

Universidad de Ciencias Médicas de La Habana. Facultad de Ciencias Médicas "Dr. Enrique Cabrera"

Eficacia del implante de células mononucleares autólogas en el tratamiento de la periodontitis crónica

Effectiveness of autologous mononuclear cells implant in patients with chronic periodontitis

Amparo Pérez Borrego,^I Zaida Teresa Ilisástigui Ortueta,^{II} Porfirio Hernández Ramírez,^{III} Norma Fernández Delgado,^{IV} Ana Iris González Iglesias,^V Tania González Suárez,^{VI} Odalis Salgado Arrozarena,^{VII} Andy Caballero Méndez,^{VIII} Alina López Ilisástigui,^{IX} Rosa M. Lam Díaz^X Isidora Andrea Mujica Valenzuela^{XI}

^I Ph.D. Especialista Segundo Grado en Periodoncia. Profesora Titular. Facultad de Ciencias Médicas "Enrique Cabrera" amparop. borrego@infomed.sld.cu

^{II} Ph.D. Especialista Segundo Grado en Periodoncia. Profesora Titular. Facultad de Estomatología "Raúl González Sánchez". alinali@infomed.sld.cu

^{III} Ph.D. Especialista Segundo Grado Hematología. Profesor Titular. Investigador Titular. Instituto de Hematología e Inmunología, La Habana, Cuba. nfdez@infomed.sld.cu

^{IV} Especialista Segundo Grado en Hematología. Investigador y Profesor Auxiliar. Instituto de Hematología e Inmunología, La Habana, Cuba. nfdez@infomed.sld.cu

^V Licenciada en Medicina Transfusional. Instituto de Hematología e Inmunología, La Habana, Cuba. iglesias.anai@infomed.sld.cu

^{VI} Licenciada en Enfermería. Instituto de Hematología e Inmunología, La Habana, Cuba. ihidir@hemato.sld.cu

^{VII} Licenciada en Medicina Transfusional. Instituto de Hematología e Inmunología, La Habana, Cuba. ihidir@hemato.sld.cu

^{VIII} Lic. en Bioquímica. Centro Nacional de Investigaciones Científicas (CNIC), La Habana, Cuba. caballero810711@gmail.com

^{IX} MSc. Especialista Primer Grado en Periodoncia. Asistente. Facultad de Estomatología "Raúl González Sánchez". alinali@infomed.sld.cu

^X Especialista Primer Grado en bioestadística. Instituto de Hematología e Inmunología, La Habana, Cuba. r.maria@hemato.sld.cu

^{XI} Cirujana Dentista. Universidad de Chile. mujicaisidora@gmail.com

RESUMEN

Introducción: los buenos resultados en la regeneración de tejidos mediante la implantación de células mononucleares en distintas especialidades médicas en el mundo y en Cuba, ha motivado a considerar el periodonto como candidato para esta terapia.

Objetivo: determinar la eficacia del implante de células mononucleares autólogas en el tratamiento de la periodontitis crónica a 48 meses de evolución.

Material y Métodos: se realizó un ensayo clínico fase III, aleatorizado y controlado en pacientes con periodontitis crónica durante los años 2008 a 2014. De ese grupo de pacientes se evaluaron 30 que tenían 48 ó más meses de recibir tratamiento en la consulta de Periodoncia del Hospital "Enrique Cabrera" en el período comprendido de febrero a mayo de 2015; 15 habían recibido tratamiento con células mononucleares (grupo estudio) y 15 terapia convencional (grupo control). La movilización a la sangre periférica de las células mononucleares se realizó mediante la aplicación del factor estimulador de colonias de granulocitos (FEC-G).

Resultados: se aprecia una disminución del promedio de todas las variables clínicas, que es marcada en cada uno de los períodos evolutivos con respecto al estado inicial de los pacientes a los 6, 12, 36 y 48 meses posteriores al tratamiento en el grupo de estudio, mientras que en el control las manifestaciones de la enfermedad fueron reapareciendo paulatinamente a medida que avanzaba el tiempo post-tratamiento. Estos resultados fueron significativos.

