

Efecto del tratamiento periodontal sobre la microbiota subgingival en pacientes con preeclampsia

Adriana Jaramillo^{1,2}, Roger Arce^{2,3}, Adolfo Contreras^{1,2}, Julián A. Herrera^{4,5}

¹ Escuela de Odontología, Universidad del Valle, Cali, Colombia

² Grupo Medicina Periodontal, Universidad del Valle, Cali, Colombia

³ Program Dental School, University of North Carolina at Chapel Hill, Chapel Hill, NC, United States of America

⁴ Escuela de Medicina, Universidad del Valle, Cali, Colombia

⁵ Centro Colaborador de Investigación en Salud Sexual y Reproductiva, Organización Mundial de la Salud, Cali, Colombia

Introducción. Pocos estudios han descrito la microbiota subgingival en mujeres embarazadas con preeclampsia leve.

Objetivo. Identificar cambios periodontales y de la microbiota subgingival en mujeres embarazadas con preeclampsia, después del tratamiento periodontal.

Materiales y métodos. En un análisis secundario de un ensayo clínico de asignación aleatoria, se estudiaron 57 pacientes con preeclampsia en el Hospital Universitario del Valle de Cali.

Se asignaron al azar 31 al grupo de intervención periodontal (detartraje y alisado subgingival ultrasónico y manual) durante su embarazo y otras 26 al grupo control (profilaxis supragingival). Se determinaron los parámetros clínicos periodontales y la microbiota subgingival a la inclusión al estudio y en el posparto. Se evaluaron 8 bacterias periodontopáticas y 2 virus herpes por reacción en cadena de la polimerasa. Se usaron las pruebas de ji al cuadrado, test de McNemar o t de Student, con un nivel de significancia de $p \leq 0,05$.

Resultados. Los grupos fueron comparables en las variables clínicas y microbiológicas al inicio del estudio. El tratamiento periodontal redujo el promedio de la profundidad de bolsa en el grupo de intervención de $2,44 \pm 0,31$ a $2,31 \pm 0,24$ mm ($p=0,000$) y en el grupo control de $2,58 \pm 0,37$ a $2,44 \pm 0,39$ mm ($p=0,000$), y el índice de sangrado, de $16,4 \pm 1,5$ a $7,9 \pm 0,7$ % en el primero ($p=0,000$), y de $17,1 \pm 1,8$ a $10 \pm 0,9$ %, en el segundo ($p=0,002$). La frecuencia de detección de microorganismos no varió de manera significativa entre los grupos.

Conclusión. El raspaje y alisado radicular, así como la profilaxis supragingival, redujeron de manera significativa la profundidad a la sonda y el índice de sangrado gingival. El tratamiento periodontal no fue más efectivo que la profilaxis para reducir los organismos periodontopáticos o los virus herpes.

Palabras clave: preeclampsia, periodontitis/terapia, ensayo clínico controlado.

Effect of periodontal therapy on the subgingival microbiota in preeclamptic patients

Introduction. Few studies have described subgingival microbiota in pregnant women with mild preeclampsia.

Objective. Clinical periodontal and subgingival microbiota changes were identified in pregnant women with mild preeclampsia after periodontal treatment.

Materials and methods. In a secondary analysis of a randomized clinical trial, 57 preeclamptic women were studied at Hospital Universitario del Valle in Cali, Colombia. Thirty one women were randomized to the periodontal intervention group (subgingival scaling and planing ultrasonic and manual) during pregnancy and 26 to the control group (supragingival prophylaxis). Periodontal clinical parameters and subgingival microbiota were characterized at the time of acceptance into the study and again at postpartum. Eight periodontopathic bacteria and 2 herpesviruses were assessed by polymerase chain reaction. Chi-square, McNemar or Student's t tests were used, with a significance level of $p \leq 0.05$.

