

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA
UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA HABANA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS “ENRIQUE CABRERA”
HOSPITAL PEDIÁTRICO DOCENTE “WILLIAM SOLER”

**“TERAPIA CELULAR REGENERATIVA CON CÉLULAS MONONUCLEARES
AUTÓLOGAS APLICADA A PACIENTES CON PERIODONTITIS CRÓNICA”.**
ENSAYO CLÍNICO.

Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias
Estomatológicas

Dra. AMPARO PÉREZ BORREGO

La Habana.

2013

MINISTERIO DE SALUD PÚBLICA
UNIVERSIDAD DE CIENCIAS MÉDICAS DE LA HABANA
FACULTAD DE CIENCIAS MÉDICAS “ENRIQUE CABRERA”
HOSPITAL PEDIÁTRICO DOCENTE “WILLIAM SOLER”

**“TERAPIA CELULAR REGENERATIVA CON CÉLULAS MONONUCLEARES
AUTÓLOGAS APLICADA A PACIENTES CON PERIODONTITIS CRÓNICA”.**
ENSAYO CLÍNICO.

**Tesis en opción al grado científico de Doctor en Ciencias
Estomatológicas**

Autor: Dra. AMPARO PÉREZ BORREGO

Tutores: Prof. Tit. Dra. Zaida T. Ilisastigui Ortueta, Dr. C.

Prof. Tit. Dr. Porfirio Hernández Ramírez, Dr. Cs.

La Habana.

2013

AGRADECIMIENTOS

"No pude responder otra cosa que gracias y gracias." William Shakespeare

La escritura de una tesis es un trabajo exigente y duro. Es también un hito importante en la vida profesional. Muchas son las personas a quienes les agradezco vivamente, el haber compartido sin sentido del tiempo, los esfuerzos para el desarrollo y culminación de esta investigación y de su informe final.

Quiero dar las más sinceras gracias a los Profesores Dra. C. Zaida T. Ilisastigui Ortúeta y Dr. Cs. Porfirio Hernández Ramírez por las invaluable enseñanzas y dedicación.

Muchas gracias al Lic. Andy Caballero Méndez por las horas dedicadas a la realización de este trabajo con el único propósito de ayudar.

Gracias al Dr. Julio Valcárcel Llerandi, Dra. Libia Domínguez Rodríguez, Dra. Grisel Mayan Reina, Dra. Iria Sosa Rodríguez, Lic. Nora Ramos Gómez, Dra. Rosa María Lam, Dra. Norma Fernández por el apoyo brindado.

Estoy en deuda con mis compañeros de trabajo, las licenciadas que laboran en el Banco de Sangre del Instituto de Hematología e Inmunología, técnicos y el resto de los compañeros del hospital, con quienes compartimos el diario bregar.

Muchas gracias a todos los que no menciono, pero recuerdo agradecida, por el apoyo y la sabiduría que de ellos recibí.

Dra. Amparo Pérez Borrego

DEDICATORIA

A DIOS por demostrarme tantas veces su existencia y darme fuerzas para ir logrando los objetivos que me he trazado en la vida.

A la memoria de mi padre.

A la memoria de mi esposo.

A mi Madre.

A mis hermanos Julia, Grisel, Odalis y a Elier, por estar siempre a mi lado.

A mis sobrinos.

SÍNTESIS

La periodontitis constituye un proceso crónico en el que la pérdida ósea es el signo más significativo. El uso de células mononucleares autólogas ha dado lugar a un nuevo tipo de tratamiento, su empleo con fines regenerativos es de gran interés para la comunidad científica. Con el objetivo de evaluar la eficacia de la terapia celular regenerativa con células mononucleares autólogas en pacientes con periodontitis se realizó un ensayo clínico fase III, aleatorizado y controlado en pacientes con periodontitis crónica. El grupo de estudio (n=34), recibió tratamiento con células mononucleares autólogas y el grupo control terapia convencional (n=34). Se encontró una disminución de dientes afectados, sangrado y presencia de bolsas periodontales a los 6 meses posteriores al tratamiento, tendencia que se mantuvo presente durante los 12, 18, 24 y 30 meses posteriores en el grupo de estudio, mientras que en el control las manifestaciones de la enfermedad aparecieron paulatinamente a medida que avanzaba el tiempo. Se demostró un aumento mantenido en la mejoría de los signos de la periodontitis, lo que no ocurrió en los que recibieron tratamiento convencional. La terapia celular regenerativa con células mononucleares autólogas es factible, segura y más eficaz que la convencional.

ÍNDICE

	Pág.
INTRODUCCIÓN	1
Estado periodontal en América Latina	2
Estado periodontal en Estados Unidos de América	3
Estado periodontal en Asia y Oceanía	3
Estado periodontal en Cuba	4
Hipótesis	8
Objetivos:	9
General	9
Específicos	9
Aportes principales de la tesis	9
CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO	11
1.1 Anatomía funcional del periodonto normal	12
1.1.2 Encía	12
1.1.3 Ligamento periodontal	13
1.1.4 Cemento radicular	15
1.1.5 Hueso alveolar	16
1.2 Etiología y patogenia de la periodontitis crónica	18
1.2.1 Respuesta destructiva del hospedero desde la perspectiva del tejido dañado	21
1.3 Tratamiento	25

1.3.1 Tratamiento convencional	25
1.3.2 Medicina regenerativa	27
1.4 Células madre	31
1.4.1 Aspectos moleculares de la autorrenovación y diferenciación de las células madre	40
1.4.2 Mecanismo de acción de las células madre adultas	43
CAPÍTULO II. DISEÑO METODOLÓGICO	49
2.1 Clasificación de la investigación	50
2.2 Definición del universo de estudio	50
2.3 Criterios de diagnóstico	50
2.4 Criterios de inclusión	51
2.5 Criterios de exclusión	51
2.6 Criterios de interrupción del tratamiento después de la inclusión	51
2.7 Criterios de fracaso	52
2.8 Criterio de eficacia	52
2.9 Tamaño y selección de la muestra. Asignación aleatoria	52
2.10 Movilización de las células mononucleares autólogas	53
2.11 Extracción y separación de las células mononucleares	54
2.11.1 Autodonación	54
2.11.2 Estudio Celular	55
2.11.3 Estudio microbiológico	56
2.12 Descripción de los Tratamientos	56
2.13 Seguimiento evolutivo de los pacientes durante el tratamiento	58
2.14 Tipos de variables del estudio y definición operacional	58
2.14.1 Operacionalización de las variables	59

2.15 Consideraciones bioéticas	61
2.16 Análisis estadístico	62
CAPÍTULO III. RESULTADOS	64
CAPÍTULO IV. DISCUSIÓN	72
CONCLUSIONES	87
RECOMENDACIONES	89
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	91
ANEXOS	
PRODUCCIÓN CIENTÍFICA DE LA AUTORA SOBRE EL TEMA DE INVESTIGACIÓN	

INTRODUCCIÓN

INTRODUCCIÓN

El término enfermedad periodontal o periodontopatías, se refiere a un conjunto de enfermedades que afectan los tejidos que protegen y soportan el diente: encía, hueso, cemento dentario y ligamento periodontal. Las afecciones que con más frecuencia se presentan en estos tejidos son las inmunoinflamatorias crónicas (gingivitis crónica y periodontitis)^{1,2}.

Estudios epidemiológicos realizados en numerosos países han demostrado que las periodontopatías se distribuyen de forma universal, ya que con mayor o menor prevalencia han sido observadas en las más diversas partes del mundo, pudiendo decirse que no existe país ni territorio libre de ellas¹.

Se ha expuesto, también, que la problemática de la forma inmunoinflamatoria crónica es que la misma figura entre las afecciones más comunes del género humano, ocupando en la actualidad el segundo lugar en la jerarquización de los problemas de salud bucal. En la mayoría de los casos, la destrucción de los tejidos de soporte del diente suele ocurrir progresivamente y sin originar grandes molestias para el individuo y la pérdida dentaria se presenta en la edad adulta²⁻⁶.

Los datos que presentamos a continuación nos permiten apreciar el estado periodontal que se describe en algunas partes del mundo.

Estado periodontal en América Latina

En un estudio realizado por Carillo y cols.⁷, reclutaron 361 pacientes de ambos sexos y entre 11 y 77 años de edad. En toda la muestra encontraron solo

cuatro pacientes sanos y alta prevalencia de gingivitis entre leve y moderada hasta los 29 años de edad, los pacientes de 30 a 39 años mostraron predominio de gingivitis severa y en la etapa de los 40 a 49 años de edad se observó marcadamente la presencia de periodontitis leve, evolucionando de leve a moderada, apreciándose el establecimiento de la periodontitis severa conforme avanzaba la edad.

Estudios realizados en poblaciones jóvenes y adultas en Colombia, señalan la presencia de bolsas periodontales mayores de 5 mm en los 10,9 % y 50,2 % de afectados por periodontitis respectivamente^{8,9}.

Estado periodontal en Estados Unidos de América

Se han descrito influencias de características sociodemográficas en la prevalencia de periodontitis en Estados Unidos^{5,10}.

Cobb y col.¹¹, señalan que la mayoría de la población adulta de los Estados Unidos exhibe, en la actualidad, algún grado de periodontitis entre leve y moderada.

Otras encuestas muestran que la periodontitis crónica es la forma más frecuente de periodontitis en los Estados Unidos, la prevalencia y severidad de la misma aumentan con la edad, mientras que las formas agresivas afectan únicamente a un pequeño porcentaje de la población¹²⁻¹⁴.

Estado periodontal en Asia y Oceanía

En una encuesta realizada en regiones de Asia y Oceanía se encontró alta prevalencia de enfermedad periodontal, así como deficiencias en la higiene bucal, se refiere que señales de destrucción del periodonto de inserción se ven con frecuencia tempranamente, en adolescentes y adultos jóvenes¹⁵.

Escudero y cols.¹⁶, señalan que la epidemiología puede cambiar en función de la población estudiada, que los principales estudios transversales indican que las formas severas de periodontitis afectan a una minoría en los países industrializados, aumentan con la edad y alcanzan su pico a los 50-60 años.

De acuerdo con un reporte de la Organización Mundial de la Salud (OMS)¹⁷, entre el 5 al 15 % de la población mundial padece periodontitis severa, siendo esta la principal causa de pérdida dentaria en el adulto.

Estado periodontal en Cuba

En Cuba, de forma general, se ha apreciado un ligero aumento en la prevalencia de la enfermedad periodontal en los últimos años en que se han realizado estudios que señalan que la enfermedad periodontal está presente, en alguno de sus grados entre el 75 y 80 % de la población, siendo la gingivitis crónica la forma de enfermedad periodontal que más afecta¹⁷⁻¹⁹.

Aunque hasta ahora las investigaciones realizadas no son concluyentes, en los últimos tiempos se ha relacionado la periodontitis con importantes manifestaciones en la salud general, entre las que se señala el aumento del riesgo de enfermedad cardiovascular y bajo peso al nacer o parto prematuro^{12,}

20-26

Se ha asociado, además, con otras afecciones, como la artritis reumatoide, se describe una incidencia más alta de pérdida del hueso alveolar en pacientes con esta entidad, por lo que Cantley y cols.²⁷, realizaron un estudio cuyo objetivo era desarrollar un modelo animal para evaluar la relación entre la periodontitis preexistente y la artritis experimental. Los resultados mostraron que los ratones con periodontitis preexistente desarrollaron artritis más severa a una proporción más rápida.

También se ha descrito que la terapia periodontal, con el factor inhibidor de necrosis tumoral, contribuye a reducir la severidad de la artritis reumatoide activa en pacientes tratados²⁸.

La altura del hueso alveolar se mantiene por medio de un complejo equilibrio entre la formación y reabsorción ósea en el que toman parte células muy especializadas: los osteoblastos y los osteoclastos²⁹.

En el transcurso de la enfermedad periodontal inmunoinflamatoria crónica el equilibrio se rompe a favor de la reabsorción, lo que ocasiona disminución en la altura del hueso alveolar, por lo que decimos que la periodontitis produce cambios en la arquitectura del soporte óseo dentario que puede ocasionar la movilidad y pérdida definitiva del diente, de no tratarse oportunamente^{1, 30}.

Muchos investigadores afirman que la periodontitis crónica del adulto o periodontitis crónica, forma más frecuente de las periodontitis, es de causa múltiple y estiman que ésta se presenta por la interacción de una variedad de factores que se modifican entre sí a lo largo del tiempo. No obstante, aunque se acepta que las bacterias son necesarias para el inicio y progresión de la enfermedad y que su acción está favorecida por las deficiencias en la práctica de la higiene bucal, es la respuesta inmune la responsable de la destrucción de los tejidos periodontales³⁰⁻³³.

La periodontitis crónica trae como resultado la destrucción lenta y progresiva de los tejidos de soporte del diente y se diagnostica por parámetros exclusivamente clínicos, aunque las radiografías suelen ser un valioso auxiliar^{29, 34}.

Existen diversas opiniones en relación a la influencia de factores genéticos diferentes como riesgo de la periodontitis crónica y la periodontitis agresiva y se recomienda en el futuro profundizar en los estudios sobre este tema³⁴.

Diversas terapéuticas han sido empleadas con el objetivo de eliminar y retirar el tejido periodontal dañado y sustituirlo por tejido de nueva formación, las mismas no han logrado resolver totalmente este problema³⁵⁻³⁸.

Es necesario enfatizar en que el éxito del tratamiento periodontal no sólo depende del profesional, sino también de la respuesta del paciente a la terapéutica seleccionada y a la motivación que logremos en los mismos en relación a la comprensión de su enfermedad y a la modificación de los hábitos necesarios para su mejora³⁹.

En la actualidad se dispone de diversos recursos terapéuticos para el tratamiento de la enfermedad periodontal. La destrucción del aparato de sostén del diente, requiere en todos los casos de un tratamiento inicial mecánico, independientemente de la técnica que se vaya a emplear con posterioridad. Una vez realizado el mismo, se puede recurrir a la terapia correctiva, ya sea ésta quirúrgica o farmacológica, que en muchos casos no son excluyentes entre sí, sino que se complementan^{40, 41}.

El problema que representa la pérdida ósea en la enfermedad periodontal, que puede llevar a la pérdida dentaria y por consiguiente a la pérdida de la función de los dientes, la salud y estética del paciente, es objeto de estudio desde hace años. Las técnicas para resolverlo han ido evolucionando e incorporando nuevos elementos a lo largo del tiempo⁴².