Conclusiones: la terapia celular regenerativa con células mononucleares autólogas es eficaz para el tratamiento de pacientes con periodontitis y su efecto es prolongado.

Palabras clave: periodontitis, terapia celular, células madre, regeneración periodontal, células mononucleares autólogas.

ABSTRACT

Introduction: over the last years, in Cuba and other countries, encouraging results have been obtained in different medical specialties in the field of tissue regeneration by implanting stem cells; it has motivated us to consider periodontal tissue as a target for this therapy.

Objective: To determine the efficacy of the implant of mononuclear autologous cells for the treatment of 48 months evolution chronic periodontitis.

Material and Methods: 30 patients attending the Periodontology Clinic of the "Enrique Cabrera" hospital for over 48 months during years 2008 to 2014 were included in the study, divided into two groups 15 patients each: group A were treated with autologous mononuclear cells and group B, who underwent classic therapy. The peripheral blood autologous mononuclear cells (MNC-SP) were mobilized with

granulocyte colony- stimulating factor (G-CSF).

Results: group A patients showed a significant average decrease in all clinical variables, more remarkable in every of the evolution periods as compared to the initial stage of every patient at 6, 12, 24 and 48 months after starting the treatment. In Group B patients, signs of the disease gradually reappeared as the post-treatment period proceeded.

Conclusions: regenerative cell therapy with MNC-SP is effective and long lasting in patients with periodontitis.

Keywords: periodontitis, cell therapy, stem cells, periodontal regeneration, bone marrow mononuclear cells.

INTRODUCCIÓN

El término enfermedad periodontal agrupa una serie de entidades que afecta los tejidos de protección e inserción del diente, dentro de las cuales se encuentra la Periodontitis, proceso inmunoinflamatorio crónico, que de no recibir la adecuada atención lleva, la mayoría de las veces y con mayor o menor rapidez, a la pérdida dentaria.^{1,2}

Se han descrito diferentes formas de periodontitis, basándose fundamentalmente en la edad de aparición y agresividad de la enfermedad, dentro de las llamadas periodontitis agresivas se sitúan la periodontitis prepuberal y la periodontitis juvenil que aparecen en la niñez o adolescencia y se distinguen por su avance rápido y ser refractarias a los tratamientos convencionales; la periodontitis crónica es la forma menos agresiva y aparición más tardía, en la adultez y constituye, por mucho, la más frecuente.^{2,3} La prevalencia de la periodontitis crónica aumenta después de los 35 años de edad, pero puede iniciarse desde edades más tempranas.³⁻⁷

La destrucción de los tejidos en la periodontitis crónica suele ocurrir progresiva y lentamente, sin originar grandes molestias y la pérdida dentaria se presenta después de algunos años de iniciada la enfermedad.^{1,2,4}

Se trata de una enfermedad crónica que evoluciona por crisis y se manifiesta con una clínica similar y una cadena de sucesos patogénicos compartidos, pero que varían según su etiología y pronóstico.³ Los estudios epidemiológicos efectuados en todo el mundo indican la distribución universal de las periodontitis,^{6,7} las cuales se caracterizan por la presencia de bolsas periodontales y pérdida ósea con su consecuente movilidad dentaria.¹⁻³

El problema que representa la pérdida ósea en las periodontitis es objeto de estudio desde hace muchos años. Las técnicas para resolver esta situación han mejorado con el tiempo, aunque no siempre son totalmente exitosas y, en ocasiones, resultan costosas.⁸⁻¹⁰ Desde hace algunos años se trabaja en la regeneración de tejidos mediante la implantación de células madre en distintas especialidades médicas en el mundo y en Cuba, con buenos resultados, lo que ha motivado a considerar el periodonto como candidato para esta terapia.¹¹⁻¹³ Algunas experiencias de este tipo se han publicado por la Dra. Pérez Borrego, una de las autoras de esta investigación, con resultados prometedores, que brinda la posibilidad de realizar una terapia segura, predecible y a nuestro alcance.¹⁴⁻¹⁶