Results. Both groups were comparable in the clinical and microbiological variables at baseline. Periodontal treatment reduced the average pocket depth in the intervention group from 2.4 ± 0.3 to 2.3 ± 0.2 mm ($p < 0.001$) and in control group 2.6 ± 0.4 to 2.44 ± 0.4 mm, ($p < 0.001$) and bleeding index

Contribución de los autores:

Adriana Jaramillo: estructuración del proyecto.

Roger Arce, Julián Herrera y Adolfo Contreras: escritura del proyecto y trabajo de campo con pacientes.

Adolfo Contreras y Adriana Jaramillo: análisis microbiológico.

Todos los autores participaron en el análisis estadístico y en escritura del manuscrito

16.4±1.5% to 7.9±0.7% in the intervention group ($p<0.001$) and 17.1±1.8% to 10±0.9% in the control group ($p=0.002$). The frequency of detection of microorganisms did not differ significantly between groups.

Conclusion. Scaling/root planning and supragingival prophylaxis significantly reduced the probing depth and gingival bleeding index. Periodontal treatment was not more effective than prophylaxis in reducing periodontopathic organisms or herpesvirus.

Key words: Pre-eclampsia, periodontitis/therapy, controlled clinical trial.

La preeclampsia es una enfermedad del embarazo caracterizada por hipertensión arterial y proteinuria, debido al daño vascular inflamatorio. Esta complicación es la primera causa de morbilidad (parto prematuro, bajo peso al nacimiento) y mortalidad materna y fetal en el embarazo, principalmente en los países en desarrollo. Su etiopatogénesis no se ha dilucidado completamente, pero se postulan placentación anormal, mecanismos inmunitarios o inflamatorios con una base genética, así como factores nutricionales y hormonales (1).

Algunos autores coinciden en que la respuesta inflamatoria sistémica que caracteriza al embarazo está aumentada en la preeclampsia, por lo cual se ha postulado que las infecciones entrarían a modular esta respuesta exagerada. En los estudios de casos y controles que comparan mujeres con preeclampsia y sin ella, se ha encontrado que la periodontitis es más prevalente en aquellas con preeclampsia (1,2). En una revisión sistemática y metaanálisis de 49 publicaciones, se concluyó que el riesgo de preeclampsia era mayor en las mujeres que tenían infecciones urinarias y enfermedad periodontal en el embarazo (3). También, se ha encontrado que las enfermedades periodontales son un factor de riesgo para las complicaciones del embarazo, después de ajustar por otros factores de riesgo obstétricos (4).

De las enfermedades periodontales, la gingivitis y la periodontitis son infecciones crónicas comunes que afectan hasta el 90 % de la población. En mujeres embarazadas, estas enfermedades pueden aumentar la frecuencia de aparición, lo que se ha asociado a los cambios hormonales que predisponen a la gingivitis del embarazo combinada con ausencia o inadecuada atención periodontal y hábitos deficientes de higiene oral. La

progresión de la enfermedad periodontal parece incrementarse durante el embarazo (4).

El control de la infección y la inflamación periodontal es uno de los objetivos del tratamiento mecánico periodontal, y en mujeres con preeclampsia se podría postular que el tratamiento periodontal podría ayudar a disminuir las complicaciones del embarazo. No existen investigaciones sobre los cambios ocurridos en la microbiota subgingival en pacientes con preeclampsia con tratamiento periodontal. En el presente estudio se tuvo como objetivo identificar si el tratamiento periodontal podía modificar la microbiota subgingival en mujeres embarazadas con preeclampsia leve.

Materiales y métodos

En este estudio experimental, se hizo un análisis secundario de un trabajo ya publicado (5). La muestra estuvo constituida por 57 mujeres embarazadas que presentaron preeclampsia leve y que asistieron a control prenatal en una unidad de alto riesgo obstétrico (Hospital Universitario del Valle). En la figura 1 se observa la forma como se distribuyeron los grupos asignados aleatoriamente por bloques, con enmascaramiento simple de los investigadores, y constituidos de la siguiente manera:

- grupo de intervención: compuesto por 26 mujeres a quienes, de requerirlo, se les practicó raspado y alisado subgingival con ultrasonido y manual antes del parto, en una sola sesión, y
- grupo control: compuesto por 31 mujeres a quienes se les hizo profilaxis dental con copa de caucho y abrasivos.