Hasta la fecha, la restauración de los tejidos periodontales perdidos depende casi por completo del empleo de la implantación de sustitutos estructurales,

muchas veces con escaso o nulo potencial reparador. En general, estos esfuerzos se han centrado casi exclusivamente en regenerar el hueso alveolar y han incluido el uso de autoinjertos (hueso cortical, esponjoso, médula ósea), aloinjertos (hueso desmineralizado liofilizado, hueso liofilizado) y materiales aloplásticos (cerámica, hidroxiapatita, polímeros y biocristal).

Desde hace más de 20 años la literatura describe los resultados de la Regeneración Tisular Guiada (RTG), es decir, el uso de membranas, biodegradables o no, en el tratamiento de los defectos óseos producidos por las periodontitis. La finalidad de las mismas, en sentido general, es actuar como barreras y mantener por un tiempo suficiente el espacio que permita que sean las células indiferenciadas provenientes del ligamento periodontal y del hueso, las que ocupen este lugar y den origen a estos tejidos y no las que provienen de la encía, que solo permitirían la formación de un epitelio de unión largo y no una verdadera regeneración del periodonto, la función de las membranas es fundamentalmente la exclusión de estas células. La Regeneración Tisular Guiada ha sido utilizada también en combinación con injertos óseos y uso de materiales aloplásticos. Los resultados descritos en la literatura son aceptables⁴¹⁻⁴⁴.

Nuevos planteamientos, basados en el conocimiento de la biología celular y molecular del periodonto en desarrollo, ofrecen interesantes alternativas a los tratamientos para la reparación y la regeneración del mismo^{42, 43}.

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 terapia⁴⁵. Algunas experiencias de este

tipo, se han publicado por la autora de esta investigación, con resultados prometedores, que brinda la posibilidad de realizar una terapia segura, predecible y a nuestro alcance^{46, 47}.

En Cuba el 15 de enero del 2008, se aplicó por primera vez el trasplante de células mononucleares autólogas, movilizadas a la sangre periférica con factor estimulador de colonias de granulocitos (FEC-G), en el tratamiento de defectos óseos periodontales a una paciente con historia de periodontitis agresiva, los resultados obtenidos en la valoración clínica y radiográfica fueron alentadores, disminuyó la inflamación, sangrado, número de dientes afectados con bolsas y movilidad dentaria entre otras variables en los primeros seis meses post implante⁴⁷.

Teniendo en cuenta que la enfermedad periodontal es la segunda causa de mortalidad dentaria y un problema aun no resuelto totalmente, se decide realizar esta investigación con el objetivo de determinar la eficacia del implante de células mononucleares autólogas en el tratamiento de los pacientes con periodontitis como alternativa terapéutica.

La investigación propuesta tiene el propósito de responder la siguiente interrogante.

¿Es el implante de células mononucleares autólogas una alternativa terapéutica eficaz y segura en el tratamiento de los pacientes con periodontitis?

Hipótesis

La administración de la terapia celular regenerativa con células mononucleares autólogas aplicada a pacientes con periodontitis crónica es eficaz y propicia mejores resultados que la terapéutica convencional.

Para dar respuesta a la pregunta e hipótesis, se formularon los siguientes objetivos:

General

- Determinar la eficacia del implante de células mononucleares autólogas en el tratamiento de los pacientes con periodontitis crónica.

Específicos

- Cuantificar el contenido de células mononucleares autólogas en el concentrado celular utilizado para el implante.
- Evaluar clínica y radiológicamente el tratamiento con células mononucleares autólogas como alternativa terapéutica en pacientes con periodontitis crónica.
- Identificar posibles reacciones adversas al FEC-G y complicaciones postoperatorias

Aportes principales de la tesis

El impacto teórico es indiscutible, el trabajo brinda elementos que propician el llenado del espacio cognitivo existente referente al uso de la terapia celular en el tratamiento de la enfermedad periodontal, debido a la ausencia de investigaciones similares en el país y pocos reportes en la literatura internacional.

El estudio aporta, además, las indicaciones de la medicina regenerativa en el tratamiento de la periodontitis y la estructuración del cuerpo teórico para su aplicación en otras especialidades estomatológicas.

Científico: Se confirma la efectividad de la terapia celular, en este caso en el tratamiento de la periodontitis y representa un gran impacto científico, ya que logra la regeneración de los tejidos perdidos, algo que no siempre se consigue

con otras terapias, que escasamente llevan a la detención de la enfermedad. Es la primera vez que se usa este método de tratamiento en Cuba e internacionalmente hay muy pocos reportes de estudios similares, por lo que constituye, además, un punto de partida de múltiples líneas de investigación en este sentido.

Social: Mediante este procedimiento se repercute significativamente en el estado físico y la calidad de vida de los pacientes, debido a la disminución de la mortalidad dentaria y las consecuencias colaterales de la misma (trastorno en masticación, estética, fonética, articulación temporo mandibular, entre otros).

Económico: La aplicación del método que se analiza tiene repercusión económica por la disminución del costo y el tiempo de tratamiento del paciente. Por otro lado, la disminución de la mortalidad dentaria y su consecuente rehabilitación.

CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO

CAPÍTULO I. MARCO TEÓRICO

1.1 Anatomía funcional del periodonto normal

Cada uno de los componentes periodontales (encía, ligamento periodontal, cemento y hueso alveolar) posee su propia estructura especializada y sus características estructurales definen directamente la función del tejido. Es cada vez más evidente que estos componentes no actúan o funcionan de forma aislada, sino que interactúan dinámicamente, influyendo unos sobre otros de un modo constante. El correcto funcionamiento del periodonto únicamente está garantizado mediante el mantenimiento de la integridad estructural y de la compleja interacción entre los cuatro componentes mencionados⁴⁸.

El término periodonto significa, peri: alrededor y odontos: diente.

1.1.2 Encía

La encía es la parte de la mucosa bucal que cubre los procesos alveolares y las porciones cervicales de los dientes⁴⁹. Esta se extiende en sentido coronal desde el margen gingival hasta la línea mucogingival.

La encía, a su vez, se divide en encía libre o marginal y adherida o insertada.⁴⁹

La encía, por lo general, es de color rosado claro, aunque puede presentar variaciones de acuerdo con factores como la edad y el color de la piel.

El ancho de la encía varía de 1 a 9 mm, siendo más ancha en la zona de los incisivos y más angosta en la de premolares, tanto superiores como inferiores, por vestibular. En la porción lingual de la mandíbula, es más angosta en el área de los incisivos y más ancha en la región de los molares⁵⁰.

El aspecto de la encía es mate u opaco y en algunos casos (40 % de los adultos) presenta, en la encía adherida, lo que se ha llamado aspecto de “cáscara de naranja” o punteado gingival.

En cuanto a la consistencia, la encía debe ser firme y resiliente, debe estar unida a los tejidos subyacentes, a excepción del margen gingival, que aunque se separa fácilmente del diente por medio de una sonda periodontal, está adosado al mismo.

El margen gingival es festoneado puesto que sigue la línea amelocementaria de los dientes, con un bisel en forma de filo de cuchillo.

Entre el diente y la encía se forma una pequeña invaginación llamada surco gingival que, en el paciente sano, no debe exceder los 2 a 3 mm y cuando se introduce en éste una sonda periodontal, no debe sangrar.

1.1.3 Ligamento periodontal

El ligamento periodontal tiene su origen en las fibras del saco dental y es el mecanismo de unión con el diente, específicamente une el cemento radicular y el hueso alveolar⁴⁸. Es un tejido conectivo laxo, altamente vascular y celular, donde predomina el fibroblasto, célula especializada que secreta tanto fibra colágena como sustancia intercelular del tejido conectivo⁵¹.

El ligamento periodontal tiene un ancho aproximado de 0,25 mm. Su presencia hace posible la distribución y absorción de fuerzas desencadenadas durante la función dentro del proceso alveolar. También es esencial para la movilidad fisiológica de los dientes, la cual está determinada en gran parte por el ancho, altura y calidad de este ligamento⁴⁹.

Los haces de fibras colágenas que forman el ligamento periodontal se clasifican en:

- Fibras de la cresta alveolar.
- Fibras horizontales.
- Fibras oblicuas.
- Fibras apicales.
- Fibras interradiculares^{48, 49}.

Las fibras colágenas que constituyen el ligamento periodontal y que presentan anclaje dentro de la superficie del hueso alveolar en uno de sus extremos, y en el cemento radicular en el otro, reciben el nombre de fibras de Sharpey. Algunas de las fibras de Sharpey se calcifican totalmente con la edad, pero la mayoría tienen la periferia calcificada y la parte central virgen⁴⁸.

El ligamento periodontal, que tiene una de las más altas tasas de recambio del organismo, contiene vasos sanguíneos y linfáticos, nervios y células, dentro de las cuales están los cementoblastos, fibroblastos, miofibroblastos, osteoblastos, osteoclastos, células endoteliales, células epiteliales y nerviosas y las células progenitoras; estas últimas en una población minoritaria. Las células progenitoras se encuentran fundamentalmente alrededor de los vasos sanguíneos y presentan las clásicas características de células madre: pequeño tamaño, capacidad de respuesta a la estimulación con factores de crecimiento y un corto ciclo celular⁵².

Recientemente, se identificó una población de células madre perteneciente al linaje de células madre mesenquimales, capaz de diferenciarse en cementoblastos, adipocitos y tejido conectivo rico en colágeno I^{53, 54}. Estas, llamadas células madre del ligamento periodontal, presentan marcadores de superficie y potencialidad de diferenciación similares a las células madre estromales de médula ósea y las células madre de la pulpa dental⁵⁵. Son,

además, las responsables de la homeostasia tisular sirviendo como una fuente renovable de células progenitoras de cementoblastos, osteoblastos y fibroblastos a lo largo de su vida adulta⁵⁶. La presencia de estas células en el ligamento periodontal ha suscitado el interés en el uso de células madre para tratar los daños causados por traumatismos o por la enfermedad periodontal³⁰. Las células, fibras y vasos del ligamento periodontal se encuentran suspendidos en una matriz extracelular llamada sustancia fundamental. Esta es sintetizada por los fibroblastos y está compuesta por proteínas colágenas (diversos tipos de colágeno) y no colágenas, como glicoproteínas (fibronectina, laminina, tenasina y otras), conocidas también como proteínas de unión.

Otros componentes importantes de la matriz, importantes en su función de amortiguación y soporte de fuerzas masticatorias, son los proteoglicanos y glicosaminoglicanos (condroitín sulfato, dermatán sulfato, heparán sulfato, entre otros).

1.1.4 Cemento radicular

El cemento radicular es un tejido calcificado especializado que recubre las superficies radiculares de los dientes. Este corresponde a otro elemento de anclaje del ligamento periodontal puesto que da inserción radicular a las fibras del ligamento (fibras de Sharpey) y participa en el proceso de reparación tras las lesiones de la superficie radicular.

El cemento tiene un espesor de 20 a 50 μm en el tercio coronal y de 150 a 250 μm en el tercio apical⁴⁸. No contiene vasos sanguíneos ni linfáticos. No tiene inervación y no sufre reabsorción, si remodelado fisiológico. Se caracteriza por su deposición continua a lo largo de la vida⁴⁹.

El cemento radicular se divide en cemento celular y cemento acelular.

1.1.4.1 Cemento acelular

Cubre la porción coronal radicular, aunque a veces puede extenderse apicalmente. No contiene células y está formado por fibrillas colágenas densamente organizadas y además contiene más calcio que el cemento celular. La matriz orgánica del cemento se forma por dos componentes: uno colagenoso y otro interfibrilar, con apariencia de gránulos finos. La fase mineralizada del cemento consiste en cristales de hidroxiapatita⁵⁰.

1.1.4.2 Cemento celular

Se forma después de la erupción dental y en respuesta a demandas funcionales. Su disposición es menos uniforme que la del cemento acelular y contiene células. Su espesor varía de uno a varios milímetros y aumenta con la edad.

Los componentes orgánicos del cemento celular son similares a los del cemento acelular. Tanto el cemento celular como el acelular son producidos por cementoblastos, algunos de los cuales quedan incorporados en el cementoide que luego se calcifica para formar cemento. Las células que quedan embebidas en el cemento se llaman cementocitos⁵⁰.

1.1.5 Hueso alveolar

El hueso es un tejido de origen mesodérmico a partir de las células mesenquimales de la cresta neural. Está formado por láminas dispuestas en capas paralelas siguiendo el eje corono-apical. Está compuesto por matriz orgánica y materia inorgánica. El componente orgánico está constituido por una red de osteocitos y sustancia extracelular, en tanto que gran parte de la inorgánica está compuesta por calcio, fósforo y carbonato en forma de cristales de hidroxiapatita.

El proceso alveolar es aquella parte del maxilar donde se encuentran los alvéolos que alojan los dientes, se forma con el desarrollo y la erupción de los dientes y se reabsorbe gradualmente ante la pérdida dental⁵⁷.

El término hueso alveolar ha sido utilizado para referirse al hueso cortical compacto que recubre internamente el alvéolo dental, y se continúa con las corticales externas vestibulares y palatinas o linguales del hueso maxilar/mandibular. El término hueso de soporte se ha empleado para definir el resto de hueso que contiene los dientes⁵⁸.

El hueso alveolar exhibe una capacidad de remodelación rápida a la estimulación mecánica. Esta capacidad característica lo distingue de otros tipos de hueso y permite una continua acomodación de los movimientos dentales durante la masticación⁵⁹.

El proceso alveolar está compuesto por el hueso alveolar y el hueso de soporte. El resto del hueso maxilar que sostiene el proceso alveolar, y que está ubicado apicalmente a este, se denomina hueso basal⁵⁸.

El hueso alveolar, que constituye la pared del alvéolo, corresponde a la lámina dura y la porción más coronal de esta corresponde a la cresta ósea, la cual se encuentra de 1,88 a 2,81 mm, en promedio, de la línea amelocementaria. La lámina dura puede no observarse a nivel radiográfico, dependiendo de la angulación con que penetren los rayos.

Desde el punto de vista de la capacidad regenerativa que tienen los tejidos periodontales, y a modo de conclusión, el cemento, el ligamento periodontal y el hueso alveolar, todos formados a partir de la cresta neural y derivados del ectomesénquima dental; presentan un cierto grado de capacidad regenerativa por la presencia de células madre/progenitoras en su estructura histológica⁶⁰.

1.2 Etiología y patogenia de la periodontitis crónica

En el trabajo de Escudero y cols.¹⁶, se describe un modelo etiopatogénico: la flora microbiana, al adquirir propiedades etiopatogénicas, permite al huésped ser capaz de frenar el proceso a través de la inflamación aguda, donde la primera línea de defensa, leucocitos (fundamentalmente neutrófilos), y la liberación de diversos tipos de citoquinas y mediadores proinflamatorios por estos, confina la lesión a una gingivitis. Si el proceso inflamatorio se perpetúa en el tiempo por una inadecuada respuesta primaria, se daría lugar a la activación de la segunda línea de defensa del huésped, mediante el eje linfocito-monocito⁶¹. Todos estos factores producen destrucción de los tejidos, pérdida ósea y formación de bolsas periodontales, convirtiéndose así en un proceso irreversible, periodontitis, que se detendrá cuando la flora patógena se modifique en flora normal y la relación de equilibrio se establezca de nuevo⁶².