OBJETIVO

El objetivo de este trabajo es determinar la eficacia del implante de células mononucleares autólogas en el tratamiento de la periodontitis crónica a los 48 meses.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se realizó un ensayo clínico fase III, aleatorizado y controlado en pacientes con periodontitis crónica durante los años 2008 a 2014.¹⁷ Del total de pacientes tratados, se evaluaron 30 que tenían 48 meses o más de recibir tratamiento en la consulta de Periodoncia del Hospital General Docente "Enrique Cabrera" en el período comprendido de febrero a mayo de 2015; 15 habían recibido tratamiento con células mononucleares autólogas (grupo de estudio) y 15 con terapia convencional (grupo control).

La movilización a la sangre periférica de las células mononucleares autólogas derivadas de la médula ósea se realizó mediante la aplicación subcutánea del factor estimulador de colonias de granulocitos (FEC-G) (Leukocim, CIMAB, SA, La Habana o Hebervital, Heber SA, La Habana). Este producto se administró en una dosis total de 40 µg/kg de peso corporal, subdividida en 4 subdosis de 10 µg/kg de peso corporal cada 12 horas, la última aplicada entre 4 a 6 horas antes de la autodonación de sangre. Después de realizada la flebotomía se hizo la separación de las células, por el método desarrollado en el Instituto de Hematología e Inmunología (IHI).¹⁸

Técnica del implante

Grupo de estudio: A los pacientes del grupo de estudio se les realizó durante el tratamiento quirúrgico el implante de células madre hematopoyéticas; se depositaron primeramente en los defectos óseos y posteriormente en la encía adyacente afectada. El grupo control fue tratado con las mismas técnicas quirúrgicas pero sin implante celular.

Seguimiento evolutivo de los pacientes durante el tratamiento

Los pacientes fueron evaluados clínica y radiográficamente antes del tratamiento por la autora del estudio, y postratamiento cada 6 meses en la consulta de Periodontología. Las variables evaluadas son: dientes afectados, presencia de sangrado al sondeo, presencia de bolsas periodontales, movilidad dentaria, pérdida de inserción, evidencia radiográfica de organización y formación ósea. El nivel de inserción se midió en dientes que presentan pérdida ósea vertical utilizando para ellos el Índice de extensión y severidad de la pérdida de inserción (ESI), de Carranza y cols.² La Evaluación radiográfica se realizó utilizando la escala descrita por Pérez Borrego.¹⁷ Se consideró una respuesta completa cuando la mejoría es de 75 % en tres o más de los parámetros evolutivos evaluados, respuesta parcial cuando la mejoría es en 75% en tres de los parámetros evolutivos evaluados y ninguna respuesta cuando la mejoría es en 75 % en dos o menos de los parámetros evolutivos evaluados¹⁷.

Consideraciones bioéticas

Esta investigación fue realizada sobre las bases establecidas para las investigaciones en seres humanos. El protocolo fue aprobado por el Comité de ética de todas las unidades involucradas en el estudio. Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado, previo al tratamiento.

Análisis estadístico

El tratamiento de los datos se realizó mediante el programa estadístico SPSS versión 15.0 para Windows. En cada grupo se realizó la comparación del promedio de los valores de las variables cuantitativas antes del tratamiento y a los 6, 12, 24 y 30 meses del mismo, mediante la Prueba de Friedman, considerando un nivel de significación de $p < 0,05$. En caso de que las comparaciones múltiples resultaran estadísticamente significativas, para analizar qué grupos diferían entre sí, se utilizó la Prueba de Wilcoxon para dos muestras relacionadas, acompañada de la corrección de Bonferroni; esta corrección al hacer comparaciones por pares nos llevó a basar nuestras decisiones en un nivel de significación de $0,05/10=0,005$.

La comparación del promedio de los valores de las variables cuantitativas entre el grupo de estudio y el control se realizó mediante la Prueba t de Student para muestras independientes. Para analizar la mejoría obtenida en ambos grupos de tratamiento se utilizó la Prueba Chi Cuadrado. En ambos casos se consideró significativo el valor de $p < 0,05$.