En ambos grupos un periodoncista entrenado les dio las instrucciones de higiene oral a las pacientes y se les entregó un estuche de higiene dental que contenía crema dental, seda dental y un cepillo, antes del examen clínico y toma de muestra subgingival. Máximo una semana después, se hizo un examen clínico periodontal completo al ingreso al estudio, previa firma del consentimiento informado, de acuerdo con lo avalado por el Comité de Revisión de Ética en Humanos de la Universidad

Correspondencia:

Adriana Jaramillo, Escuela de Odontología, Universidad del Valle, Calle 3 B N° 36-00, sede San Fernando, edificio 132, oficina 307, Cali, Colombia
Teléfono: 554 2469, fax: 558 1941
inv-odon@univalle.edu.co

Recibido: 16/08/11; aceptado:24/02/12

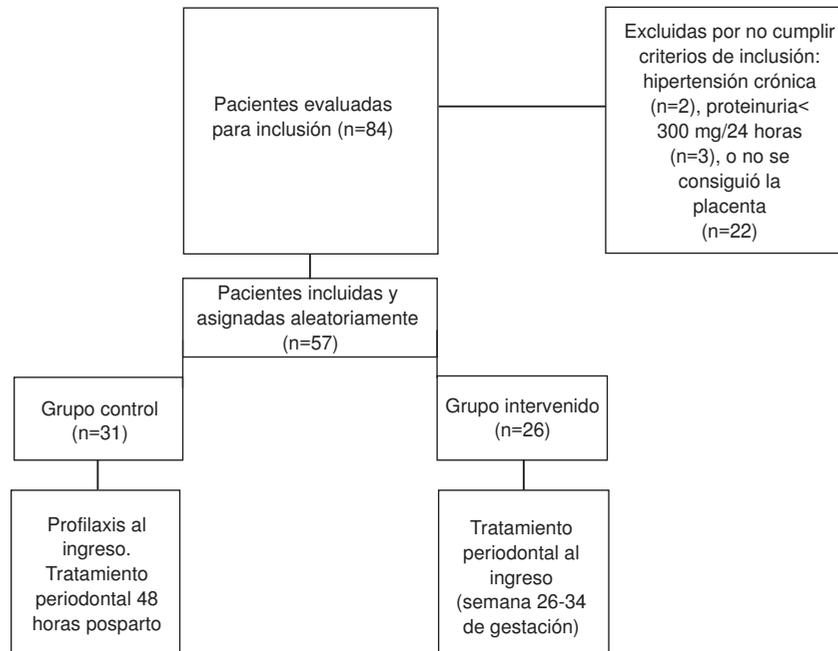


Figura 1. Diagrama de la secuencia de ingreso al estudio, asignación aleatoria e intervención periodontal

del Valle, según la normatividad vigente en Colombia (Resolución 8430 de 1993 del Ministerio de Salud de Colombia). Se hizo el diagnóstico clínico según los criterios de la *American Academy of Periodontology* de 1999 (6), y se determinó el promedio de profundidad a la sonda y el índice de sangrado en los grupos del estudio.

En ambos grupos de mujeres se tomaron muestras con puntas de papel de cuatro sitios subgingivales, el mismo día del examen clínico periodontal. En el grupo de intervención se tomaron las muestras al inicio del estudio y después del tratamiento posterior al parto, mientras que en el grupo control se tomaron al ingresar al estudio y antes de la intervención periodontal después del parto. En aquellas con periodontitis, se escogieron los cuatro sitios más afectados, con bolsas más profundas y sangrado al sondaje, mientras que, en las pacientes con gingivitis, se tomaron los sitios mediales de los cuatro primeros molares permanentes. Estas muestras se conservaron en tubos Eppendorf a -20°C , hasta el momento de la extracción del ADN bacteriano o viral por el método descrito por Boom, *et al.* (7).