La periodontitis es un desequilibrio crónico de la integridad de los tejidos de soporte del diente. La presencia y progresión de la periodontitis crónica está asociada con la presencia de ciertos microorganismos, residentes en el surco gingival, como: *Tannerella forsythia*, *Treponema denticola*, *Campylobacter rectus*, *Micromonas micros*, *Streptococcus intermedius*, *Eubacterium nodatum*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* y *Porphyromonas gingivalis*^{63, 64}.

P. gingivalis, es considerado el principal agente etiológico de la periodontitis crónica⁶⁵. Es una bacteria anaeróbica Gram negativa que posee un número de factores de virulencia, entre los que se encuentran los lipopolisacáridos (LPS). Los LPS actúan como potentes estímulos en una variedad de células del hospedero, las cuales responden mediante la expresión de citoquinas

inflamatorias que dirigen el desarrollo y progresión de la respuesta inmunitaria relacionada con el hospedero en la enfermedad periodontal⁶⁶.

Se ha demostrado a través del estudio de Ebersole y Taubman⁶⁷, que los individuos con periodontitis crónica tienen niveles elevados de anticuerpos séricos frente a agentes bacterianos específicos, por lo tanto el huésped desarrolla una respuesta inmunológica contra las bacterias periodontales. Demostrando una posible asociación entre esa respuesta y la naturaleza de la periodontitis.

En los estudios de Trombelli y cols.⁶⁸, se valora la diferencia de respuestas que pueden tener diversos individuos al ataque bacteriano; planteando la posibilidad de que haya individuos con alta respuesta e individuos con baja respuesta, por lo que la aparición del cuadro sería el resultado de la capacidad de defensa de cada paciente. Dicha capacidad se verá también afectada por otros factores, tanto genéticos como ambientales.

Existen numerosos estudios que demuestran que la red de citoquinas juega un importante papel en la iniciación y progresión de la enfermedad periodontal. La Interleuquina (IL)-8 es una quimoquina producida por varios tejidos y es un potente inductor de la quimiotaxis y la activación de los neutrófilos, eslabones importantes en la primera línea de defensa⁶⁹. Hajishengallis y cols.⁷⁰, demostraron que fibroblastos gingivales expresan ARNm de IL-8 cuando se estimulaban con LPS de *P. gingivalis*. Por otro lado, la IL-10 es una citoquina antiinflamatoria que juega un mejor papel en la supresión de la respuesta inmunitaria e inflamatoria. La IL-10 contribuye a la protección de muchos tejidos mediante la inhibición de los sistemas de metaloproteasas matriciales, MMPs (del inglés, matrix metalloproteinases), y el activador del receptor del factor

nuclear-kB, RANK (del inglés, receptor activator for nuclear factor-kappa B), los cuales dirigen, junto al ligando de RANK (RANKL) y el factor estimulador de colonias de macrófagos, MCSF (del inglés, macrophage colony stimulating factor), la diferenciación y activación de osteoclastos. Se dice que la IL-10 media el control de la progresión de la enfermedad periodontal. En los tejidos gingivales inflamados, la IL-10 potencia la respuesta autoinmune local, que se caracteriza por el incremento del número de células secretoras de anticolágeno. La pérdida ósea, signo característico de las periodontitis, parece ser provocada por eventos, como respuesta del hospedero, que involucran al RANK, el RANKL y la osteoprotegerina (OPG). La inflamación periodontal crónica pudiera inducir el incremento de la proporción RANKL / OPG, la cual estimula la maduración de osteoclastos a partir de sus células precursoras^{60, 71}.

Curiosamente, la mayoría de las células expresan miembros de la familia del receptor del factor transformante beta, TGF- β (del inglés, transforming growth factor beta). El TGF- β es una citoquina ubicua y altamente conservada a la que se atribuyen las funciones siguientes: induce mitogénesis en pre-osteoblastos, estimula la secreción de matriz osteoide en osteoblastos, inhibe a los osteoclastos y estimula la diferenciación fibroblástica y la reparación⁷². Durante la progresión de la inflamación periodontal, fibroblastos del ligamento periodontal y fibroblastos gingivales secretan altos niveles de citoquinas y quimoquinas. En estudios anteriores se comprobó que estas células responden de manera desigual en presencia del LPS de *P. gingivalis* con la producción de la proteína inflamatoria macrofágica-1 α , factor-1 derivado del estroma e IL-6⁷³. En estudios anteriores se vio que la presencia de IL-6, además de TGF- β , desvía el compromiso hacia Th1 y Th2 de una población discreta de linfocitos T

colaboradores CD4⁺ que se conocen como linfocitos T colaboradores tipo 17 (Th17)⁷⁴. Las células Th17 se consideran un linaje de linfocitos T colaboradores independientes con la potencialidad de inducir inflamación tisular y son los encargados de eliminar ciertos patógenos, principalmente hongos y micobacterias que no lograron ser eliminados tras una respuesta celular Th1 y Th2. Una citoquina importante para el desarrollo de las células Th17, es el TGF- β , que comparte la vía de producción de las células T reguladoras (Treg), así en presencia de citoquinas proinflamatorias se desarrollarán células Th17, mientras que en ausencia de citoquinas proinflamatorias se dará origen a células Treg. Las células Th17 tienen un tropismo por el intestino delgado y el tejido linfoide asociado a éste. Son esenciales para mantener la integridad de la mucosa gastrointestinal; sin embargo, la presencia constante de IL-23 perpetúa la producción de células Th17 provocando que éstas adquieran un fenotipo patológico y ocupen un lugar en la patogenia de ciertas enfermedades autoinmunes⁷⁵.

Curiosamente, dos citoquinas (TGF- β e IL-6) con efectos opuestos cooperan en la inducción de la diferenciación de células Th17. Estas células y la expresión, por su parte, de IL-17 son evidentes en el hueso alveolar durante la inflamación crónica que caracteriza a la enfermedad periodontal⁷⁶.

1.2.1 Respuesta destructiva del hospedero desde la perspectiva del tejido dañado

Al examinar las vías moleculares relacionadas con la destrucción de tejido periodontal, es importante resaltar el papel de las proteasas que se encuentran en la matriz extracelular. Entre estas, las MMPs han sido especialmente relacionadas con el remodelado de los tejidos periodontales. Las MMPs son

una familia de proteasas dependientes de metales como zinc y calcio, que se encuentran usualmente en un balance apropiado con un grupo de proteínas endógenas llamadas inhibidores tisulares de metaloproteasas, TIMPs (del inglés, tissue inhibitors of metalloproteinases). De hecho, las MMPs y los TIMPs son expresadas con regularidad en los tejidos periodontales sanos. Sin embargo, las proporciones MMPs / TIMPs desequilibradas se describen en tejidos periodontales afectados, donde existe destrucción de los tejidos blandos y mineralizados, característica directamente relacionada a la enfermedad periodontal. Como consecuencia, la desregulación del sistema MMP / TIMP (bajos niveles de TIMPs o altos niveles de MMPs) está relacionada con la patogénesis de las enfermedades osteolíticas⁷⁷.

Por otra parte, la integridad del tejido óseo depende del mantenimiento de un delicado equilibrio entre la resorción ósea por los osteoclastos y la formación ósea por los osteoblastos. Este equilibrio permite la homeostasia ósea, incluyendo el mantenimiento de la integridad estructural y el metabolismo del calcio⁷⁸. El mecanismo regulador de la actividad osteoclástica es dirigido por el RANK, su ligando (RANKL) y su contraparte soluble, la OPG⁷⁹.

El RANKL es un miembro de la familia del factor de necrosis tumoral, TNF (del inglés, tumor necrosis factor). Es producido por células del linaje osteoblástico y células T activadas. El RANKL y el MCSF son moléculas necesarias para la activación de la transcripción de genes que promueven la diferenciación osteoclástica. El MCSF y el RANKL tienen actividades complementarias: el MCSF incrementa el "pool" de precursores de osteoclastos, mientras que el RANKL se une a su receptor (RANK) expresado en precursores de osteoclastos y osteoclastos maduros, incrementa la diferenciación osteoclástica

y promueve su activación mientras inhibe su apoptosis. El RANK es también un receptor de la familia del TNF. Es esencial para la transducción de la señal de RANKL, (Fig. 1)⁸⁰.

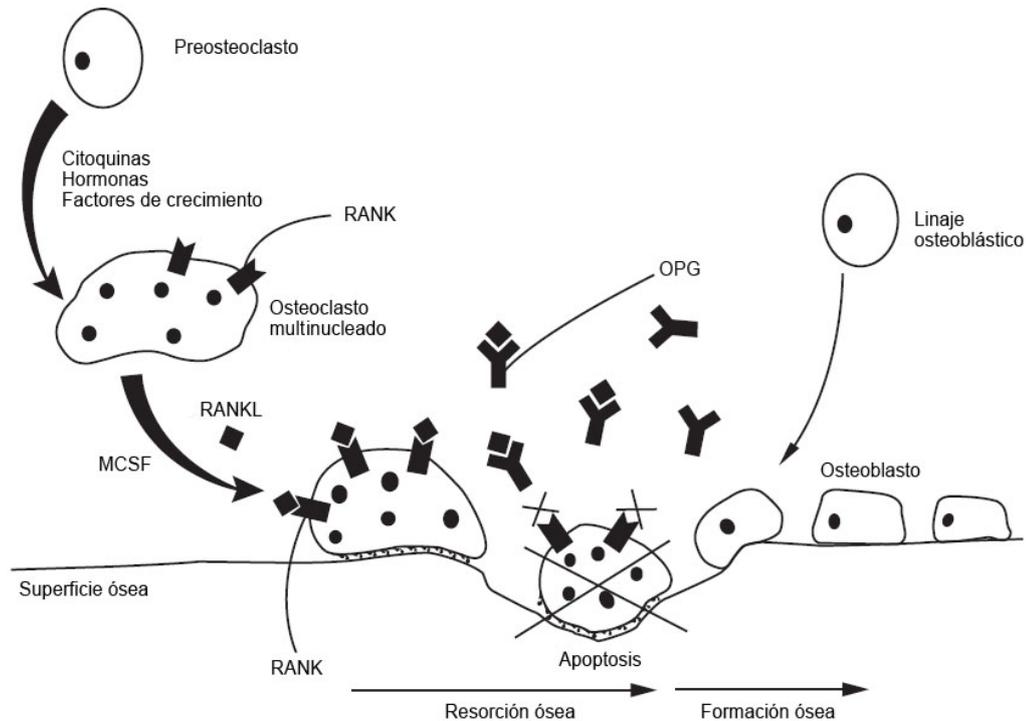


Figura 1. Vía RANKL – RANK – OPG. Tomado de Trouvin y cols.⁸⁰.

La OPG es un miembro atípico de la familia del receptor de TNF porque es una proteína soluble (secretada) sin dominio transmembrana. Esta contiene 4 dominios homólogos para la unión de RANKL. Esta proteína puede ser secretada por una variedad de tejidos, incluyendo osteoblastos, células endoteliales, músculo liso vascular y células linfoides y actúa como un receptor señuelo que inhibe la unión RANKL-RANK⁸¹.

Es importante resaltar la esencialidad del equilibrio entre la expresión del RANKL y la OPG en la actividad osteoclástica global. Cochran⁷⁸, reporta un incremento en la expresión de RANKL en tejidos periodontales dañados. Los patrones de expresión RANKL / OPG están asociados con la severidad clínica

de la enfermedad periodontal. La relación RANKL / OPG es variable entre las lesiones periodontales inactivas (p. e. gingivitis crónica) y activas (p. ej. periodontitis crónica) y difiere significativamente entre las formas clínicas de periodontitis (p. ej. entre periodontitis agresiva y periodontitis crónica). Los análisis de datos experimentales soportan los resultados de estudios en humanos, donde el balance RANKL / OPG se asoció con el grado de pérdida ósea y la progresión de la enfermedad. En consecuencia, el bloqueo del RANKL por la OPG conlleva a la reducción de la pérdida de hueso alveolar en modelos murinos de enfermedad periodontal⁸².

Por último, hay que tener en cuenta que la mayoría de las células parenquimatosas expresan receptores de la IL-17 y la transducción de señales a través de estos receptores induce la producción de factores proinflamatorios como IL-6, IL-1, TNF- α , CXCL8 (IL-8) y MMPs. En el hueso, la IL-17 estimula la producción del RANKL por los osteoblastos. Por tanto, estos, pueden activar los osteoclastos, que expresan el RANK en la superficie de la membrana celular, hecho que apoya la pérdida ósea en las enfermedades osteolíticas. Esto evidencia que a través del sistema RANKL-RANK, la IL-17 puede jugar un papel determinante en la iniciación y progresión de afecciones como la enfermedad periodontal⁸³.

Está claro que la patogenia de la enfermedad periodontal es un proceso complejo no totalmente esclarecido en el que interactúan numerosos factores modificadores de la enfermedad en los diferentes individuos: factores genéticos, factores ambientales y de efecto sistémico como, tabaquismo, diabetes mellitus, estrés, etc. Sin embargo, se sabe que las defensas inmunológicas del hospedero y la presencia de ciertos elementos de las bacterias del área

subgingival, condicionados por los llamados factores de riesgo, son los responsables del inicio y evolución de la misma⁸⁴.

1.3 Tratamiento

El periodonto es un complejo inusual formado por dos tejidos duros (cemento y hueso) y dos tejidos blandos (encía y ligamento periodontal). Este, una vez dañado, tiene una capacidad limitada para la regeneración. Durante el movimiento dentario ortodóncico se puede observar nueva formación de cemento, del ligamento periodontal y la nueva formación de hueso. Durante la fase temprana de la enfermedad periodontal es posible una regeneración menor del periodonto. Sin embargo, una vez que la periodontitis ha sido establecida solamente la intervención terapéutica tiene el potencial de inducir regeneración⁸⁵.

La periodontitis es una enfermedad inflamatoria crónica que resulta en la destrucción progresiva de los tejidos de soporte del diente (el periodonto), específicamente el ligamento periodontal y el hueso alveolar², que si no se trata a tiempo puede conllevar a la pérdida dentaria⁸⁶. Este proceso inflamatorio destructivo en realidad es consecuencia de una interacción no adecuada entre la microflora bucal y los mecanismos defensivos del huésped.