RESULTADOS

La tabla 1 muestra el promedio del número de dientes afectados, puntos de sangrado, bolsas periodontales, dientes con movilidad, pérdida de inserción ósea y ganancia ósea evidenciada en la evaluación radiográfica de los pacientes tratados con células mononucleares autólogas y evolucionados a los 6, 12, 36 y 48 meses después del tratamiento.

Tabla 1. Variables analizadas en los diferentes momentos del estudio en el grupo experimental antes y después del implante

Variables	Antes del tratamiento X ± DE	6 meses X ± DE	12 meses X ± DE	36 meses X ± DE	48 meses X ± DE	p
Dientes afectados	13,18 ± 3,86	2,22 ± 0,54	2,18 ± 0,59	2,04 ± 0,41	2,00 ± 0,39	0,000*
Sangrado al sondeo	12,88 ± 1,47	1,11 ± 0,77	0,92 ± 0,83	0,83 ± 0,76	0,83 ± 0,69	0,000*
Bolsas periodontales	18,09 ± 3,90	3,71 ± 1,07	3,21 ± 0,88	2,00 ± 0,54	2,06 ± 0,51	0,000*
Movilidad dentaria	4,15 ± 1,79	1,08 ± 0,80	0,96 ± 0,79	0,86 ± 0,69	0,78 ± 0,75	0,000*
Pérdida de inserción	2,38 ± 0,82	1,43 ± 0,81	1,20 ± 0,81	1,02 ± 0,86	1,03 ± 0,71	0,000*
Evaluación radiográfica	1,15 ± 0,26	3,91 ± 0,29	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	4,00 ± 0,00	0,000*

*Comparaciones estadísticas fijando un nivel de significación de $p \leq 0,05$

Se aprecia una disminución del promedio de todas las variables clínicas, más marcada en cada uno de los períodos evolutivos con respecto al estado inicial de los pacientes (antes del tratamiento). Sin embargo, entre las evoluciones sucesivas a pesar de que existe disminución en los valores de las variables clínicas, estas son de menor magnitud. Con respecto a la evaluación radiográfica, se aprecia ganancia ósea marcada en cada uno de los períodos evolutivos en relación con el valor inicial, no así entre ellos, pues a partir de los 12 meses el promedio alcanzado se mantiene constante. En este grupo se aprecia una organización en el trabeculado óseo, formación de cortical y zona radiopaca compatible con la formación del nuevo hueso, además de la disminución de la pérdida de inserción. En todos los casos las diferencias encontradas resultaron estadísticamente significativas ($p < 0,05$). Al realizar las comparaciones *a posteriori* se encontraron diferencias significativas de todas las variables en distintos momentos del seguimiento con respecto al estadio inicial ($p < 0,005$).

La tabla 2 muestra los dientes afectados, el promedio de puntos de sangrado, de bolsas periodontales, dientes con movilidad, pérdida de inserción ósea y ganancia ósea evidenciada en la evaluación radiográfica de los pacientes tratados con la terapéutica convencional y evolucionados a los 6,12, 36 y 48 meses después del tratamiento.

Tabla 2. Variables analizadas en los diferentes momentos del estudio en el grupo control antes y después del tratamiento

VARIABLES	Antes del tratamiento X ± DE	6 meses X ± DE	12 meses X ± DE	36 meses X ± DE	48 meses X ± DE	p
Dientes afectados	12,10 ± 2,40	2,69 ± 0,69	2,76 ± 0,98	2,87 ± 0,75	3,08 ± 0,67	0,000*
Sangrado al sondeo	12,79 ± 1,34	1,73 ± 0,47	1,90 ± 0,64	2,37 ± 0,70	2,98 ± 0,55	0,000*
Bolsas periodontales	17,57 ± 2,86	3,70 ± 0,76	3,94 ± 1,03	3,99 ± 1,29	3,99 ± 1,68	0,000*
Movilidad dentaria	4,01 ± 1,54	1,20 ± 0,45	1,15 ± 0,40	1,35 ± 0,77	1,99 ± 0,49	0,001*
Pérdida de inserción	2,28 ± 0,77	2,26 ± 0,75	1,99 ± 0,71	1,93 ± 0,92	2,20 ± 0,70	0,850
Evaluación radiográfica	1,21 ± 0,26	2,1 ± 0,39	2,1 ± 0,28	2,16 ± 0,32	2,21 ± 0,05	0,000*