Se hizo la identificación por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Prevotella nigrescens*, *Tanerella forsythia*, *Campylobacter rectus*, *Eikenella corrodens*

y *Dialister pneumosintes*, utilizando los iniciadores y condiciones descritas por Ashimoto, *et al.* (8). Se identificó, además, la presencia de los virus herpes simple de tipo I y el virus de Epstein-Barr, según el protocolo descrito por Parra y Slots (9).

Análisis estadístico

Se hizo un análisis estadístico univariado para describir las características clínicas en ambos grupos. Se compararon las variables clínicas como los diagnósticos periodontales al inicio, mediante la prueba de ji al cuadrado, y la profundidad a la sonda e índice de sangrado antes la intervención y después de ella mediante la prueba t para muestras pareadas. Además, se evaluaron las diferencias en la prevalencia de los microorganismos periodontopáticos entre los grupos al inicio y después del parto, mediante la prueba de McNemar. El nivel de significancia se estableció en 0,05.

Resultados

En el cuadro 1 se presentan los diagnósticos clínicos periodontales. Se observa que la gingivitis y la periodontitis leve predominaron en ambos grupos del estudio. No hubo pacientes sin enfermedad periodontal. Aunque no hubo diferencias estadísticamente significativas entre los grupos en relación con el diagnóstico periodontal ($p=0,444$), en el grupo control hubo más casos de periodontitis

Cuadro 1. Frecuencia de los diagnósticos clínicos en los grupos intervención y control

Diagnóstico periodontal	Intervención		Control	
	n	%	n	%
Gingivitis	7	26,9	9	29,0
Periodontitis leve	17	65,4	14	45,2
Periodontitis moderada	2	7,7	7	22,6
Periodontitis grave	0	0	1	3,2
Total	26	100,0	31	100

moderada que en el grupo de intervención. Solo una paciente, la cual fue asignada aleatoriamente al grupo control, presentó periodontitis grave.

En relación con las variables clínicas periodontales, no hubo diferencias en la profundidad de bolsa al inicio, entre el grupo de intervención y el grupo control ($p=0,131$), y esta tendencia se mantuvo en la medición posparto ($p=0,130$).

El promedio de la profundidad de bolsa en el grupo de intervención fue de $2,44\pm 0,31$ mm y disminuyó a $2,31\pm 0,24$ mm ($IC_{95\%}$ 0,11-0,17; $p=0,000$) después del parto, mientras que en el grupo control al inicio fue de $2,58\pm 0,37$ mm y posparto fue de $2,44\pm 0,39$ mm, ($IC_{95\%}$ 0,07-0,19; $p=0,000$), lo que mostró diferencias estadísticamente significativas dentro de cada grupo. Similares resultados se observaron en el índice de sangrado, que disminuyó de $16,4\pm 1,5$ a $7,9\pm 0,7$ % en el grupo de intervención ($IC_{95\%}$ 4,37-12,46; $p=0,000$) y de $17,1\pm 1,8$ a $10\pm 0,9$ % en el grupo control ($IC_{95\%}$ 2,75-11,08; $p=0,002$). Tampoco hubo diferencias significativas entre el grupo de intervención y el control, al inicio ($p=0,875$) y después del parto, para el índice de sangrado ($p=0,308$).

Ni la prevalencia de los microorganismos periodontales ni la de los dos virus herpes disminuyeron

de manera significativa después del tratamiento periodontal (cuadro 2). En el grupo de intervención periodontal hubo una disminución de la frecuencia de *P. gingivalis*, *P. intermedia* y *T. forsythia*, mientras que en el grupo control, los organismos que disminuyeron su prevalencia fueron *A. actinomycetemcomitans*, *P. intermedia* y el virus de Epstein-Barr.