Son muy comunes, aunque poco efectivos, en la terapia para la reconstrucción del hueso alveolar, la reparación tisular guiada, los acondicionadores de la superficie radicular, los sustitutos de hueso y los injertos autólogos de hueso. Estas técnicas resultan en una reparación parcial, como máximo, porque son clínicamente impredecibles y no proveen las células y el microambiente que es capaz de iniciar y promover la formación de nuevo tejido periodontal⁸⁷.

1.3.1 Tratamiento convencional

El objetivo final del tratamiento periodontal buscará mantener los dientes en una situación de salud, función y confort relativo, al mismo tiempo que debe mantener las expectativas estéticas del paciente^{88, 89}. Para lograr este objetivo global se necesita de una estrategia terapéutica periodontal planificada en varias etapas:

1. Etapa 1, tratamiento inicial: consiste en el control de la causa de la enfermedad y su objetivo es detener el proceso de destrucción tisular. Mediante el control de la placa bacteriana y de la flora potencialmente periodontopatógena, busca modular la respuesta inmunoinflamatoria. Los procedimientos incluyen la instrucción del paciente en hábitos de higiene bucal, la eliminación del cálculo dental (supragingival y subgingival), y la modificación de aquellos factores locales que favorecen el acúmulo de microorganismos.
2. Etapa 2, correctiva: se plantea corregir las secuelas que ha provocado la enfermedad mediante procedimientos quirúrgicos y no quirúrgicos. Se centra en el tratamiento de la bolsa periodontal y de los problemas mucogingivales.

La finalidad del tratamiento de la bolsa periodontal consiste en cerrar este espacio mediante la regeneración de los tejidos perdidos por la enfermedad, pero, generalmente lo que se logra es la reparación de los mismos⁹⁰.
3. Etapa 3, de mantenimiento o tratamiento periodontal de soporte: tiene como objetivo evitar la recurrencia de la enfermedad.

Resumiendo, el tratamiento en pacientes con periodontitis crónica se realiza fundamentalmente mediante terapia mecánica, consistente en técnicas de

raspaje y alisado radicular con o sin abordaje quirúrgico, las cuales han mostrado efectividad en múltiples estudios en términos de mejoría de los parámetros clínicos y microbiológicos. Los parámetros para evaluar la respuesta clínica al tratamiento están relacionados con la eliminación del sangrado al sondaje, reducción de la inflamación gingival, la profundidad de las bolsas y la movilidad dentaria y ganancia de inserción clínica y los microbiológicos con reducción significativa de la mayoría de los patógenos periodontales a corto y largo plazo^{91, 92}. Algunas investigaciones han argumentado que no todos los pacientes, ni los sitios del diente responden uniforme y favorablemente a la terapia mecánica convencional y por ello se ha propuesto como tratamiento coadyuvante la utilización de antibióticos, debido a la naturaleza infecciosa de la enfermedad periodontal^{4, 46, 47}.

1.3.2 Medicina regenerativa

En los últimos años se ha producido un notable avance en la rama de la medicina denominada medicina regenerativa, cuyo objetivo es estimular o regenerar células, tejidos u órganos con la finalidad de restaurar o establecer una función normal^{93, 94}.

Es un campo interdisciplinario emergente de investigación y aplicaciones clínicas centrado en la reparación, reemplazo o regeneración de células, tejidos u órganos para restaurar una función dañada por cualquier causa, incluyendo defectos congénitos, trauma y envejecimiento. Ella utiliza una combinación de varios procedimientos tecnológicos que van más allá del trasplante tradicional y las terapias sustitutivas. Estos procedimientos pueden incluir, aunque no están limitados a ellos, el uso de moléculas solubles, terapia génica, ingeniería de

tejidos, trasplante de células madre y terapia celular avanzada como la reprogramación celular⁹³⁻⁹⁵.

Hablamos de reparación de un tejido cuando hay restauración de dicho tejido sin que este conserve su arquitectura original ni tampoco su función. Cuando dicho tejido no recupera su estado original, se produce una cicatrización. Por otra parte, se entiende por regeneración cuando la restauración de dicho tejido posee propiedades indistinguibles del tejido original. El problema con el tejido de cicatrización (reparación) es que no recupera todas las propiedades mecánicas ni la función fisiológica del tejido u órgano original que ha sido dañado, por lo que el interés de la medicina regenerativa radica en regenerar, reconstruir la forma y restaurar la función⁹⁶.

La regeneración periodontal se define como la reproducción o reconstrucción de una parte, perdida o dañada, del periodonto con el objetivo de recuperar la función y la forma de las estructuras comprometidas. Aunque la regeneración de los tejidos periodontales depende de cuatro componentes básicos: señales químicas apropiadas, células, suministro sanguíneo y matriz de soporte⁹⁷, se han obtenido buenos resultados, dependiendo de la necesidad, mediante la inyección directa de células, o de moléculas de señalización, en el sitio del defecto cuando el tejido dañado está confinado a una pequeña región⁹⁸.

Regenerar, en otras palabras, es volver al gen, retomar los principios del génesis o recordar a la primera generación que se desarrolla a partir de uno o varios genes para que célula a célula expresen una gran variedad de señales moleculares y factores de crecimiento mitogénicos (PDGF o FGF-2) que expanden la población celular y factores de crecimiento morfogenéticos como las proteínas morfogenéticas óseas, BMP (del inglés, bone morphogenetic

protein), que derivan a poblaciones celulares con potencial génico para la angiogénesis, osteogénesis, fibrogénesis y cementogénesis⁹⁹.

Cualquiera sea el procedimiento regenerativo utilizado, este debe favorecer el reclutamiento de células progenitoras al sitio dañado, las cuales puedan diferenciarse en fibroblastos (células formadoras de ligamento periodontal), cementoblastos (células mineralizantes) y osteoblastos (células formadoras de hueso)⁹⁸.

Aunque inicialmente algunos autores consideraron equivalentes los términos medicina regenerativa e ingeniería de tejidos, esta situación se ha ido esclareciendo y aceptando que la ingeniería de tejidos, tanto la efectuada *in vivo* como *in vitro*, no es más que uno de los procedimientos sobre los que se basa la medicina regenerativa.

La ingeniería de tejidos se define como el uso de los principios y métodos de la ingeniería, la biología y la bioquímica orientados a la comprensión de la estructura y la función de los tejidos normales y patológicos de los mamíferos, y el consecuente desarrollo de sustitutos biológicos para restaurar, mantener o mejorar su función¹⁰⁰.

El reto de la ingeniería del tejido óseo es diseñar matrices tridimensionales capaces de imitar las propiedades naturales del hueso, que proporcionan una ayuda temporal para la regeneración del tejido, y balancear la degradación y la pérdida de las propiedades mecánicas con el crecimiento y la formación del hueso. Si se optimizan estos aspectos, podríamos esperar que las alternativas sintéticas simulen de manera precisa las propiedades del hueso natural.

El uso de matrices con las cuales se puedan controlar las funciones de las células osteoblásticas se encuentra todavía en sus primeras etapas; se espera

que la expansión de este campo permita desarrollar nuevas terapias y tecnologías para la reparación y regeneración del tejido óseo¹⁰⁰.

Por otro lado, el desarrollo alcanzado por la ingeniería genética y la biotecnología ha permitido obtener diferentes moléculas eficaces en la regeneración de algunos tejidos: los factores de crecimiento⁹⁴. Estos son glicoproteínas que pueden actuar local o sistémicamente para afectar el crecimiento y la función celular de varias maneras. La aplicación de factores de crecimiento para restaurar tejidos ayuda a la regeneración a través de procesos biomiméticos o imitando los procesos que ocurren durante el desarrollo embrionario y posnatal; tienen actividad mitogénica, de diferenciación y quimiotáctica¹⁰¹.

Negativamente, no ha existido concordancia de los prometedores resultados obtenidos en los modelos animales con los negativos observados en los seres humanos, lo que conllevó a la consideración del tratamiento con proteínas como poco eficiente⁹⁸.

Todo esto ha hecho que esta forma de tratamiento haya pasado a un nivel secundario en relación con otros tratamientos más prometedores. Se ha comentado que gran parte de las enfermedades que podrían beneficiarse con la aplicación de la medicina regenerativa, se deben a trastornos en que interactúan diferentes factores celulares y no a la falta de una sola proteína.

Ante esta situación, se ha planteado que la terapia celular regenerativa puede ser una estrategia integral más lógica y eficaz, pues sería capaz de aportar no solo células madre, sino también diversas moléculas activadoras y reguladoras producidas o inducidas por ellas, con capacidad para favorecer la diferenciación de las células implantadas y también la estimación de las células

propias del tejido receptor, lo que contribuiría a una regeneración más fisiológica del tejido dañado¹⁰².

No obstante, Park y cols.⁹⁵, no excluyen la posibilidad de combinar la terapia celular con factores regenerativos específicos, o con el aporte de factores plaquetarios, lo que podría potenciar la regeneración de los tejidos afectados.

1.4 Células madre

La destrucción del ligamento periodontal y de la cresta alveolar, causada por la enfermedad periodontal, constituye la principal causa de pérdida dentaria en pacientes adultos⁸⁹. Ésta afecta la funcionalidad y la estética del paciente. Las técnicas para la regeneración del hueso perdido, no siempre son exitosas y en ocasiones resultan muy costosas. Desde hace algunos años se está trabajando en la regeneración de tejidos, entre ellos del óseo, mediante la implantación de células madre. El periodonto podría considerarse un objetivo para ello.

Desde el punto de vista de su capacidad reproductiva y funcional, las células madre se han definido como células inmaduras que pueden dividirse de manera asimétrica para mantener simultáneamente, por un lado, su autorrenovación, con producción de más células madre semejantes a ella mediante divisiones mitóticas⁵³ y, por otro lado, su plasticidad, la generación de células hijas comprometidas con diferentes linajes celulares que se diferencian en diversos tipos de células especializadas. La “decisión” de autorrenovarse o diferenciarse es regulada en múltiples niveles, incluyendo programas de transcripción intrínsecos de la célula y señales extracelulares provenientes de un nicho especializado⁹⁴. Además, se ha añadido su capacidad de implantación persistente tanto en tejidos dañados como en sanos, (Fig. 2)^{102, 103}.

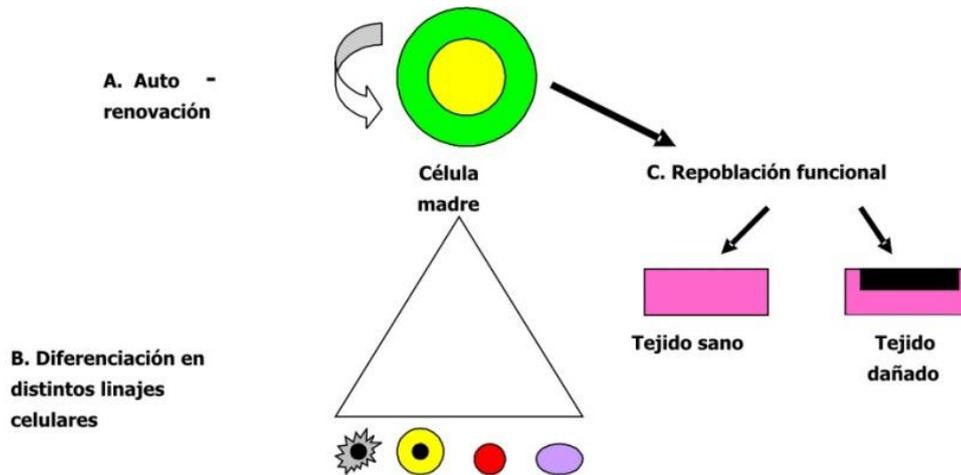


Figura 2. Propiedades de las células madre. Tomado de Hernández y cols.¹⁰³.

Según su estado evolutivo, las células madre pueden clasificarse en 2 tipos principales: las embrionarias y las adultas¹⁰⁴. A pesar de que las células madre embrionarias (CME) de ratón se venían estudiando desde el inicio de los años 80 del siglo pasado, no fue hasta 1998 que se obtuvieron las primeras CME de procedencia humana, lo que abrió un nuevo campo de investigación y posibilidades de aplicación práctica, teniendo en cuenta la potencialidad de estas células para convertirse en células de diferentes tipos. Si bien lo anterior representa un gran avance en el campo de la medicina utilizando las células madre, su origen sea embrionario o de tejido fetal, ha generado una gran controversia en el campo de lo ético y lo legal¹⁰⁵.

Todo esto ha llevado a una intensa confrontación científica entre los que apoyan la utilización de células embrionarias y los que defienden las ventajas de las células madre adultas. En este sentido, se han obtenido importantes avances en el estudio y aplicación de las células madre adultas, ya que ellas muestran notables ventajas sobre las embrionarias, pues su manipulación resulta más simple, pueden ser autólogas y, por lo tanto, no ocasionan

trastornos inmunológicos, no presentan limitantes éticas ni legales, ni tampoco se ha comprobado que produzcan neoplasias, lo que contrasta positivamente con las características de las células embrionarias, cuya obtención y expansión son más complejas, tienen potencial inmunogénico por ser alogénicas, enfrentan problemas éticos y legales, y además, producen un alto porcentaje de tumores en los animales de experimentación¹⁰².

Tomando en consideración su potencialidad de diferenciación, las células madre se han estratificado en totipotentes, pluripotentes y multipotentes. Esta potencialidad representa en determinadas condiciones la capacidad y posibilidad de diferenciación celular dependientes de su estado de desarrollo.

Las células madre totipotentes son aquellas que en las condiciones apropiadas son capaces de formar un individuo completo, pues pueden producir tejido embrionario y extraembrionario. Así, en el ciclo evolutivo posfecundación, el cigoto u óvulo fertilizado se considera una célula totipotente capaz de dar origen a todo el organismo. Igual sucede con la etapa siguiente de mórula, en que todas las células son totipotentes.

Las células madre pluripotentes son las que tienen la habilidad, en teoría, de diferenciarse a tejidos procedentes de cualquiera de las 3 capas embrionarias; aunque estas células por sí solas no pueden producir un individuo, ya que necesitan el trofoblasto, sí originan todos los tipos de células y tejidos del organismo. En esta categoría estarían las células provenientes de la masa celular interna del blastocisto, las células madre germinales y las procedentes de tumores de células germinales. Estas células pluripotentes poseen varias características en común, entre ellas, algunos marcadores moleculares como la isoenzima de la fosfatasa alcalina, un dominio del factor de transcripción Oct4,

alta actividad de la telomerasa¹⁰⁶, y varios marcadores de membrana reconocidos por anticuerpos monoclonales¹⁰⁷.