*Comparaciones estadísticamente significativas para $p \leq 0,05$

Todos los valores de las variables clínicas disminuyeron evolutivamente con relación con el estado inicial. En el caso de los dientes afectados, el sangrado gingival y la presencia de bolsas periodontales, se aprecia un incremento en sus valores a partir de los 12 meses del tratamiento; y en el caso de los dientes con movilidad se observa un incremento a partir de los 36 meses. Al realizar las comparaciones *a posteriori* en todas las variables en el grupo tratado con la terapéutica convencional se observa que en el caso de los dientes afectados y el sangrado son significativas todas las comparaciones excepto la de los 36 con 48 meses. En relación con las bolsas periodontales resultaron estadísticamente significativas todas las comparaciones evolutivas referentes al estado inicial y entre los diferentes períodos evaluativos, 6 meses con 12 meses y 12 meses con 36 meses. En la movilidad dentaria resultaron significativas las comparaciones de los 6, 12, 36 y los 48 meses con solo relacionarlas con el estado inicial. Los cambios ocurridos respecto a la pérdida de inserción ósea no son relevantes a pesar de que se aprecia que los valores alcanzados al inicio se mantuvieron a los 12 meses, se incrementaron en las evoluciones sucesivas, lo cual no resultó estadísticamente significativo ($p > 0,05$).

En la evaluación radiográfica, se evidenció aumento de la organización del trabeculado y formación cortical ósea, pero no hay zonas radiopacas compatibles con la formación de nuevo hueso. Estos cambios favorables en la calidad del hueso, aunque no hay formación de nuevo hueso, ni cambios en el nivel de inserción, en cada uno de los períodos evolutivos relacionado con el valor inicial, son estadísticamente significativas ($p < 0,005$).

Se hizo el análisis comparativo de las variables de ambos grupos (tablas 1 y 2): dientes afectados, sangrado al sondeo, presencia de bolsas periodontales y movilidad dentaria, en los diferentes momentos del seguimiento de los pacientes que recibieron tratamiento con células mononucleares autólogas con respecto al que recibió tratamiento convencional. Estos parámetros hablan a favor de una mejor evolución en el grupo de estudio con respecto al de control. Al realizar la comparación de la pérdida de inserción ósea de los pacientes en ambos grupos, se aprecia una disminución de sus promedios en el grupo que recibió tratamiento con células mononucleares autólogas, superior al grupo tratado con terapia convencional; este

último mantiene al inicio y final de la evaluación, valores similares. La evaluación radiográfica de los pacientes que fueron tratados con células mononucleares autólogas con respecto a los que recibieron la terapéutica convencional se aprecia en el grupo de estudio que los cambios favorables en el hueso llegaron hasta la evidencia de formación de nuevo hueso, mientras que en el grupo tratado con la terapéutica convencional, solo se evidenció aumento de la organización del trabeculado y formación de cortical ósea, pero no hay zonas radiopacas compatibles con la formación de nuevo hueso. En general, podemos afirmar que en el grupo de estudio se mantienen los parámetros clínicos y radiográficos alcanzados; no así en el grupo control donde las manifestaciones de la enfermedad fueron reapareciendo paulatinamente a medida que avanzaba el tiempo post-tratamiento. En el grupo de estudio (experimental) no se presentaron efectos adversos en ninguno de los 15 pacientes tratados.