Discusión

En este estudio se demostró que una sesión de profilaxis supragingival es tan efectiva como el tratamiento periodontal intensivo para reducir dos importantes parámetros clínicos periodontales, como la profundidad de la bolsa y el índice de sangrado en mujeres con preeclampsia leve. Es posible que la instrucción en higiene oral y los instrumentos de higiene oral que se entregaron a las pacientes hayan influido en la reducción de estos parámetros de gravedad clínica periodontal; sin embargo, no se controló si hubo cambios en los hábitos de higiene oral de las pacientes después de la inclusión al estudio. La reducción de la profundidad de la bolsa y de sangrado de forma significativa en ambos grupos, denota un control de la inflamación gingival por ambos métodos, pero desconocemos cuál fue el efecto a largo plazo puesto que, en promedio, la segunda medición periodontal se hizo alrededor de cuatro semanas después de la inclusión al estudio, dado que la cesárea es un tratamiento de rutina en el control de la preeclampsia y muy pocas pacientes completaron su embarazo a término.

Además, en un estudio previo demostramos que la intervención periodontal fue segura puesto que no se presentaron complicaciones maternas o fetales atribuibles al procedimiento periodontal

Cuadro 2. Frecuencia de detección por reacción en cadena de la polimerasa de los microorganismos periodontopáticos, antes del tratamiento y después de él en los grupos de intervención y control

Organismo	Grupo de intervención (n=26)			Grupo control (n=31)		
	Inicio n	Posparto (%)	p (McNemar) n	Inicio (%)	Posparto n	p (McNemar) (%)
<i>A. actinomycetemcomitans</i>	7 (26,9)	8 (30,8)	1,000	8 (25,8)	5 (16,1)	1,000
<i>P. gingivalis</i>	21 (80,8)	19 (73,1)	0,375	24 (77,4)	25 (80,6)	1,000
<i>P. intermedia</i>	16 (61,5)	11 (42,3)	0,125	17 (54,8)	15 (48,4)	0,774
<i>P. nigrescens</i>	7 (26,9)	8 (30,8)	1,000	11 (35,5)	13 (41,9)	0,791
<i>T. forsythia</i>	23 (88,5)	17 (65,4)	0,070	26 (83,9)	26 (83,9)	1,000
<i>C. rectus</i>	22 (84,6)	23 (88,5)	1,000	26 (83,9)	31 (100)	0,063
<i>E. corrodens</i>	18 (69,2)	24 (92,3)	0,180	27 (87,1)	31 (100)	0,125
<i>D. pneumosintes</i>	6 (23,1)	8 (30,8)	0,125	5 (16,1)	10 (32,3)	0,125
Virus de Epstein-Barr	7 (26,9)	7 (26,9)	1,000	8 (25,8)	3 (9,7)	0,125
Virus herpes simple	4 (12,9)	2 (7,7)	1,000	1 (3,2)	1 (3,2)	0,625

(10). En un estudio de cohorte se recomienda hacer tratamiento periodontal intensivo en una cita o profilaxis dental en mujeres embarazadas con preeclampsia leve, para evidenciar el efecto de estas intervenciones en la progresión de la preeclampsia, así como de la enfermedad periodontal y en las tasas de complicaciones del embarazo.

En este estudio se determinó, además, que el tratamiento periodontal intensivo no fue más efectivo que la profilaxis para reducir la prevalencia de los microorganismos periodontales (cuadro 2). El método de detección microbiológica usado fue la PCR, el cual, probablemente, por su alta sensibilidad no logró determinar el impacto del tratamiento periodontal sobre la microbiota subgingival, al detectar los microorganismos viables y los no viables. Por otro lado, el tiempo de evaluación fue reducido puesto que la muestra posparto se tomó en promedio a las tres a cuatro semanas después de la inclusión al estudio y, en algunos casos, una semana después. En un estudio previo de casos y controles (2), se observó asociación significativa entre la presencia de microorganismos periodontopáticos detectados por cultivo y la preeclampsia (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, y *E. corrodens*), mientras que en el presente este estudio también se identificó la presencia de virus como el de Epstein-Barr y el herpes simple I en mujeres con preeclampsia. La prevalencia del virus de Epstein-Barr disminuyó en el grupo control solamente, mientras que el herpes simple disminuyó en el grupo intervención.