La función de algunos de estos marcadores sigue siendo desconocida, sin embargo se ha reconocido que el factor Oct4 tiene un papel determinante en el establecimiento y mantenimiento del estado pluripotencial, es decir indiferenciado y capaz de generar diferentes tipos celulares.

La capacidad de las células madre para expresar la telomerasa se correlaciona con la expectativa de vida de un linaje. La telomerasa es una ribonucleoproteína que adiciona repeticiones teloméricas a los extremos de los cromosomas. Las células diploides humanas no expresan la telomerasa en su fenotipo, por lo que su expectativa de vida se ve acortada¹⁰⁸.

Se ha comprobado que en cultivo, las células diferenciadas de un tumor de células germinales mantenía la capacidad pluripotencial¹⁰⁹.

En la categoría siguiente estarían las células madre multipotentes, que se definen como aquellas que tienen la capacidad de generar los distintos tipos de células que componen el tejido al que pertenecen o residen.

Entre las principales células madre con potencialidad terapéutica se han señalado las embrionarias, las fetales, las amnióticas, las de la sangre del cordón umbilical, las adultas y más recientemente, las células con características embrionarias que se han obtenido mediante la reprogramación, por trasplante de genes, de células adultas y que se han llamado células madre pluripotentes inducidas^{95, 110, 111}. Así, se ha sugerido que la modificación genética de las células madre, o de las progenitoras, puede representar un importante paso estratégico en la medicina regenerativa. La modificación genética podría mejorar algunas características de las células tales como su

supervivencia, propiedades metabólicas, capacidad proliferativa y de diferenciación¹¹². Este éxito abre nuevas y prometedoras posibilidades en el campo de la medicina regenerativa.

Se ha encontrado en las células madre adultas la potencialidad regenerativa en el tratamiento de enfermedades como la isquemia cardiaca y la pérdida ósea y dentaria⁵³.

En los últimos años, se ha hecho evidente que la potencialidad de algunos tipos de células madre adultas es mayor que la que habitualmente se le confería, pues se evidenció que podían diferenciarse en tejidos derivados de cualquiera de las capas embrionarias, señalándose como el caso más típico el de las células madre hematopoyéticas (CMH). Este fenómeno ha sido calificado como versatilidad de las células madre adultas, tomando en cuenta la flexibilidad que tienen algunas de ellas para formar células especializadas de otros linajes. En este sentido se asemejarían a las CME^{94, 103}.

Se ha señalado que las CMH fueron descritas por primera vez en el año 1908 por el histólogo ruso Alexander Maksimov durante un congreso de hematología en Berlín¹¹⁰. Desde hace más de 50 años, se han estado utilizando clínicamente las células madre hematopoyéticas provenientes de la médula ósea, y más recientemente las movilizadas a la sangre periférica hígado y timo, o las obtenidas de la sangre del cordón umbilical, para el tratamiento de leucemias, linfomas y otros tipos de enfermedades, mediante el trasplante convencional de células madre/progenitoras hematopoyéticas¹¹³.

Diferentes grupos de investigadores en este campo han encontrado resultados aceptables utilizando células madre adultas obtenidas de sangre periférica, logrando su transformación en diferentes tejidos^{114, 115}. Las CMH se encuentran

en una proporción de 1 en 10000-15000 células de la médula ósea¹¹⁶. Presentan antígenos de superficie típicos como CD11a, CD1b, CD14, CD28, CD33, CD34 y CD45. Estas pueden dar lugar a células hepáticas, nerviosas y musculares^{117, 118}. La experiencia acumulada con el uso de la CMH y su mayor facilidad de obtención, comparada con otras células madre adultas identificadas, han hecho que las investigaciones y aplicaciones con este tipo celular hayan avanzado rápidamente. Estos hechos han dado lugar a grandes expectativas en cuanto a la aplicación clínica de las células madre adultas para el tratamiento de diversas enfermedades crónicas que en la actualidad resultan incurables por los métodos existentes, como el lupus eritematoso sistémico o la esclerosis sistémica y la diabetes mellitus, con resultados esperanzadores¹¹⁹. Se conoce que la médula ósea contiene CMH y también de otros tipos¹⁰². Entre estos, se encuentran las células madre mesenquimales, las células progenitoras endoteliales procedentes del hemangioblasto embrionario, las células progenitoras multipotentes adultas (CPMA), y las células madre de población lateral, SPSC (del inglés, side population stem cells). Sarasúa y cols.¹²⁰, agrupa todas estas bajo el nombre de células mononucleares. Recientemente se han descrito también células CXCR4+, CD34+, CD45⁻ con capacidad pluripotencial, llamadas células muy pequeñas similares a las embrionarias, VSELC (del inglés, very small embryonic-like cells)¹²¹. En el orden práctico, las células mononucleares derivadas de la médula ósea pueden verse como portadoras de un "cóctel" de diferentes células madre adultas. Todas las anteriores pueden corresponder a poblaciones similares o a poblaciones superpuestas de células madre, denominadas de manera diferente

por varios investigadores en diversas condiciones experimentales de aislamiento y expansión en cultivos¹²².

Según un reporte de Acevedo y Cortés¹¹⁷, las células madre mesenquimales, fueron inicialmente caracterizadas entre las décadas de los años 60 y 70 con los trabajos realizados por Friedenstein, quien las aisló de médula ósea y las describió como células adherentes de morfología fibroblastoide.

Las células mesenquimales, que se encuentran en una proporción de 1 en 10^4 - 10^6 células de la médula ósea, son capaces de diferenciarse a tejidos mesodérmicos funcionales, como osteoblastos, condroblastos, fibroblastos¹¹⁶, adipocitos y mioblastos; su aislamiento se basa en ciertos marcadores que han hecho posible identificarlas: SH2, SH3, CD29, CD44, CD59, CD71, CD73, CD90, CD105; CD117 (c-kit), CD146 y CD166 sin embargo, no expresan antígenos de superficie típicos de las CMH como CD34, CD45 y CD14^{123, 124}.

Kawaguchi y cols.¹²⁵, demostraron que el trasplante de células madre mesenquimales autólogas expandidas *ex vivo* puede regenerar nuevo cemento, hueso alveolar y ligamento periodontal en defectos periodontales de clase III en perros. Posteriormente, este mismo grupo, reportó un enfoque similar en humanos donde se transplantaron 2×10^7 células/mL de células madre mesenquimales autólogas de médula ósea, expandidas, mezcladas con atelocolágeno en defectos óseos periodontales: todos los pacientes mostraron una mejoría significativa¹²⁶.

Un equipo encabezado por el profesor Yoichi de la Escuela de Medicina de la Universidad de Nagoya, Japón¹²⁷, reporta la aplicación de células madre mesenquimales provenientes de la médula y plasma rico en plaquetas en los defectos óseos periodontales, obteniendo reducción de la profundidad de la

bolsa, ganancia ósea y de la inserción clínica, así como desaparición del sangrado y la movilidad dentaria.

Las células madre de sangre periférica, así como las hematopoyéticas de médula ósea, son capaces de contribuir a la angiogénesis y vasculogénesis *in vivo* de tal forma que las células CD34+ no sólo contienen progenitores hematopoyéticos sino también células progenitoras endoteliales. Hoy en día se acepta que existe un progenitor común endotelial y hematopoyético conocido como hemangioblasto, concepto sustentado por los hallazgos relacionados con el potencial endotelial de las células madre¹¹⁸.

Las CPMA poseen capacidades de proliferación y diferenciación similar a las de las CME, porque presentan gran actividad de telomerasa durante el tiempo de cultivo, lo que les permite dividirse más de 120 veces sin envejecimiento aparente; incluso de manera similar a las células del embrión. Se ha detectado activación de los factores de transcripción Oct4, Nanog y Rex1, que son necesarios para mantener el estado indiferenciado y proliferativo de la célula. A diferencia de la mayoría de las células madre, las CPMA no expresan el CD34, pero sí, aunque en niveles muy bajos, Flk1, Sca1, Thy1, y en niveles elevados, marcadores como CD13, SSEA-1 (ratón/rata) y SSEA-4 (humano)¹⁰⁸.

Las SPSC observadas por primera vez en la médula ósea de ratón utilizando un nuevo método para identificar CMH, basado en el análisis por citometría de flujo de doble longitud de onda, utilizando el colorante de Hoechst que emite fluorescencia azul a 450 nm y un color rojo a 650 nm. Mediante esta técnica dual se reconoció un pequeño subgrupo de células (menos del 0,1 %) que revelaban fluorescencias roja y azul bajas. Posteriormente se demostró que estas células expresaban el Sca-1, antígeno encontrado en las CMH, pero no

se teñían con el cóctel de anticuerpos dirigidos contra otros marcadores encontrados en las CMH maduras. Esto demostró una gran actividad de repoblación hematopoyética a largo plazo en la médula ósea del ratón. Hasta el momento se sabe que estas células son capaces de diferenciarse en CMH tanto en humanos como en roedores; este es un campo poco explorado pero promisorio para diversas aplicaciones terapéuticas⁵⁹.

Las células madre derivadas de la médula ósea, con reconocida plasticidad y capacidad proliferativa, pueden circular en la sangre periférica y migrar a diferentes tejidos distantes, en los que pueden asentarse y contribuir a la regeneración de sitios dañados.

Se han realizado protocolos terapéuticos usando modelos de ratón con osteogénesis imperfecta, con mejoría en la composición del hueso al utilizar el trasplante de médula ósea como tratamiento. En los niños afectados, la sustitución de su médula por médula de donante mejora la enfermedad: aumenta la densidad ósea total, disminuyen las fracturas y el crecimiento se incrementa⁵⁹.

Ya que la regeneración periodontal es esencialmente un replanteamiento del proceso de desarrollo en el que se incluye la morfogénesis, la citodiferenciación, la producción de matriz extracelular y la mineralización; las CMH pueden llevar a cabo la homeostasia tisular como una fuente de células progenitoras renovables que generan cementoblastos, osteoblastos y fibroblastos⁵⁹.

Por otro lado, en las células madre de la médula ósea se ha identificado un receptor específico para quimiocina, el CXCR4 (del inglés, CXC-chemoquine receptor 4), que mediante un sistema de "llave/cerradura" se une con la quimiocina factor 1 derivado del estroma, SDF-1 (del inglés, stromal derived

factor 1). Este último, guía a las células madre a los sitios de daño tisular, donde su expresión es regulada. La interacción SDF-1 con CXCR4 media el tráfico de estas células al sitio afectado¹²⁸.

La identificación de este sistema ha contribuido a conocer mejor los mecanismos relacionados con la movilización, migración, quimioatracción y fijación de estas células a los tejidos. También se ha podido interpretar la forma en que actúan diferentes factores movilizadores de estas células, como son el factor estimulador de colonias de granulocitos, el factor estimulador de colonias de granulocitos y macrófagos, que actúan provocando la ruptura del complejo CXCR4/SDF-1 y liberación de las células madre de su "anclaje" tisular, y por otro lado, de los nuevos agentes movilizadores, cuya acción consiste en inhibir o "bloquear" al receptor CXCR4, lo que impide la unión ligando/receptor. Estos productos removilizadores se usan en el campo de la medicina regenerativa para facilitar la movilización de las células madre a la sangre periférica para su recolección y posterior implantación. También se han utilizado en algunas investigaciones para promover la movilización y aporte endógeno de células madre, con la finalidad de que un mayor número de células circulantes pueda dirigirse hacia algunos tejidos dañados¹⁰².

1.4.1 Aspectos moleculares de la autorrenovación y diferenciación de las células madre

Las capacidades de autorrenovación y diferenciación son propias de los diferentes tipos de células madre, según el microambiente y el tejido en que se encuentren. Diversas investigaciones han tratado de hallar la razón por la que estas células siguen uno u otro camino, pero aún quedan muchas preguntas sin resolver. Recientemente se ha podido avanzar en el entendimiento de la

biología básica de los mecanismos de autorrenovación, diferenciación y proliferación celulares, así como en dilucidar las diferentes vías de señalización que participan en estos eventos.

En términos generales los diferentes nichos pueden modificar sus propiedades reguladoras en respuesta a las necesidades particulares del tejido; sin embargo, independientemente del nicho en cuestión, hay mecanismos comunes de señalización que están mejor caracterizados en el sistema hematopoyético; pero no ha sido sencillo el estudio de los mecanismos moleculares que controlan la hematopoyesis, porque no se puede mantener a las CMH *in vitro* por largos períodos; además, se presenta la dificultad de controlar la autorrenovación frente a la diferenciación¹²⁹.

Específicamente en el proceso de autorrenovación intervienen inhibidores del ciclo celular, genes implicados en rearrreglos cromosómicos, proteínas esenciales para el desarrollo y factores específicos como el Notch 1, Shh (Sonic hedgehog), el factor de transcripción Hox B4, el inhibidor de la quinasa dependiente de la ciclina P21/waf 1, las proteínas Wnt, entre otros. Para mantener con éxito el estado indiferenciado se requiere la integración de diferentes vías de señalización intrínsecas con las señales extrínsecas emitidas desde el microambiente. La Vía Wingless (Wnt), la mejor estudiada, es una cascada de señales que dirige los eventos proliferativos y de diferenciación en el desarrollo embrionario y en el adulto. La integran un conjunto de proteínas de membrana, factores de transcripción y proteínas señalizadoras extracelulares. Los factores de transcripción propios de las células madre interactúan con los producidos por las células del nicho con el fin de encaminar a las primeras hacia la autorrenovación o la diferenciación¹³⁰.

Los estudios de los mecanismos de autorrenovación de las CMH están restringidos principalmente a la vía de la β -catenina, cuyos eventos finales son la translocación nuclear y la unión física de la β -catenina para activar el factor de transcripción TCF/LEF (del inglés, Tcell-specific transcription factor/lymphoid enhancer binding factor-1) y prevenir la diferenciación celular, colaborando así en el mantenimiento de la pluripotencialidad¹³¹.

Con el conocimiento y la comprensión de los mecanismos que regulan el estado de indiferenciación, es posible entender la biología de las células madre¹³². La vía Notch, la vía Hedgehog, y otros factores como BMI-1, P16^{Ink4a}, ARF, HOXB4, NANOG, OCT3/4 y SOX2, son ejemplos de ello¹³³⁻¹³⁷.