En el grupo tratado con células mononucleares autólogas, en la evolución a los 48 meses, hubo mejoría completa en 100 % de los pacientes, mientras que en el grupo tratado con la terapéutica convencional hubo mejoría completa en 60%; 33,33 % de los pacientes tuvieron mejoría parcial y 6,66 % no obtuvo mejoría como se aprecia en la tabla 3. Las diferencias encontradas fueron estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Tabla 3. Grado de respuesta en ambos grupos a los 48 meses

Mejoría	Grupo estudio		Grupo control		Total	
	No.	%	No.	%	No.	%
Completa	15	100	9	60.0	24	80.0
Parcial	0	0	5	33.3	5	16.7
No mejoría	0	0	1	6.7	1	3.3
Total	15	100	15	100	30	100

$p = 0,03$

DISCUSIÓN

Por causa de las limitadas opciones terapéuticas con el fin de regenerar los tejidos periodontales, se ha desarrollado un grupo de enfoques quirúrgicos. Aunque esta forma de tratamiento se reporta como eficiente, la cantidad de tejido regenerado no se puede predecir y muchas veces resulta infructuoso.⁸⁻¹⁰ Por esto, la regeneración del tejido periodontal mediante el uso de células madre autólogas es promisoria en la terapia regenerativa en la enfermedad periodontal.^{11,12,17}

Estudios sobre el tratamiento regenerativo de la periodontitis han arrojado buenos resultados tanto en la utilización de células madre mononucleares, células madre mesenquimales cultivadas, de plasma rico en plaquetas, como con la ingeniería de tejido.^{11,14-17}

En la actualidad, se conoce que en la médula ósea existe un conjunto heterogéneo de células madre, que pueden ser movilizadas a la sangre periférica por el FEC-G, denominadas células madre mononucleares y está probada su efectividad terapéutica.^{18,19}

La concentración de células mononucleares en la investigación¹⁷ es más alta que la reportada por la literatura cubana. Esto se debe, posiblemente, a que el volumen necesitado para la terapia periodontal es menor que el utilizado en la terapéutica de otras enfermedades. Cortina y cols.,¹⁸ reportan que la cantidad óptima de células mononucleares con fines terapéuticos debe ser 8×10^6 células.

En la investigación que se muestra, se ha logrado, mediante el uso de implantes de células mononucleares autólogas, una respuesta completa y mantenida en el tiempo (equivalente a mejoría de 75 % en tres o más de los parámetros evolutivos evaluados), en más del 75 % de pacientes con periodontitis crónica, estos parámetros consistían en presencia de sangrado al sondeo, bolsas periodontales, movilidad dentaria, pérdida de inserción y evaluación radiográfica, donde mediante eventos clínicos y radiográficos se evidencia la formación de hueso nuevo a diferencia de un grupo tratado de forma convencional, donde no se alcanzaron estos resultados.¹⁷

Las células mononucleares autólogas pueden producir varios elementos solubles que son esenciales para su acción y que incluyen factores que intervienen en la citoprotección, proliferación, diferenciación y migración celular, angiogénesis, respuesta inflamatoria, asentamiento celular y, quizás, otras funciones aún no conocidas.¹³

Se sugiere que las señales emitidas por medio de factores liberados por las células residentes, o bien debidas a los contactos que se producen entre las células residentes y las trasplantadas, son capaces de estimular a estas últimas para su transdiferenciación en el tipo de célula residente circundante, lo que permitiría su integración al nicho apropiado para su acción regenerativa. También se ha planteado la posibilidad de que alguno de los estímulos recibidos en el microambiente en que se han colocado, induzca la fusión de las células implantadas con las del tejido en que se han asentado, y crean nuevas células con características funcionales que les permiten participar en la regeneración hística.¹³