Existen datos de que la enfermedad periodontal, la presencia de microorganismos periodontopáticos y las complicaciones maternas están asociadas. Los niveles locales y sistémicos de marcadores inflamatorios se incrementan en los sujetos con periodontitis y en las pacientes con preeclampsia (10), así como la invasión directa de los microorganismos a la placenta (11), lo cual podría desencadenar un efecto grave en la placentación e inducir disfunción endotelial, una característica de la preeclampsia (12), así como de otras complicaciones del embarazo.

En Estados Unidos, en una cohorte de 763 embarazadas, las 39 que presentaron preeclampsia tenían enfermedad periodontal más grave en el parto o habían tenido progresión durante el embarazo (1). En un análisis secundario del proyecto OCAP (*Oral Conditions and Pregnancy*), en una cohorte de 775 mujeres, se encontró

mayor riesgo de preeclampsia en aquellas que tenían enfermedad periodontal y niveles altos de proteína C reactiva (11). En Israel, mediante PCR en tiempo real, se encontraron microorganismos periodontopáticos en las placentas de mujeres con preeclampsia (12). Esto sugiere que algunos microorganismos relacionados con la enfermedad periodontal, pueden llegar a la placenta e inducir un proceso infeccioso-inflamatorio, lo que resalta la importancia de efectuar un tratamiento temprano de la enfermedad periodontal en mujeres gestantes o antes del embarazo. En el norte de Holanda, en un estudio de casos y controles en mujeres caucásicas, se estudiaron 17 mujeres con preeclampsia de aparición temprana y 35 controles sin complicaciones del embarazo. Se encontró enfermedad periodontal más grave en el grupo de casos, con un *odds ratio* de 7,9 (IC_{95%} 1,9-32,8) después de ajustar por edad, fumar y nivel educativo. Además, encontraron mayor prevalencia de *C. rectus* en el grupo control y de *M. micros* en los casos (13).

En el presente estudio se demostró que el tratamiento periodontal no fue más efectivo que la profilaxis para reducir los organismos periodontopáticos o virus herpes en la subgingiva, mediante la PCR. Se desconoce cuál habría sido el resultado de la intervención periodontal, si se usara una prueba microbiológica como el cultivo periodontal o viral, o si se evaluara la microbiota a los tres o seis meses posparto, o si se hubieran administrado a las pacientes antibióticos sistémicos como lo hicieron López, *et al.*, en su ensayo clínico controlado con embarazadas (14) y, posteriormente, López, *et al.*, (15), quienes usaron antibióticos como único tratamiento en pacientes con periodontitis.

En cualquier caso, el objetivo del tratamiento es reducir la infección y la inflamación que poseen también efectos sistémicos (16,17). Como en nuestro estudio el tratamiento periodontal no logró modificar la microbiota subgingival de manera significativa, se sugiere llevar a cabo estudios en los cuales la intervención periodontal se haga durante el primer trimestre del embarazo o incluso antes del embarazo, en mujeres con alto riesgo obstétrico, usando antibióticos sistémicos seguros para el feto y la madre, como coadyuvantes al tratamiento mecánico, para poder determinar el efecto del tratamiento periodontal en las complicaciones maternas y fetales, y no tardíamente como en otros estudios (10,18). Se desconoce cuáles son los efectos sistémicos de una reducción en la microbiota subgingival en pacientes con preeclampsia y su efecto sobre los marcadores

inflamatorios sistémicos y sobre el curso de la preeclampsia.

En síntesis, en este estudio se demostró que el tratamiento periodontal (sin antibióticos, ni clorhexidina), no modificaba sustancialmente la composición de la microbiota subgingival en las pacientes con preeclampsia. El sistema de detección de los microorganismos (PCR), por su gran sensibilidad, puede haber desestimado los cambios cuantitativos en la composición de la microbiota subgingival. Una profilaxis dental con instrucción de higiene oral en embarazadas, parece ser tan efectiva como una intervención periodontal intensiva en la reducción de la profundidad de las bolsas periodontales y del índice de sangrado gingival en mujeres con preeclampsia leve.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflicto de intereses en la realización de este estudio.