Al igual que las propiedades de autorrenovación, se ha estudiado ampliamente el proceso de diferenciación de las células madre en especial mediante ensayos con CMH. El proceso de diferenciación está regulado también por un conjunto de factores transcripcionales. La señalización ejercida por estos factores activa una serie de genes específicos directores de un linaje determinado. El mejor ejemplo de este mecanismo son las CMH, en las que se destacan dos categorías: la primera incluye el factor de transcripción de las células madre de leucemia (stem cell leukemia), el factor de transcripción GATA-2 y el factor-1 de transcripción de leucemia mieloide aguda (AML-1) que influyen directamente en la diferenciación de todos los linajes hematopoyéticos; la segunda comprende los reguladores del desarrollo específico de linaje como el GATA-1 (por la secuencia **guanina-adenina-timina-adenina**) y el PU-1, que guardan relación dinámica entre los genes OCT4, SOX2 y NANOG, de gran relevancia en el proceso de diferenciación de las CME. Sin embargo, la diferenciación no es exitosa si no intervienen los

factores estimuladores y las citoquinas que pueden variar dependiendo del linaje (eritroide, mieloide, linfoide, monocítico o megacariopoyético)^{138, 139}.

En conclusión, el conocimiento generado a partir del comportamiento biológico y las vías implicadas en los procesos de autorrenovación y diferenciación de las células madre, permite la apertura de un panorama alentador en la investigación básica y aplicada; así mismo, las propiedades exclusivas de estas células las hacen ver como muy promisorias en la terapia de diferentes enfermedades; sin embargo, la mayoría de los resultados obtenidos bajo condiciones experimentales *in vitro* todavía no han sido confirmados *in vivo*. Por otra parte, es importante resaltar que algunos de los mecanismos moleculares estudiados requieren mayor profundización en el campo experimental.

1.4.2 Mecanismo de acción de las células madre adultas

A pesar de todos los avances conseguidos hasta el momento en el campo de la medicina regenerativa, la aplicación clínica de las células madre adultas, principalmente de las derivadas de la médula ósea, continúa siendo el tema central y más debatido¹⁴⁰.

Aunque con su uso ya se han obtenido resultados positivos en varias enfermedades,^{95, 110} todavía no se conocen bien los mecanismos mediante los cuales las células trasplantadas podrían mejorar o promover la regeneración de los tejidos. Para tratar de explicar estos mecanismos, se han sugerido varias hipótesis basadas en evidencias existentes, que incluyen la transdiferenciación celular, la fusión de células y un efecto autocrino / paracrino secundario a la liberación por las células de diferentes moléculas solubles o citoquinas con acciones específicas. Probablemente se ejecute más de uno de estos

mecanismos¹⁰³. La transdiferenciación se define como, cambio irreversible desde un tipo de célula previamente diferenciada hacia otro tipo de célula normalmente diferenciada¹⁴¹.

Entre las citoquinas se encuentran las linfoquinas, interleuquinas y monoquinas, además de otros tipos como los interferones, factores de necrosis tumoral, factores estimulantes de colonias y diversos tipos de factores de crecimiento.

Cualquier sustancia específica que debe estar presente en un medio para que la multiplicación de las células cultivadas tenga lugar, recibe el nombre de factor de crecimiento. En realidad sus acciones son muy complejas y abarcan funciones como la quimiotaxis, el reclutamiento y la proliferación de células precursoras, su diferenciación y maduración y la regulación de su capacidad de síntesis de proteínas. Todas ellas son esenciales en procesos fisiológicos como el desarrollo embrionario, fetal y posnatal y, en otros patológicos, como la reparación y regeneración de los tejidos.

Estudios relativamente recientes han permitido identificar un importante número de moléculas solubles producidas por las células madre, que una vez liberadas en los sitios dañados, ejercen su acción autoestimuladora y actúan, además, sobre las células sanas residentes en un microambiente apropiado^{59, 142}.

Los factores de crecimiento más relacionados con la osteogénesis son: las proteínas morfogénicas óseas (BMP), el Factor de Crecimiento IGF, el TGF- β , el PDGF, y el FGF¹⁰⁰.

Se ha comprobado que las células madre hematopoyéticas 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 conocidas¹⁰³.

Se ha sugerido 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, creando nuevas células con características funcionales que les permiten participar en la regeneración hística¹⁰³.

Por otro lado, se ha comentado que los resultados que se han comunicado en algunas investigaciones no pueden explicarse solamente por la transdiferenciación o fusión celular, si se toma en cuenta el bajo número de nuevas células generadas que se pudo comprobar en el tejido en que se hizo el implante celular. Para explicar este hecho, se ha emitido la hipótesis de que factores solubles liberados por las células implantadas pueden desempeñar una acción esencial en la regeneración de los tejidos mediante un mecanismo paracrino que actúa estimulando en el sitio afectado a las células normales residentes. Estos productos solubles pueden también actuar, mediante un proceso autocrino, sobre las propias células trasplantadas que los secretan, modulando su biología y favoreciendo su autorrenovación, proliferación y continuidad de sus funciones. Existen varias experiencias que dan un fuerte apoyo a la intervención de mecanismos paracrinicos en la regeneración de

tejidos. Estudios experimentales han mostrado que la inyección de medio de cultivo acondicionado mediante el cultivo de células madre adultas en un sitio lesionado, puede producir efectos beneficiosos comparables a cuando el tratamiento se hace solo con células madre. También los resultados que se han visto con el uso de plasma rico en plaquetas o lisado plaquetario apoyan el criterio de la importante función paracrina de los elementos solubles^{102, 112}.

Todos estos datos aportan evidencias de que las células madre adultas pueden contribuir a la regeneración de tejidos mediante diferentes acciones, algunas de ellas son:

1. Diferenciación en células del tejido dañado, lo que podrían hacer mediante transdiferenciación o fusión celular.
2. Asentamiento en el tejido lesionado con emisión de señales que favorezcan el reclutamiento en ese sitio de otras células madre o progenitoras que participen en la regeneración de los tejidos.
3. Liberación de moléculas solubles con efectos autocrinos/paracrinos.
4. Mantenimiento de su propia autorrenovación, proliferación y funciones.
5. Efecto antiinflamatorio.
6. Inhibición de la apoptosis.
7. Incremento de la vascularización del tejido dañado.
8. Citoprotección y estimulación de las células sanas presentes en la región lesionada, incluyendo las que pueden estar en un estado quiescente o "dormidas" en un "área de penumbra".

También hay algunos datos que sugieren que estos mecanismos de interrelación y comunicación celular podrían ser más complejos de lo que se piensa actualmente. En algunos casos en que se ha realizado una aplicación

local de células madre, se ha producido un incremento sérico de determinadas citoquinas que pudiera ser secundario a un aumento de la secreción por las células madre implantadas, que rebasa el ambiente puramente local⁵⁹. Quizás estos factores solubles circulantes puedan ejercer su acción sobre células diana también afectadas, pero distantes del sitio de implantación de las células madre y que representaría un efecto telecrino. Esta hipótesis complementaria ayudaría a esclarecer algunos resultados aún no explicados completamente, como es la mejoría del metabolismo de la glucosa producido en algunos pacientes diabéticos en que se implantaron en las extremidades inferiores células madre derivadas de la médula ósea para el tratamiento de trastornos isquémicos¹¹⁰. A estos casos se suma un paciente con linfedema crónico de ambas extremidades inferiores, atendido por un grupo de trabajo¹⁴³, a quien se le inyectaron solamente en el miembro inferior más comprometido células madre adultas hematopoyéticas autólogas, obtenidas de la sangre periférica después de una movilización con factor de crecimiento de colonias de granulocitos (LeukoCIM, Cimab S A, La Habana, Cuba). Este paciente mostró una marcada disminución del linfedema en ambas extremidades. Esta nueva hipótesis añadiría un efecto telecrino a las acciones autocrinas y paracrinas que ya habían sido propuestas.

Tomando en su conjunto todos los datos presentados, se pudiera plantear la existencia de 2 fases íntimamente vinculadas en el proceso de la terapia celular regenerativa¹⁴⁴: una relacionada con la acción directa de las células implantadas y otra indirecta representada por las acciones autocrina, paracrina y telecrina de las moléculas solubles liberadas, (Fig. 3).

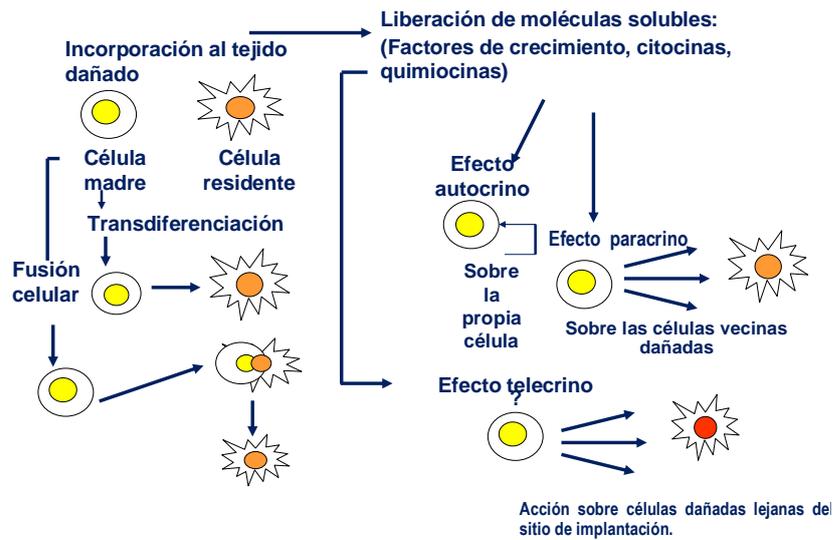


Figura 3. Mecanismo de acción de las células madre adultas. Tomado de Hernández y cols.¹⁰³.

Toda la información precedente nos da una idea general de los avances que ha mostrado este campo de la medicina en un tiempo relativamente corto, pero debe tenerse en cuenta que la medicina regenerativa, y en particular la terapia con células madre, es un tema de gran actualidad, en pleno desarrollo y prácticamente no pasa mucho tiempo sin que se comuniquen nuevos resultados que amplían los conocimientos existentes hasta ese momento. Esto puede llevar a la variación de algunos conceptos y afirmaciones que se habían hecho en determinadas etapas de su desarrollo. Ante esta situación, parecen oportunas 2 fases orientadoras, una proveniente de fuentes populares y la otra de un gran maestro de la literatura: "tiempo al tiempo"; "el tiempo nada deja en la sombra" (Cervantes).

CAPÍTULO II. DISEÑO METODOLÓGICO

CAPÍTULO II. DISEÑO METODOLÓGICO

En este capítulo se muestran los elementos metodológicos empleados para responder y dar salida a las preguntas y objetivos de la investigación. Se incluyen en este capítulo: la clasificación del estudio, la operacionalización de las variables, las técnicas y procedimientos y los aspectos éticos que se tuvieron en consideración.

2.1 Clasificación de la investigación

Se realizó un ensayo clínico fase III, aleatorizado y controlado en pacientes con periodontitis crónica, como parte de un macroproyecto de ensayos clínicos en Medicina Regenerativa del Instituto de Hematología e Inmunología. La fase I y II se realizó en el propio departamento por el mismo equipo de trabajo.

2.2 Definición del universo de estudio

El universo de estudio estuvo constituido por los pacientes con criterio diagnóstico de periodontitis crónica que acudieron a la consulta de Periodoncia del servicio de Cirugía Maxilo Facial del Hospital Pediátrico Docente “William Soler” en el período comprendido de enero del 2008 a enero del 2013, que cumplieron con los criterios de diagnóstico, inclusión y exclusión establecidos.

2.3 Criterios de diagnóstico

Se basó en características clínicas y radiográficas de la periodontitis crónica, descritas en los textos de la especialidad^{1, 3}.

Deben estar presentes las características 1 y 2, las cuales son esenciales para hacer el diagnóstico.

1. Bolsas periodontales reales (al menos 4)
2. Pérdida ósea vertical en al menos 2 dientes (radiográficamente).
3. Sangrado gingival al sondeo.
4. Movilidad dentaria.
5. Migración dentaria

2.4 Criterios de inclusión

1. Pacientes que acepten estar incluidos en la investigación.
2. Pacientes no fumadores o que hayan abandonado este hábito por lo menos con tres años de anterioridad.

2.5 Criterios de exclusión

1. Pacientes con enfermedades malignas activas o que hayan recibido tratamiento de quimio o radioterapia en los últimos 5 años.
2. Pacientes con maloclusión severa.
3. Embarazo y lactancia.

2.6 Criterios de interrupción del tratamiento después de la inclusión

1. Abandono voluntario del individuo.
2. Reacciones adversas severas.
3. Enfermedad asociada que aparezca durante el ensayo, cuya gravedad requiera hospitalización. Reanudar el tabaquismo durante los 30 meses de evaluación.
4. Necesidad de introducir medicación simultánea con corticosteroides vía sistémica, inmunostimuladores u otro medicamento que pueda modificar la respuesta del tratamiento.
5. Pérdida del seguimiento (no asistencia a 2 consultas programadas).
6. Diagnóstico de embarazo durante el tratamiento.

2.7 Criterios de fracaso

Pacientes que en la última evaluación se mantengan iguales o peor que al inicio del tratamiento.

2.8 Criterio de eficacia

Obtención de respuesta completa al menos del 75 % de los pacientes incluidos en el estudio, en el grupo de estudio.

Grado de respuesta	Criterios
<ul style="list-style-type: none">• Completa	Mejoría en 75 % en cuatro o más de los parámetros evolutivos evaluados.
<ul style="list-style-type: none">• Parcial	Mejoría en 75 % en tres de los parámetros evolutivos evaluados.
<ul style="list-style-type: none">• Ninguna	Mejoría en 75 % en dos o menos de los parámetros evolutivos evaluados.

2.9 Tamaño y selección de la muestra. Asignación aleatoria

Diseño muestral: se calculó el tamaño muestral $n=68$, Con precisión de 5 %, confiabilidad 95 %, estimado poblacional $N=194$. La asignación de los sujetos a las dos variantes de tratamiento quirúrgico se efectuó en la consulta centralizada de periodoncia en el área de consulta externa del Hospital Pediátrico Docente “William Soler”, según una serie de números aleatorios generada en el programa estadístico MedCalc (versión 11,5). Si el número obtenido era par, el paciente se incluyó en el grupo experimental, y si impar, en el grupo control, donde:

Grupo I (Grupo de estudio): se aplicó tratamiento convencional unido a la terapia celular con células mononucleares autólogas ($n=34$).

Grupo II (Grupo control): recibió tratamiento convencional solamente (n=34).

Para el enmascaramiento de la muestra, como no era posible que el observador al participar en la intervención quirúrgica desconociera el grupo asignado, la asignación se efectuó por la secretaria del Departamento de Cirugía Maxilo Facial ajena a la intervención.

El diseño muestral se efectuó en el programa estadístico Epidat 3.0.