Algunos de los trabajos publicados en los que se ha utilizado la terapia celular regenerativa a pacientes con periodontitis, obtuvieron resultados prometedores.^{11,14-17} El grupo de estudio se comportó de forma similar y coincide con los mismos. Una observación destacada en este caso fue la rápida respuesta inicial que se evidenció en las encías de los pacientes trasplantados; todos los signos inflamatorios desaparecieron en solo 7 días, efecto reportado por Pérez Borrego y cols.,¹⁵⁻¹⁷ en investigaciones anteriores. Para la explicación de este hecho se deben tener en cuenta los posibles mecanismos de acción de las células madre implantadas que pudieran explicar los rápidos cambios clínicos que ocurren en los primeros 6 meses de implantados, así los mismos podrían estar en relación con la liberación de factores de crecimiento, citocinas entre ellas, con capacidad antiinflamatoria, angiogénica y vasodilatadoras, entre otras funciones, elementos estos que se señalan pueden tener una capacidad autocrina al actuar sobre las propias células implantadas y también paracrina por su acción sobre las células vecinas en el tejido de implantación. Este mecanismo es en la actualidad un aspecto que se ha destacado para explicar la acción rápida observada en algunos casos después de la implantación celular. Por otra parte, además de este efecto liberador de sustancias solubles, se plantea la capacidad de transdiferenciación y fusión celular a las células del tejido dañado que pueden efectuar las células madre trasplantadas, mecanismo que sería más lógico para explicar los cambios observados evolutivamente en el tejido óseo.^{11,14-17} La observación de inexistencia de manifestaciones secundarias al tratamiento regenerativo, concuerda con lo comunicado por otros autores que han empleado este proceder terapéutico en otras entidades.¹⁹⁻²²

CONCLUSIONES

El implante de células mononucleares autólogas es eficaz en el tratamiento de la periodontitis crónica, el total de los pacientes obtuvo un resultado completo a los 48 meses de tratados, lo que no se observa en el grupo control donde comienzan a aparecer signos de enfermedad periodontal en la mayoría de pacientes.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lindhe J, Niklaus PL, Thorkild K. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. 5a ed: Médica Panamericana; 2009.
2. Carranza F. Periodontología Clínica. 9 ed. México: McGraw-Hill Interamericana; 2004, p.138-62.
3. Rojo Botello NR, Flores Espinosa A, Arcos Castroll M. Prevalencia, severidad y extensión de periodontitis crónica. Revista Odontológica Mexicana. 2011; 15 (1): 31-39.
4. Botero JE, Bedoya E. Determinantes del diagnóstico periodontal. Rev Clin Perio Implantol Rehabil Oral 2010 Ago; 3(2): 6. [Cited 2013 Abr 23]. Disponible en: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0718539110700495>
5. Wolf DL, Lamster IB. Contemporary concepts in the diagnosis of periodontal disease. Dent Clin North Am. 2011; 55:47-61.
6. Dye BA. Global periodontal disease epidemiology. Periodontology. 2012; 58: 1025.
7. Eke P, Dye BA, Wei L, Thornton-Evans GO. Prevalence of periodontitis in adults in the United States: 2009 and 2010. J Dent Res. 2012; 91:914-20.
8. Nevins ML, Richard TK, Samuel E, Lynch MK. PDGFrh-BB estimula la cicatrización de los defectos periodontales: Observaciones clínicas y radiográficas de 24 meses. RevInt de Odontología Restauradora& Periodoncia. 2006; 10: 231-39
9. Trombelli L, Simonelli A, Pramstraller M, *et al.* Single Flap Approach With and Without Guided Tissue Regeneration and a Hidroxyapatite Biomaterial in the Management of Intraosseus Periodontal Defects. J Periodontol, September. 2010; 81:1256-1263.
10. Garza GEJ, Guerrero AF, Téllez JH. Regeneración periodontal con el uso de matriz derivada del esmalte (MDE) combinado con fosfato de calcio bifásico (FCB). Revista Mexicana de Periodontología. 2010; 1(1): 6-12.
11. Carini F, Menchini Fabris GB, Biagi E, Salvade A, Sbordone L, Baldoni MG. Estudio experimental sobre la utilización de células madre humanas en la terapia de los defectos periodontales: resultados preliminares. Avances en Periodoncia. 2011 Ago; 23(2): 97-107. [Citado 2012 Mayo 04]. Disponible en: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-65852011000200003&lng=es

