0.06; CI (-1.48_0.02)   |
|                                                            | Control ( <i>n</i> = 20) | 1.68 ± 3.72   | 1.86 ± 3.02   | 0.85; CI (-1.11_1.33)   |
| <i>Campylobacter rectus</i> (% mean ± SD)                  | Test ( <i>n</i> = 20)    | 1.72 ± 7.33   | 0 ± 0         | 0.30; CI (-5.04_1.60)   |
|                                                            | Control ( <i>n</i> = 20) | 1.32 ± 3.72   | 1.33 ± 3.83   | 0.32; CI (-5.56_1.93)   |
| <i>Fusobacterium nucleatum</i> (% mean ± SD)               | Test ( <i>n</i> = 20)    | 1.96 ± 2.68   | 0 ± 0         | <0.01; CI (-3.17--0.75) |
|                                                            | Control ( <i>n</i> = 20) | 2.18 ± 1.82   | 2.20 ± 2.30   | 0.64; CI (-4.56_2.89)   |
| <i>Capnocytophaga</i> (% mean ± SD)                        | Test ( <i>n</i> = 20)    | 0.06 ± 0.26   | 0 ± 0         | 0.32; CI (-0.18_0.06)   |
|                                                            | Control ( <i>n</i> = 20) | 0.10 ± 0.25   | 0.12 ± 0.34   | 0.19; CI (-0.16_0.03)   |
| <i>Eikenella corrodens</i> (% mean ± SD)                   | Test ( <i>n</i> = 20)    | 0.40 ± 1.13   | 0 ± 0         | 0.12; CI (-0.91_0.11)   |
|                                                            | Control ( <i>n</i> = 20) | 1.31 ± 1.91   | 1.22 ± 1.23   | 0.59; CI (-1.39_2.35)   |
| <i>Eubacterium</i> spp. (% mean ± SD)                      | Test ( <i>n</i> = 20)    | 0 ± 0         | 0 ± 0         | -                       |
|                                                            | Control ( <i>n</i> = 20) | 0 ± 0         | 0 ± 0         | -                       |

Student's *t*-test and U Mann–Whitney.

The mean gestational duration was 38.25 ± 2.88 weeks for the control group and 37.72 ± 6.04 weeks for the test group. Mean weight at birth were 3012.59 ± 415.42 g for the control and 3249.48 ± 473.54 g for the test group. No statistically significant differences were observed between groups for these variables.

Table 5 shows neonatal and obstetric outcomes. No significant differences in preterm birth rates were observed between groups (OR = 0.28; CI = 0.02–2.98). Similarly, the occurrence of newborns with low birth weight was not significantly different between groups (OR = 0.28; CI = 0.02–2.98).

**Table 5.** Primary outcomes.

| Primary Outcomes   | Test Group<br>(n = 20) | Control Group<br>(n = 20) | Total |
|--------------------|------------------------|---------------------------|-------|
| Preterm Birth †    | No                     | 19                        | 36    |
|                    | Yes                    | 1                         | 4     |
|                    | Total                  | 20                        | 40    |
| Low Birth Weight ‡ | No                     | 19                        | 36    |
|                    | Yes                    | 1                         | 4     |
|                    | Total                  | 20                        | 40    |

2 × 2 Table (†, ‡ OR = 0.28; CI = 0.02–2.98). † Preterm Birth; ‡ Low Birth Weight

Tables 6 and 7 described pregnancy time (weeks) and newborn weight (kg) as dependent variables and the relation with age, body mass index, and treatment (independent variables). No significant differences were obtained.

**Table 6.** Dependent variable: pregnancy time (weeks). ANCOVA analysis. R Squared = 0.019 (Adjusted R Squared = −0.065).

| Variable        | Type III Sum of Squares | p  |
|-----------------|-------------------------|----|
| Age             | 0.206                   | NS |
| Body Mass Index | 0.181                   | NS |
| Treatment       | 1.194                   | NS |

NS: not significant.