2.10 Movilización de las células mononucleares autólogas

Los pacientes que quedaron incluidos en el grupo de estudio fueron remitidos a la consulta de Medicina Regenerativa perteneciente al Instituto de Hematología e Inmunología, donde se confeccionó la historia clínica y se indicó la valoración de los resultados de los estudios realizados (hemograma completo, química sanguínea y electrocardiograma si fuera necesario). Además, quedó consignado en la historia clínica de cada paciente todos los datos referidos a la movilización de células mononucleares autólogas hacia la sangre periférica, el factor de crecimiento empleado y la dosis total, las reacciones adversas tanto de la movilización como del proceder de autodonación, el número de células obtenidas por mL, y los resultados de la viabilidad celular y el estudio microbiológico.

La movilización de células mononucleares autólogas se efectuó con el factor estimulante de crecimiento de colonias granulocíticas (FEC-G) (Leukocim, Centro de Inmunología Molecular, La Habana) en dosis de 40 µg por kg de peso dividido en 4 subdosis de 10 µg por kg de peso cada 12 horas. La última dosis se administró 3 horas antes de un segundo hemograma para evaluar la movilización celular. Si el conteo de leucocitos era mayor de 20×10^9 /L y el resto de los parámetros normales, se procedió a la extracción de sangre

periférica. Si el conteo era menor, se continuó con la movilización cada 12 horas con 10 µg por kg de peso hasta alcanzar la cifra de leucocitos antes mencionada^{145, 146}.

2.11 Extracción y separación de las células mononucleares

2.11.1 Autodonación

Se realizó examen físico del paciente (Tensión arterial, frecuencia cardiaca, frecuencia respiratoria y temperatura). Si no había alteración se procedió a la autodonación.

Con el paciente acostado en decúbito supino, se le canalizó una vena gruesa en el antebrazo y se efectuó la extracción de sangre hacia una bolsa colectora con CPDA/SAGM-2, sistema cuádruple. Esas siglas están en relación con el anticoagulante que viene en las bolsas y garantizar su conservación.

C: Citrato, efecto anticoagulante.

P: Fosfato, para mantener pH.

D: Dextrosa, aporte de ATP.

A: Adenina, aporte de energía a las células incluye ATP.

SAGM: es una solución rejuvenecedora de los eritrocitos, que prolonga su vida útil y generalmente se adiciona después de separados del plasma. Contiene manitol que da estabilidad a la membrana del glóbulo para evitar su destrucción.

Una vez alcanzada la cantidad deseada (500 mL), se retiró la bolsa y se conectó a la línea de acceso a la vena una infusión de solución salina al 0,9 % a goteo lento durante 45 a 60 minutos para rehidratar y mantener al paciente isovolémico. Se realizó la centrifugación y desplasmatización y posteriormente fueron reinfundidos al paciente su plasma y sus eritrocitos. Concluido el proceder, se comprobó por el interrogatorio y el examen físico que el paciente

se encontraba estable y se procedió a sentarlo. Si no había alteraciones hemodinámicas, después de unos minutos se le retiraba el acceso venoso. Si el paciente se mantenía estable se egresaba del servicio de aféresis y se le recomendaba que ese día no realizara esfuerzos físicos.

La bolsa de sangre total se centrifugó a 3000 rpm y 4°C, durante 10 min. Al terminar la centrifugación se extrajo cuidadosamente la bolsa de la centrífuga y fue colocada en el desplasmator. Se identificó cada una de las bolsas con los datos del paciente y el tipo de componente. Se desplasmatorizó y se pasó el plasma a una bolsa satélite que se selló y separó para transfundir al paciente.

En un gabinete de seguridad biológica, a la bolsa con el resto de los componentes se le adicionó el hidroxietilalmidón (HES) al 6 %, volumen a volumen.

Posteriormente se deja sedimentar y los eritrocitos son separados de la masa de células mononucleares y reinfundidos al paciente

A la bolsa con el contenido celular se le determinó el volumen en mL y se tomaron muestras para estudios celular (conteo de células mononucleares, recuento diferencial y viabilidad celular) y microbiológico. Posteriormente se selló la bolsa y se agregó la fecha y el volumen que contenía. Finalmente, se almacenó entre 2-6 °C hasta su entrega para la implantación celular al día siguiente^{145, 146}.

2.11.2 Estudio Celular

- **Conteo de células mononucleares (CMN).** Se utilizaron las siguientes variables: el conteo de leucocitos/L (efectuado en el contador automático de células SINNOWA HB-7021, República Popular China), el volumen del concentrado y el porcentaje de CMN.

- El recuento diferencial se determinó mediante microscopía óptica en extensiones del concentrado celular teñidas con May-Grunwald Giemsa, lo que permitió conocer el porcentaje de CMN. Se consideraron CMN: los linfocitos, monocitos, células linfocitoides, monocitoides. El porcentaje de células CD34+ se determinó por citometría de flujo en un FaC Scan (Becton-Dickinson, EE.UU.) y se aplicó para obtener su valor absoluto a partir del número de CMN en el concentrado.
- La determinación de la viabilidad celular se hizo mediante la coloración con azul Tripán, según el método empleado en nuestra institución.

2.11.3 Estudio microbiológico

La tinción de Gram y los cultivos bacteriológicos se realizaron por los métodos habituales del laboratorio de Microbiología, con el objetivo de tener la seguridad que no haya contaminación bacteriana en las células que se van a implantar.

Esto aporta una mayor seguridad para el receptor del implante y su resultado permite comprobar que no hay contaminación por germen patógenos como resultado del procesamiento de las células.

2.12 Descripción de los Tratamientos

Grupo de estudio: A los pacientes del grupo de estudio se les realizó el tratamiento convencional de la periodontitis crónica que incluyó tres etapas:

- **Tratamiento inicial**

Dirigido a la educación y motivación del paciente, control de la placa dentobacteriana y eliminación o control de factores retentivos de placa.

- **Tratamiento correctivo**

Procedimientos no quirúrgicos (los que necesite el paciente). Señalaremos los más frecuentes.

- Raspado y alisado radicular.
- Ajuste oclusal.
- Ferulización.
- Corrección o control de hábitos lesivos.

Procedimientos quirúrgicos.

- Operaciones a colgajo.
- Otros.

Dado los requisitos a cumplir en la obtención de las células mononucleares autólogas, todos los procedimientos quirúrgicos se realizaron, por lo general, en una sesión.

El implante de células mononucleares autólogas se colocó una vez realizada la síntesis de los tejidos en la técnica de colgajo de espesor total, se depositaron 0,04 mL/defecto. mm de profundidad del defecto y 0,3 mL/diente en la encía circundante de dientes afectados.

Siempre que el acceso y visibilidad a la bolsa lo permitió, en algunas zonas se realizó la técnica de raspado y alisado la semana anterior al implante. Durante el acto quirúrgico, en esa zona, solo se perfundían células mononucleares autólogas, sin realizar el abordaje quirúrgico.

El tratamiento del grupo control fue el mismo, pero sin implantación de células mononucleares autólogas en los tejidos.

En ambos grupos la zona tratada fue cubierta con un apósito periodontal durante 8 días.

Las indicaciones postoperatorias se limitaron al uso de analgésicos y fomentos fríos en todos los casos y de existir algún tipo de complicación o reacción

adversa (al paciente les fueron dadas por escrito), los sujetos podían ser asistidos en cualquier momento postoperatorio.

- **Terapia de soporte o fase de mantenimiento**

Una vez dada el alta se planificaron una serie de visitas de control, las mismas se realizaron de forma independiente a las evaluaciones evolutivas de la investigación que se realizaron cada 6 meses.

2.13 Seguimiento evolutivo de los pacientes durante el tratamiento

Los pacientes se evaluaron clínica y radiográficamente antes del tratamiento por la autora del estudio, y postratamiento a los 6, 12, 18, 24 y 30 meses en la consulta de Periodontología por la investigadora principal y otro especialista en Periodoncia, este evaluador no conocía que los sujetos de investigación pertenecían al grupo de estudio o al grupo control para evitar el sesgo subjetivo de la evaluación por parte del investigador.

2.14 Tipos de variables del estudio y definición operacional

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.
- Reacciones adversas al FEC-G y complicaciones postoperatorias.

La totalidad de los enfermos fueron tratados por un mismo equipo quirúrgico que incluyó a una periodontóloga y dos licenciadas en Atención Estomatológica, todos entrenados en los procedimientos quirúrgicos.

A los dientes afectados se le realizaron radiografías periapicales utilizando la técnica de paralelismo. En esta técnica la película se coloca en boca con un posicionador paralela al eje corono-radicular del diente a examinar, luego el rayo central del haz de rayos X se dirige perpendicularmente, formando un ángulo recto con el diente y la película. Esta orientación de la técnica del paralelismo minimiza la distorsión geométrica, y para reducirla aún más, la fuente de rayos X debe estar situada relativamente lejos del diente en estudio^{147, 148}.

La información obtenida fue vertida en un modelo diseñado e impreso con este fin (anexo 1). En el mismo aparecen los datos de identificación personal y la recogida de las variables estudiadas.

2.14.1 Operacionalización de las variables

Variable	Escala	Descripción
Edad	Adultos mayores de 30 años de edad.	Según años cumplidos.
Sexo	Femenino Masculino	Según género de pertenencia.
Complicaciones post-quirúrgicas	Dolor Fiebre Infección Inflamación Trismo Otros	Según los criterios referidos en el la literatura ^{1, 3} .
Dientes afectados	Número de dientes que al examen físico presenten alteraciones.	Se tendrán en cuenta los dientes que presenten alguna de las siguientes alteraciones: inflamación de las encías, sangrado al sondeo, bolsas periodontales y movilidad.

Sangrado gingival al sondeo.	Número de puntos de sangrado gingival.	Aparición de sangre en el surco a los 15-30 seg. después de haber realizado un sondaje suave con una sonda periodontal.
Presencia de bolsas periodontales	Número de bolsas periodontales encontradas en el examen físico.	Se determinará mediante sondaje periodontal de todos los dientes presentes.
Movilidad dentaria	Número de dientes con movilidad.	Según valoración al examen físico, al ejercer presión con dos instrumentos (vestibular y lingual) se observa movilidad dentaria de más de 1 mm.
Nivel de inserción periodontal.	< 1.5 mm 1.5 a 1.9 mm 2.0 a 2.9 mm 3.0 a 4,9 mm 5 mm o más	Se medirá en dientes que presentan pérdida ósea vertical. Índice de extensión y severidad de la pérdida de inserción (ESI), de Carlos y cols. ¹⁴⁹ .
Evaluación radiográfica	1. Desorganización del trabeculado, pérdida de la cortical y presencia de defecto óseo, existe pérdida de inserción. 2. Organización del trabeculado, no se evidencia formación completa de cortical y se mantiene el mismo rango de pérdida de inserción. 3. Organización del trabeculado óseo, formación de la cortical y se mantiene en el mismo rango de pérdida de inserción. 4. Presencia de organización en el trabeculado óseo, formación de cortical y zona radiopaca compatible con formación de nuevo hueso, además de la disminución de	Se valorará en dos defectos óseos en cada paciente, que coincidan con la mayor pérdida de inserción.

la pérdida de inserción.

Reacciones adversas al FEC-G	Más frecuentes en la dosis administrada: dolor musculoesquelético leve a moderado, dolor óseo, cefalea, dolor torácico ^{150, 151} .	Para validar el dolor se usó la escala visual analógica (EVA)*. 0 Ausencia de dolor 1-4 Dolor Leve 5-8 Dolor Moderado 9-10 Dolor Severo
------------------------------------	--	---

*Los valores asignados a la EVA fue diseñada por la autora de la investigación.

2.15 Consideraciones bioéticas

La realización de esta investigación se autorizó por la dirección del Hospital Pediátrico “William Soler”, el jefe de Servicio de Cirugía Maxilo Facial; el Consejo Científico y el Comité de Ética de la investigación de las instituciones participantes (Hospital Pediátrico “William Soler” y del “Instituto de Hematología e Inmunología”). El proyecto recibió el aval de la Academia de Ciencias de Cuba (ACC), perteneciente al Ministerio de Ciencia, Tecnología y Medio Ambiente (CITMA).

Se respetó lo establecido en los principios básicos de la Declaración de Helsinki que contiene las recomendaciones a seguir en la investigación biomédica en seres humanos. Conforme quedó establecido en la declaración de la 59ª Asamblea General de la Asociación Médica Mundial en Seúl, Corea, en octubre de 2008, en toda investigación con seres humanos, cada individuo potencial debe recibir información adecuada sobre los objetivos, métodos, fuentes de financiamiento, posibles conflictos de intereses, afiliaciones institucionales del investigador, beneficios calculados, riesgos previsibles e incomodidades derivadas de la investigación¹⁵².

La persona debe ser informada del derecho de participar o no en el estudio y de retirar su autorización en cualquier momento, sin exponerse a represalias. Después de asegurarse de que el individuo comprende la información, el médico debe obtener entonces por escrito, el consentimiento informado y voluntario de la persona. Si el consentimiento no se puede obtener de esa manera, el proceso para lograrlo debe ser documentado y atestiguado formalmente.

En concordancia con ello los pacientes firmaron su autorización para participar en la investigación (Anexo 2). Se les explicó en detalles el procedimiento y que de ser necesario se convertía al habitual.

Se garantizó en todo momento la integridad del paciente y la confidencialidad de la información, pues no se dieron a conocer datos personales de los enfermos involucrados en el estudio. Los mismos fueron de uso exclusivo del equipo de investigadores.

2.16 Análisis estadístico

El tratamiento de los datos se realizó mediante el programa estadístico SPSS versión 15.0 para Windows, previa confección de una base de datos donde se introdujo la información obtenida. Como medida de resumen para los datos cuantitativos se utilizaron la media, la desviación estándar y el rango y para los cualitativos las frecuencias absolutas y los porcentajes.

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 el análisis de varianza de una vía (la prueba de Friedman), considerando un nivel de significación de $p \leq 0,05$. En caso de que las comparaciones múltiples resultaran estadísticamente significativas, para

analizar qué variables diferían entre sí, se utilizó la prueba a posteriori de Bonferroni y se consideraron que los promedios de dos variables diferían significativamente cuando el nivel crítico obtenido fuera menor que 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 Ji Cuadrado. En ambos casos se consideró significativo el valor de $p \leq 0,05$.

Los resultados obtenidos se presentan en forma de cuadros estadísticos y figuras (anexos 3 y 4).

CAPÍTULO III. RESULTADOS

CAPÍTULO III. RESULTADOS

El objetivo del presente capítulo es mostrar los resultados de la investigación al comparar la evolución del tratamiento de la periodontitis crónica con terapia de células mononucleares autólogas con el tratamiento convencional.