- 12 Zhao Q, Gong P, Tan Z, Tang X. Differentiation control of transplanted mesenchymal stem cells (MSCs): a new possible strategy to promote periodontal regeneration. *MedHypotheses*. 2008; 70(5):944-7.
13. Hernández P. Medicina regenerativa y células madre. Mecanismos de acción de las células madre adultas. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* 2009; 25(1). [Cited 2012 Nov 22]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892009000100002&lng=es
14. Pérez Borrego A, Ilisástigui Ortueta ZT, Hernández Ramírez P, Domínguez Rodríguez L. Utilización de células madre en el tratamiento de defectos óseos periodontales. Presentación de un caso. *Rev. CubEstomatol*. 2009; 46(4). [Cited 2013 Abr 22]. Disponible en: http://scieloprueba.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072009000400012&lng=es&nrm=iso
15. Pérez Borrego A, Ilisástigui Ortueta ZT, Hernández Ramírez P, Forrellat Barrios M, Fernández Delgado N, González Iglesias AI, Martínez de Pinillo, González Suárez T, Caballero Méndez A, López Ilisástigui A. Terapia celular regenerativa con células mononucleares autólogas aplicada a pacientes con periodontitis. *Rev haban cienc méd*. 2013; 12(2).
16. Pérez Borrego A, Ilisástigui Ortueta ZT, Hernández Ramírez P, Domínguez Rodríguez L, González Iglesias AI, Martínez de Pinillo MA, *et al*. Historia de la aplicación de la terapia celular en Periodoncia. *Rev haban cienc méd [revista en la Internet]*. [Citado 2012 Nov 17]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2009000500002&lng=es
17. Pérez Borrego A. Terapia celular regenerativa con células mononucleares autólogas aplicada a pacientes con periodontitis. [Tesis en Internet]. La Habana: Universidad de Ciencias Médicas. Hospital Pediátrico Docente "William Soler". 2013; 161. [Citado 26 May 2015]. Disponible en: http://tesis.repo.sld.cu/752/1/TESIS_COMPLETA_11_-_New.pdf
18. Cortina Rosales L, Hernández Ramírez P, López De Roux MR, Artaza Sanz HM, Dorticós Balea E, Macías Abraham C, *et al*. Aislamiento de células mononucleares de sangre periférica para trasplante de células madre: Método simplificado. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*. 2008 Dic; [citado 2011 Jun 07]; Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892008000300004&lng=es
19. Wu L, Zhang Y, Huang PP, Li SZ, Zhao YX, Long FL, *et al*. Analysis the advantage of autologous mobilized peripheral blood mononuclear cells transplantation on lower limb ischemia. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi*. 2011 Feb; 32(2):112-4.
20. González-González JA, Gámez-Pérez A, Rodríguez-Orta C, Cruz-Sánchez P, López-González E, González-Cordero F, *et al*. Terapia celular en fractura del fémur. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter*. 2012 Mar; 28(1): 84-90. [Citado 2013 Ene 20]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892012000100010&lng=es

21. Cárdenas Díaz T, Capote Cabrera A, Benítez Merino MdelC, Noriega Martínez JL, Montero Díaz E, Hormigó Puertas IF. Medicina regenerativa y superficie ocular. Rev Cubana Oftalmol . 2012 Jun; 25(1). [Citado 2013 Ene 20]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-21762012000100013&lng=es

22. Baganet Cobas AM, Hernández Ramírez P, Fernández Delgado N, Forrellat Barrios M, González Iglesias AI, Pérez Fuentes E, *et al.* Implante percutáneo de células mononucleares de sangre periférica movilizadas con factor estimulante de colonias granulocíticas, en la osteoartrosis de rodilla. Primer caso comunicado en Cuba. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter. 2010 Dic; 26(3):246-252.[Citado 2012 Abr 17]. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892010000300010&lng=es

Recibido: 3 de Junio de 2015.

Aprobado: 3 de Septiembre de 2015.