**Table 7.** Dependent variable: newborn weight (kg). ANCOVA analysis. R Squared = 0.116 (Adjusted R Squared = −0.040).

| Variable        | Type III Sum of Squares | p  |
|-----------------|-------------------------|----|
| Age             | 91,359.53               | NS |
| Body Mass Index | 1555.01                 | NS |
| Treatment       | 685,694.99              | NS |

NS: not significant.

#### 4. Discussion

The main objective of this study was to evaluate the effects of non-surgical periodontal treatment in pregnant women, carried out during the second trimester of pregnancy, on the rates of preterm birth and low birth weight, and to assess the clinical, biochemical, and microbiological changes. The effect of periodontal intervention on pregnancy outcomes did not show a reduction in the risk of preterm birth and low birth weight in the test group compared to the control group. However, we can assume as clinically relevant the protector role of periodontitis treatment during pregnancy (ANCOVA analysis), due to the significant periodontal health improvement in the test group. Pregnancy is a short period of time in order to evaluate the systemic impact of a long term periodontal microbial infection and related inflammatory responses.

This finding is supported by previous studies such as Oliveira et al. [31], Offenbacher et al. [30], and Michalowicz et al. [38]; these authors demonstrated that the treatment of periodontitis in pregnant women was safe and effective for periodontal disease, but did not reduce the incidence of premature delivery and low birth weight. The meta-analysis conducted by Baccaglini in 2011 [39] including eleven high quality randomized controlled trials performed on 6558 pregnant women, also showed no evidence to support that non-surgical periodontal treatment during pregnancy prevents premature birth or other adverse pregnancy outcomes.

Conversely, some papers have suggested a positive effect of non-surgical periodontal treatment both in the periodontal condition of the patient and in the adverse results of pregnancy. Offenbacher et al. [24] showed that periodontal treatment reduced 3.8 times the rate of premature births; this may be due to the fact that many of the included patients had a disadvantaged economic status and had previously had preterm births (>12 weeks), therefore, this study population represented a high-risk group. Jeffcoat et al. [23] showed that successful periodontal therapy reduced the risk of premature delivery in a group of African-American women who had never visited a dentist, but their results cannot be extrapolated to other populations with different characteristics. Radnai et al. [25] also showed that periodontal treatment had a positive pregnancy outcome in a demographically homogenous Caucasian European population, but these women had an initial localized chronic periodontitis. Tarannum et al. [26] provided evidence that non-surgical periodontal therapy can reduce the risk of preterm birth/low birth weight, but the study population was Indian, belonged to low socio-economic strata (based on occupation), had low education levels, and patients with a history of alcohol/tobacco consumption were not excluded. Finally, López et al. [8] also demonstrated the positive effect of periodontal treatment in adverse pregnancy outcomes in patients diagnosed with gingivitis and periodontitis, but the periodontal treatment included a daily chlorhexidine rinse at 0.12% and women with urinary tract infections were treated with antibiotics (an exclusion criteria in most studies).

When the clinical variables were analyzed, we have to consider that bleeding on probing, probing pocket depth, and clinical attachment level were statistically higher for the test than for the control group in the 1st trimester, however both groups were diagnosed with periodontitis stage II, grade B [34]. These clinical parameters remained stable throughout the gestational period in the control group and after treatment in the test group, there was a significant decrease in the percentage of bleeding on probing, plaque index, average probing pocket depth, and clinical attachment loss. These findings for the control group seems to have no correlation with plaque accumulation since it has been shown that the hormonal changes that occur during pregnancy are a modifying factor of bacterial plaque [40]. Santa Cruz et al. [9] showed that periodontal clinical status was not associated with adverse pregnancy outcomes in a Caucasian Spanish population with a medium-high educational level.

Biochemical markers increased in the third trimester following the basic periodontal treatment, except TNF- $\alpha$ , which decreased after performing the treatment. The differences between the treatment group and the control group were not significant for any of the three visits. Most authors agree that treatment of chronic periodontitis does not significantly change levels of serum markers of acute-phase inflammatory and vascular response [41]. It has been suggested that non-surgical mechanical periodontal treatment during pregnancy successfully reduces periodontal inflammation and gingival crevicular fluid cytokine levels, but it has no significant impact on serum biomarkers [38,42]. The complex immunological events that occur during pregnancy may limit the ability to evaluate the systemic effect of periodontal therapy, because studies have shown that pregnant women have a higher production of cytokines depending on the gestational period and the outcome of pregnancy [42].