Financiación

Proyecto financiado por el Instituto Colombiano para la Ciencia y Tecnología (Francisco José de Caldas) (Colciencias) (Proyecto No. 110604-16325) y por la Universidad del Valle. Registro Latinoamericano de Ensayo Clínico Controlado-LatinREC

Referencias

1. **Boggess KA, Lief S, Murtha AP, Moss K, Beck J, Offenbacher S.** Maternal periodontal disease is associated with an increased risk for preeclampsia. *Obstet Gynecol.* 2003;101:227-31.
2. **Contreras A, Herrera JA, Soto JE, Arce RM, Jaramillo A, Botero JE.** Periodontitis is associated with preeclampsia in pregnant women. *J Periodontol.* 2006;77:182-8.
3. **Conde-Agudelo A, Villar J, Lindheimer M.** Maternal infection and risk of preeclampsia: Systematic review and metaanalysis. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;198:7-22.
4. **Offenbacher S, Boggess KA, Murtha AP, Jared HL, Lief S, McKaig RG, et al.** Progressive periodontal disease and risk of very preterm delivery. *Obstet Gynecol.* 2006;107:29-36.
5. **Contreras A, Botero JE, Jaramillo A, Soto JE, Vélez S, Herrera JA.** Efectos del tratamiento periodontal sobre el parto prematuro y el bajo peso al nacer en mujeres con preeclampsia: ensayo clínico controlado. *Rev Odont Mex.* 2010;14:226-30.
6. **Armitage GC.** Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. *Ann Periodontol.* 1999;4:1-6.
7. **Boom R, Sol CJ, Salimans M.** Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *J Clin Microbiol.* 1990;28:495-503.
8. **Ashimoto A, Chen C, Bakker I, Slots J.** Polymerase chain reaction detection of 8 putative periodontal pathogens in subgingival plaque of gingivitis and advanced periodontitis lesions. *Oral Microbiol Immunol.* 1996;11:266-73.
9. **Parra B, Slots J.** Detection of human viruses in periodontal pockets using polymerase chain reaction. *Oral Microbiol Immunol.* 1996;11:289-93.
10. **Herrera JA, Vélez S, Molano R, Medina V, Botero JE, Parra B, et al.** Periodontal intervention effects on pregnancy outcomes in women with preeclampsia. *Colomb Med.* 2009;40:177-84.
11. **Ruma M, Boggess K, Moss K, Jared H, Murtha A, Beck J, et al.** Maternal periodontal disease, systemic inflammation, and risk for preeclampsia. *Am J Obstet Gynecol.* 2008;198:389.e1-5.
12. **Barak S, Oettinger-Barak O, Machtei EE, Sprecher H, Ohel G.** Evidence of periopathogenic microorganisms in placentas of women with preeclampsia. *J Periodontol.* 2007;78:670-6.
13. **Kunnen A, Blaauw J, van Doormaal JJ, van Pampus MG, van der Schans CP, Aarnoudse JG, et al.** Women with a recent history of early-onset pre-eclampsia have a worse periodontal condition. *J Clin Periodontol.* 2007;34:202-7.
14. **López NJ, Smith PC, Gutiérrez J.** Periodontal therapy may reduce the risk of preterm low birth weight in women with periodontal disease: A randomized controlled trial. *J Periodontol.* 2002;73:911-24.
15. **López NJ, Socransky SS, Da Silva I, Japlit MR, Haffajee AD.** Effects of metronidazole plus amoxicillin as the only therapy on the microbiological and clinical parameters of untreated chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2006;33:648-60.
16. **Han YW.** Oral health and adverse pregnancy outcomes - what's next? *J Dent Res.* 2011;90:289-93.
17. **Loos BG.** Systemic markers of inflammation in periodontitis. *J Periodontol.* 2005;76:2106-15.
18. **López NJ, Smith PC, Gutiérrez J.** Higher risk of preterm birth and low birth weight in women with periodontal disease. *J Dent Res.* 2002;81:58-63.