Regarding the presence of periodontopathogens, the non-surgical periodontal treatment performed in the second trimester reduced the number of all the subgingival periodontal pathogens analyzed and the total bacterial load. These findings indicate that the periodontal therapy of pregnant women with periodontitis produces quantitative and qualitative changes in the microbiota similar to those observed in non-pregnant women [43]. Pregnant women with periodontitis harbor a very complex and pathogenic subgingival microbiota, including a high prevalence of *Fusobacterium nucleatum*, *Prevotella intermedia*, *Porphyromonas gingivalis*, and *Parvimonas micra* [9]. Martínez-Martínez et al. [44] did not find association between periodontal bacteria and premature birth. In opposition to this, Santa Cruz et al. [9] found a significant association between the presence of *Eikenella corrodens* with preterm birth and the presence of *Capnocytophaga* spp. with low birth weight. Novak et al. [43] showed that basic periodontal therapy significantly reduced the levels of periodontal pathogens but basal levels of these were not associated with premature birth.

The present study is not exempt from a number of methodological limitations that should be considered when extrapolating our results. Up to date, available evidence does not provide clinical, microbiological, or immunological parameters that define patients whose pregnancy outcomes would be improved with periodontal treatment [10]. The selected study group of our study consisted of Caucasian women between 18 and 40 years old and according to the literature the most affected population by periodontitis is the African-American population. The periodontitis definition that we have applied in contrast to previous papers is the one recently published by the EFP-AAP Consensus Meeting [34]. Based on epidemiological and plausibility studies, various treatment strategies could be evaluated that consider specific target populations, as well as timing and intensity of treatment [10].

## 5. Conclusions

We can conclude that non-surgical periodontal treatment in Caucasian patients with periodontitis stage II grade B did not significantly reduce the risk of adverse pregnancy outcomes.

**Author Contributions:** Conceptualization, J.L.-C. and J.B.-C.; Data curation, L.C.-Q. and P.M.-L.; Formal analysis, P.M.-L.; Funding acquisition, J.B.-C.; Investigation, L.C.-Q.; Methodology, J.L.-C. and J.B.-C.; Project administration, J.B.-C.; Resources, J.L.-C.; Supervision, J.L.-P.; Visualization, P.D.-D.; Writing—original draft, L.C.-Q. and P.D.-D.; Writing—review & editing, J.L.-C. and J.L.-P.

**Funding:** This research received no external funding.

**Conflicts of Interest:** The authors declare no conflict of interest.

## References

- Mathews, T.J.; Menacker, F.; MacDorman, M.F. Infant mortality statistics from the 2001 period linked birth/infant death data set. *Natl. Vital Stat. Rep.* **2003**, *52*, 1–28. [[PubMed](#)]
- Chang, H.H.; Larson, J.; Blencowe, H.; Spong, C.Y.; Howson, C.P.; Cairns-Smith, S.; Lackritz, E.M.; Lee, S.K.; Mason, E.; Serazin, A.C.; et al. Preventing preterm births: Analysis of trends and potential reductions with interventions in 39 countries with very high human development index. *Lancet* **2013**, *381*, 223–234. [[CrossRef](#)]
- Blencowe, H.; Cousens, S.; Jassir, F.B.; Say, L.; Chou, D.; Mathers, C.; Hogan, D.; Shiekh, S.; Qureshi, Z.U.; You, D.; et al. National, regional, and worldwide estimates of stillbirth rates in 2015, with trends from 2000: A systematic analysis. *Lancet Glob. Health* **2016**, *4*, e98–e108. [[CrossRef](#)]
- Purisch, S.E.; Gyamfi-Bannerman, C. Epidemiology of preterm birth. *Semin. Perinatol.* **2017**, *41*, 387–391. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Vogel, J.P.; Chawanpaiboon, S.; Moller, A.-B.; Watananirun, K.; Bonet, M.; Lumbiganon, P. The global epidemiology of preterm birth. *Best Pract. Res. Clin. Obstet. Gynaecol.* **2018**, *52*, 3–12. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Kornman, K.S.; Page, R.C.; Tonetti, M.S. The host response to the microbial challenge in periodontitis: Assembling the players. *Periodontology* **2000**, *14*, 33–53. [[CrossRef](#)]
- Carta, G.; Persia, G.; Falciglia, K.; Iovenitti, P. Periodontal disease and poor obstetrical outcome. *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.* **2004**, *31*, 47–49.
- Lopez, N.J.; Da Silva, I.; Ipinza, J.; Gutiérrez, J. Periodontal Therapy Reduces the Rate of Preterm Low Birth Weight in Women with Pregnancy-Associated Gingivitis. *J. Periodontol.* **2005**, *76*, 2144–2153. [[CrossRef](#)]
- Santa Cruz, I.; Herrera, D.; Martin, C.; Herrero, A.; Sanz, M. Association between periodontal status and pre-term and/or low-birth weight in Spain: Clinical and microbiological parameters. *J. Periodontol. Res.* **2013**, *48*, 443–451. [[CrossRef](#)]
- Sanz, M.; Kornman, K. Working group 3 of joint EFP/AAP workshop. Periodontitis and adverse pregnancy outcomes: Consensus report of the Joint EFP/AAP Workshop on Periodontitis and Systemic Diseases. *J. Clin. Periodontol.* **2013**, *84*, S164–S169. [[CrossRef](#)]
- Gürsoy, M.; Könönen, E.; Gürsoy, U.K.; Tervahartiala, T.; Pajukanta, R.; Sorsa, T. Periodontal Status and Neutrophilic Enzyme Levels in Gingival Crevicular Fluid during Pregnancy and Postpartum. *J. Periodontol.* **2010**, *81*, 1790–1796. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
- Madianos, P.N.; Bobetsis, Y.A.; Offenbacher, S. Adverse pregnancy outcomes (APOs) and periodontal disease: Pathogenic mechanisms. *J. Clin. Periodontol.* **2013**, *40*, 170–180. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

13. Minckwitz, G.; Grischke, E.-M.; Schwab, S.; Hettinger, S.; Loibl, S.; Aulmann, M.; Kaufmann, M. Predictive value of serum interleukin-6 and -8 levels in preterm labor or rupture of the membranes. *Acta Obstet. Gynecol. Scand.* **2000**, *79*, 667–672.
14. Gücer, F.; Balkanlı-Kaplan, P.; Yüksel, M.; A Yüce, M.; Türe, M.; Yardim, T. Maternal serum tumor necrosis factor-alpha in patients with preterm labor. *J. Reprod. Med.* **2001**, *46*, 232–236. [[PubMed](#)]
15. Pitiphat, W.; Gillman, M.W.; Joshipura, K.J.; Williams, P.L.; Douglass, C.W.; Rich-Edwards, J.W. Plasma C-reactive protein in early pregnancy and preterm delivery. *Am. J. Epidemiol.* **2005**, *162*, 1108–1113. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Agueda, A.; Ramón, J.; Manau, C.; Guerrero, A.; Echeverria, J. Periodontal disease as a risk factor for adverse pregnancy outcomes: A prospective cohort study. *J. Clin. Periodontol.* **2008**, *35*, 16–22. [[CrossRef](#)]
17. Offenbacher, S.; Boggess, K.A.; Murtha, A.P.; Jared, H.L.; Lief, S.; McKaig, R.G.; Mauriello, S.M.; Moss, K.L.; Beck, J.D. Progressive Periodontal Disease and Risk of Very Preterm Delivery. *Obstet. Gynecol.* **2006**, *107*, 29–36. [[CrossRef](#)]
18. Rakoto-Alson, S.; Tenenbaum, H.; Davideau, J.-L. Periodontal Diseases, Preterm Births, and Low Birth Weight: Findings from a Homogeneous Cohort of Women in Madagascar. *J. Periodontol.* **2010**, *81*, 205–213. [[CrossRef](#)]
19. Matevosyan, N.R. Periodontal disease and perinatal outcomes. *Arch. Gynecol. Obstet.* **2011**, *283*, 675–686. [[CrossRef](#)]
20. Vergnes, J.N.; Sixou, M. Preterm low birth weight and maternal periodontal status: A meta-analysis. *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2007**, *196*, 135.e1–135.e7. [[CrossRef](#)]
21. Puertas, A.; Magan-Fernandez, A.; Blanc, V.; Revelles, L.; O’Valle, F.; Pozo, E.; León, R.; Mesa, F. Association of periodontitis with preterm birth and low birth weight: A comprehensive review. *J. Matern. Fetal Neonatal Med.* **2018**, *31*, 597–602. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Teshome, A.; Yitayeh, A. Relationship between periodontal disease and preterm low birth weight: Systematic review. *Pan Afr. Med. J.* **2016**, *24*, 215. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Jeffcoat, M.; Parry, S.; Sammel, M.; Clothier, B.; Catlin, A.; Macones, G. Periodontal infection and preterm birth: Successful periodontal therapy reduces the risk of preterm birth. *BJOG Int. J. Obstet. Gynaecol.* **2011**, *118*, 635–636. [[CrossRef](#)]
24. Offenbacher, S.; Lin, D.; Strauss, R.; McKaig, R.; Irving, J.; Barros, S.P.; Moss, K.; Barrow, D.A.; Hefti, A.; Beck, J.D. Effects of Periodontal Therapy During Pregnancy on Periodontal Status, Biologic Parameters, and Pregnancy Outcomes: A Pilot Study. *J. Periodontol.* **2006**, *77*, 2011–2024. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Radnai, M.; Pal, A.; Novák, T.; Urban, E.; Eller, J.; Gorzo, I. Benefits of Periodontal Therapy When Preterm Birth Threatens. *J. Dent. Res.* **2009**, *88*, 280–284. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Tarannum, F.; Faizuddin, M. Effect of Periodontal Therapy on Pregnancy Outcome in Women Affected by Periodontitis. *J. Periodontol.* **2007**, *78*, 2095–2103. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Macones, G.A.; Parry, S.; Nelson, D.B.; Strauss, J.F.; Ludmir, J.; Cohen, A.W.; Stamilio, D.M.; Appleby, D.; Clothier, B.; Sammel, M.D.; et al. Treatment of localized periodontal disease in pregnancy does not reduce the occurrence of preterm birth: Results from the Periodontal Infections and Prematurity Study (PIPS). *Am. J. Obstet. Gynecol.* **2010**, *202*, 147.e1–147.e8. [[CrossRef](#)]
28. Michalowicz, B.S.; Hodges, J.S.; DiAngelis, A.J.; Lupo, V.R.; Novak, M.J.; Ferguson, J.E.; Buchanan, W.; Bofill, J.; Papapanou, P.N.; Mitchell, D.A.; et al. Treatment of Periodontal Disease and the Risk of Preterm Birth. *N. Engl. J. Med.* **2006**, *355*, 1885–1894. [[CrossRef](#)]
29. Merchant, A.T.; Sutherland, M.W.; Liu, J.; Pitiphat, W.; Dasanayake, A. Periodontal treatment among mothers with mild to moderate periodontal disease and preterm birth: Reanalysis of OPT trial data accounting for selective survival. *Int. J. Epidemiol.* **2018**, *47*, 1670–1678. [[CrossRef](#)]
30. Offenbacher, S.; Beck, J.D.; Jared, H.L.; Mauriello, S.M.; Mendoza, L.C.; Couper, D.J.; Stewart, D.D.; Murtha, A.P.; Cochran, D.L.; Dudley, D.J.; et al. Effects of periodontal therapy on rate of preterm delivery: A randomized controlled trial. *Obstet. Gynecol.* **2009**, *114*, 551–559. [[CrossRef](#)]
31. Oliveira, A.M.; de Oliveira, P.A.; Cota, L.O.; Magalhaes, C.S.; Moreira, A.N.; Costa, F.O. Periodontal therapy and risk for adverse pregnancy outcomes. *Clin. Oral. Investig.* **2011**, *15*, 609–615. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
32. Kinane, D.; Bouchard, P. On behalf of group E of the European Workshop on Periodontology Periodontal diseases and health: Consensus Report of the Sixth European Workshop on Periodontology. *J. Clin. Periodontol.* **2008**, *35*, 333–337. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

33. Chambrone, L.; Pannuti, C.M.; Guglielmetti, M.R.; Chambrone, L.A. Evidence grade associating periodontitis with preterm birth and/or low birth weight: II. A systematic review of randomized trials evaluating the effects of periodontal treatment. *J. Clin. Periodontol.* **2011**, *38*, 902–914. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Papapanou, P.N.; Sanz, M.; Buduneli, N.; Dietrich, T.; Feres, M.; Fine, D.H.; Flemmig, T.F.; Garcia, R.; Giannobile, W.V.; Graziani, F.; et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *J. Clin. Periodontol.* **2018**, *45*, S162–S170. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Ainamo, J.; Bay, I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int. Dent. J.* **1975**, *25*, 229–235. [[PubMed](#)]
36. Syed, S.A.; Loesche, W.J. Survival of Human Dental Plaque Flora in Various Transport Media. *Appl. Microbiol.* **1972**, *24*, 638–644. [[PubMed](#)]
37. Alsina, M.; Olle, E.; Frías, J. Improved, Low-Cost Selective Culture Medium for Actinobacillus actinomycetemcomitans. *J. Clin. Microbiol.* **2001**, *39*, 509–513. [[CrossRef](#)]
38. Michalowicz, B.S.; Novak, M.J.; Hodges, J.S.; DiAngelis, A.; Buchanan, W.; Papapanou, P.N.; Mitchell, D.A.; Ferguson, J.E.; Lupo, V.; Bofill, J.; et al. Serum inflammatory mediators in pregnancy: Changes after periodontal treatment and association with pregnancy outcomes. *J. Periodontol.* **2009**, *80*, 1731–1741. [[CrossRef](#)]
39. Baccaglioni, L. A meta-analysis of randomized controlled trials shows no evidence that periodontal treatment during pregnancy prevents adverse pregnancy outcomes. *J. Am. Dent. Assoc.* **2011**, *142*, 1192–1193. [[CrossRef](#)]
40. Kaur, M.; Geisinger, M.L.; Geurs, N.C.; Griffin, R.; Vassilopoulos, P.J.; Vermeulen, L.; Haigh, S.; Reddy, M.S. Effect of intensive oral hygiene regimen during pregnancy on periodontal health, cytokine levels, and pregnancy outcomes: A pilot study. *J. Periodontol.* **2014**, *85*, 1684–1692. [[CrossRef](#)]
41. Ide, M.; McPartlin, D.; Coward, P.; Crook, M.; Lumb, P.; Wilson, R. Effect of treatment of chronic periodontitis on levels of serum markers of acute-phase inflammatory and vascular responses. *J. Clin. Periodontol.* **2003**, *30*, 334–340. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
42. Fiorini, T.; Susin, C.; da Rocha, J.M.; Weidlich, P.; Vianna, P.; Moreira, C.H.; Bogo Chies, J.A.; Rösing, C.K.; Oppermann, R.V. Effect of nonsurgical periodontal therapy on serum and gingival crevicular fluid cytokine levels during pregnancy and postpartum. *J. Periodontol. Res.* **2013**, *48*, 126–133. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
43. Novak, M.J.; Novak, K.F.; Hodges, J.S.; Kirakodu, S.; Govindaswami, M.; DiAngelis, A.; Buchanan, W.; Papapanou, P.N.; Michalowicz, B.S. Periodontal Bacterial Profiles in Pregnant Women: Response to Treatment and Associations with Birth Outcomes in the Obstetrics and Periodontal Therapy (OPT) Study. *J. Periodontol.* **2008**, *79*, 1870–1879. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
44. Martínez-Martínez, R.E.; Moreno-Castillo, D.F.; Loyola-Rodríguez, J.P.; Sánchez-Medrano, A.G.; Miguel-Hernández, J.H.; Olvera-Delgado, J.H.; Domínguez-Pérez, R.A. Association between periodontitis, periodontopathogens and preterm birth: Is it real? *Arch. Gynecol. Obstet.* **2016**, *294*, 47–54. [[CrossRef](#)]



© 2019 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).