La muestra objeto de estudio la constituyeron 68 pacientes que cumplían con los criterios de inclusión, los cuales fueron distribuidos al azar para conformar dos grupos quirúrgicos comparativos, el I (estudio) y el II (control), cada uno con 34 enfermos.

La distribución por sexo no presentó diferencias estadísticamente significativas entre los grupos tratados con células mononucleares autólogas y con terapéutica convencional como se observa en la tabla 1

La tabla 2 nos muestra que todos los pacientes tenían valores normales en sus parámetros hematológicos preimplante.

Se observa en la tabla 3 que se obtuvo un número absoluto alto de células mononucleares secundario a los pequeños volúmenes de concentrados celulares preparados.

En la comparación de los grupos antes de iniciar los tratamientos, tabla 4, se aprecia que no existían diferencias estadísticamente significativas entre ambos en cuanto a la edad, el número de dientes afectados, promedio de puntos de sangrado, de bolsas periodontales, de dientes con movilidad, pérdida de inserción ósea y evaluación radiográfica. ($p > 0,05$).

La tabla 5 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, 24 y 30 meses después del tratamiento.

Se aprecia una disminución del promedio de todas las variables clínicas, que es más marcada en cada uno de los periodos evolutivos con respecto al estado inicial de los pacientes. Si 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 periodos evolutivos con relación al valor inicial, no así entre ellos, pues a partir de los 12 meses el promedio alcanzado se mantiene constante. En este grupo se aprecia organización en el trabeculado óseo, formación de cortical y zona radiopaca compatible con formación de nuevo hueso, además de la disminución de la pérdida de inserción. En todos los casos las diferencias encontradas son estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

La tabla 5 A muestra las comparaciones a posteriori en todas las variables en el grupo tratado con células mononucleares autólogas. En el caso de los dientes afectados resultaron significativas todas las comparaciones evolutivas con relación al preimplante, y con relación a los 6 meses del tratamiento. En cuanto al sangrado, la movilidad, la pérdida de inserción ósea y ganancia ósea evidenciada en la evaluación radiográfica, solo son significativas las comparaciones evolutivas con relación al preimplante. En relación a las bolsas periodontales todas las comparaciones son estadísticamente significativas excepto la de los 24 meses con los 30 meses. Para estas comparaciones el

nivel de significación fue de $p \leq 0,005$ aplicando la prueba a posteriori de Bonferroni.

La tabla 6 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, 24 y 30 meses después del tratamiento.

Todos los valores de las variables clínicas disminuyeron evolutivamente con relación al estado inicial. En el caso de los dientes afectados y del sangrado 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 24 meses. Estas diferencias son estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Los cambios ocurridos respecto a la pérdida de inserción ósea no son relevantes a pesar de que se aprecia que sus valores iniciales se mantuvieron a los 6 y 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 de 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 nueva formación de nuevo hueso, ni cambios en el nivel de inserción, en cada uno de los periodos evolutivos con relación al valor inicial, son estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

La tabla 6 A muestra las comparaciones a posteriori en todas las variables en el grupo tratado con la terapéutica convencional. En el caso de los dientes afectados y del sangrado son significativas todas las comparaciones excepto la

de los 24 con 30 meses. En relación a las bolsas periodontales resultaron estadísticamente significativas todas las comparaciones evolutivas con relación al estado inicial y entre los diferentes periodos evaluativos, 12 meses con 24 meses y 12 meses con 30 meses. En la movilidad dentaria resultaron significativas las comparaciones de los 6, 12, 24 y los 30 meses con relación al estado inicial. En la pérdida de inserción se observó diferencias entre el inicio y los 6, 12, 24 y 30 meses, fue diferente también entre los 6 con los 12, 24 y 30 meses. En el caso de la ganancia en la organización del trabeculado y formación de cortical ósea evidenciada mediante estudio radiológico resultaron estadísticamente significativas todas las comparaciones evolutivas con relación al estado inicial y las de los 12, 24 y 30 meses con respecto a los 6 meses. Para estas comparaciones el nivel de significación fue de $p \leq 0,005$ aplicando la prueba a posteriori de Bonferroni.

La evolución de los dientes afectados según el tipo de tratamiento recibido, aparece en la tabla 7. Al comparar los dientes afectados en los diferentes momentos del seguimiento de los pacientes que recibieron tratamiento con células mononucleares autólogas con los que recibieron el tratamiento convencional, se aprecia una disminución de los promedios en el grupo que recibió tratamiento con células mononucleares autólogas. La magnitud de las diferencias de medias de los dientes afectados entre ambos grupos aumenta de manera evolutiva, a expensas de valores menores en los pacientes tratados con implante de células mononucleares autólogas que en los tratados con terapéutica convencional. Las diferencias encontradas fueron estadísticamente significativas a los 12, 24 y 30 meses, ($p < 0,05$) no así a los 6 meses.

En la tabla 8 se describe la evolución del sangrado al sondeo según el tipo de

tratamiento recibido, al comparar los diferentes momentos del seguimiento de los pacientes que recibieron tratamiento con células mononucleares autólogas con los que recibieron el tratamiento convencional, se aprecia una disminución de sus promedios en el grupo que recibió tratamiento con células mononucleares autólogas. La magnitud de las diferencias de medias de esta variables entre ambos grupos aumenta de manera evolutiva, a expensas de valores menores en los pacientes tratados con implante de células mononucleares autólogas que en los tratados con terapéutica convencional. Las diferencias encontradas a los 6 meses fueron estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Al comparar las bolsas periodontales en los diferentes momentos del seguimiento de los pacientes que recibieron tratamiento con células mononucleares autólogas con los que recibieron el tratamiento convencional, tabla 9, se aprecia que en todos los periodos evolutivos, el promedio de bolsas tuvo una disminución más marcada en el grupo tratado con células mononucleares autólogas. La magnitud de las diferencias de los promedios de bolsas periodontales entre ambos grupos aumenta de manera evolutiva, a expensas de valores menores en los pacientes tratados con implante de células mononucleares autólogas que en los tratados con terapéutica convencional. Las diferencias encontradas fueron estadísticamente significativas a los 24 y 30 meses ($p < 0,05$), no así a los 6 y 12 meses.

En la tabla 10, al comparar la movilidad dentaria en los diferentes momentos del seguimiento de los pacientes que recibieron tratamiento con células mononucleares autólogas con los que recibieron el tratamiento convencional se aprecia una disminución de sus promedios en el grupo que recibió tratamiento

con células mononucleares autólogas. La magnitud de las diferencias de medias de la movilidad dentaria entre ambos grupos es mayor a los 6 meses del tratamiento debido a que el promedio de dientes con movilidad es marcadamente inferior en los pacientes tratados con implante de células mononucleares autólogas que en los tratados con terapéutica convencional. Las diferencias encontradas en todos los momentos del seguimiento fueron estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

La tabla 11 presenta la comparación de la pérdida de inserción ósea en los diferentes momentos del seguimiento de los pacientes del grupo de estudio y control, se aprecia una disminución de sus promedios en el grupo que recibió tratamiento con células mononucleares autólogas (estudio). La magnitud de las diferencias de medias de esta variable entre ambos grupos aumenta de manera evolutiva hasta los 24 meses del tratamiento a expensas de valores menores en los pacientes tratados con implante de células mononucleares autólogas que en los tratados con terapéutica convencional. Las diferencias encontradas en todos los momentos del seguimiento fueron estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

Al comparar la evaluación radiográfica según el tipo de tratamiento recibido en los diferentes momentos del seguimiento de los pacientes que fueron tratados con células mononucleares autólogas con los que recibieron la terapéutica convencional se aprecia un aumento de sus promedios en el grupo que recibió tratamiento con células mononucleares autólogas (tabla 12). La magnitud de las diferencias de medias de esta variable entre ambos grupos aumenta de manera evolutiva hasta los 30 meses del tratamiento a expensas de valores mayores en los pacientes tratados con implante de células mononucleares

autólogas que en los tratados con terapéutica convencional. En la evaluación las diferencias encontradas fueron estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

En la tabla 13 se aprecia que en el grupo tratado con células mononucleares autólogas, en la evolución a los 6 meses, hubo mejoría completa en el 85,29 % de los pacientes, mejoría parcial en el 11,76 % y en solo un caso (2,94 %) no se obtuvo mejoría, mientras que en el grupo tratado con la terapéutica convencional la mejoría completa estuvo presente en el 41,17 % de los pacientes al igual que en la parcial y en 6 pacientes (17,64 %) no se alcanzó mejoría. Las diferencias encontradas fueron estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

En el grupo tratado con células mononucleares autólogas, en la evolución a los 24 meses, hubo mejoría completa en el 100 % de los pacientes, mientras que en el grupo tratado con la terapéutica convencional hubo mejoría completa en el 41,17%, el 47,05 % de los pacientes tuvieron mejoría parcial y el 20,58 % no obtuvo mejoría como se aprecia en la tabla 14. Las diferencias encontradas fueron estadísticamente significativas ($p < 0,05$).

La mayor parte de los pacientes del grupo de estudio (alrededor del 70 %) no presentaron reacciones adversas al uso del FEC-G. La minoría, que manifestó reacciones adversas, presentaron dolores articulares y cefaleas, de leve a moderado, según resultados obtenidos al aplicar la Escala Visual Analógica, que remitían con analgésicos (Tabla 15). No se reportó ningún paciente con dolor severo.

En los grupos incluidos en la investigación (de estudio y de control) ningún paciente tratado presentó complicaciones postquirúrgicas.

CAPÍTULO IV. DISCUSIÓN

CAPÍTULO IV. DISCUSIÓN

El objetivo del presente capítulo consiste en interpretar y discutir los resultados que se obtuvieron en la presente investigación al comparar la evolución del tratamiento de la periodontitis crónica con terapia de células mononucleares autólogas con el tratamiento convencional.

La enfermedad periodontal resulta en la pérdida del tejido conectivo y óseo de soporte y constituye la causa principal de pérdida dentaria en adultos⁸⁶.

Por causa de las limitadas opciones terapéuticas con el fin de regenerar estos tejidos, se han 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. Por esto, la regeneración del tejido periodontal mediante el uso de células madre autólogas pudiera ser promisorio en la terapia regenerativa en la enfermedad periodontal. Entre las células candidatas para la terapia regenerativa se incluyen las células madre embrionarias, las células madre adultas y las células progenitoras adultas. La utilización de las células madre embrionarias está limitada por causa de las implicaciones éticas de su uso y por los problemas de regulación celular que le imprimen una fuerte tendencia a la formación de neoplasias. Por esta causa, Tobita y cols.¹⁵³, mencionan que las células madre adultas y las progenitoras adultas son las adecuadas en situaciones clínicas.

En la actualidad el tratamiento con células madre se considera un avance de la medicina contemporánea y un pilar fundamental en el surgimiento de la

medicina regenerativa. Una contribución a la rápida aplicación de este tipo de medicina fue el conocimiento de que las células madre adultas poseían una capacidad regenerativa mayor de lo que convencionalmente se aceptaba^{154, 155}.

Estos conocimientos han contribuido a la aplicación de las células madre adultas como un método muy prometedor de terapia celular regenerativa en diferentes enfermedades que por la terapéutica convencional no tenían curación o los resultados eran muy limitados¹⁵⁶⁻¹⁵⁸.

Las células madre adultas han pasado rápidamente a la aplicación clínica y en la actualidad existen diferentes publicaciones que avalan su utilidad^{159, 160}.

En algunos de los trabajos publicados en los que se ha utilizado la medicina regenerativa en pacientes con afecciones bucales (por ejemplo, defecto óseo de rama mandibular provocado por la presencia de un quiste dentígero, periodontitis, la osteointegración de implantes con plasma rico en plaquetas y hueso liofilizado en pacientes con pérdida dentoalveolar por trauma y otros) se obtuvieron resultados prometedores^{46, 47, 154, 161-163}.

Estudios sobre el tratamiento regenerativo de la periodontitis han arrojado buenos resultados tanto en la utilización de células madre mesenquimales cultivadas, de plasma rico en plaquetas, como con la ingeniería de tejido^{46, 47, 154, 163, 164}.

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. En general cuando estas células se extraen en su conjunto como componentes de las células madre mononucleares se ha aplicado el marcador CD34+ como referencia de las células madre hematopoyéticas obtenidas; pero habitualmente no se tipifican las otras células

madre presentes. Sin embargo, en el trabajo publicado por Wu y cols.¹⁶⁵, se inyectó, un grupo de pacientes con extremidades inferiores isquémicas, con células madre mononucleares autólogas movilizadas con FEC-G. En estos casos el número de células madre mononucleares movilizadas resultó un mejor indicador de la efectividad terapéutica que el número de células CD34+; resultado que apoya la ventaja del uso de las CMN en su conjunto y sugiere que no es imprescindible la cuantificación de las células CD34+.

La concentración de células mononucleares en la investigación es más alta que la reportada por la literatura cubana¹⁴⁶. 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.¹⁴⁵, reportan que la cantidad óptima de células mononucleares con fines terapéuticos debe ser $\geq 8 \times 10^6$ 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 alcanzó estos resultados.

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 conocidas¹⁰³.

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, creando nuevas células con características funcionales que les permiten participar en la regeneración hística¹⁰³.

Sobre la base de estos datos, resulta razonable pensar que la terapia celular regenerativa con células madre adultas puede ser de utilidad en el tratamiento de las periodontitis, teniendo en cuenta la posibilidad de regeneración ósea que puede derivar de este tratamiento.

Uno de los primeros reportes que aparece en la literatura revisada es el informe realizado por Yoichi y cols.¹²⁷, donde, después de levantar colgajos periodontales de espesor completo y del raspado y alisado de las superficies radiculares, se aplicó un gel de células madre mesenquimales y plasma rico en plaquetas sobre la superficie radicular y en el espacio del defecto adyacente. Las mediciones resultantes principales fueron: el sangrado al sondaje, la profundidad de la bolsa, el nivel de inserción clínica, y el relleno del defecto óseo. La reevaluación puso de manifiesto que el tratamiento anterior dio lugar a que desapareciera el sangrado y la movilidad dentaria, además de una

reducción de 4 mm en las profundidades de las bolsas y de una ganancia de 4 mm de inserción clínica. El análisis radiográfico manifestó que el defecto óseo se había reducido en profundidad. En este mismo trabajo, se regeneraron las papilas interdetales mediante la utilización de técnicas de ingeniería de tejidos.

Por otra parte, Yamada y cols.¹⁶³, reportan estudios en animales y clínicos a gran escala en pacientes. Estos últimos mostraron una buena formación de hueso al usar trasplante de células madre mesenquimales con un grado mínimo de invasividad. Todos los pacientes presentaban el volumen de hueso significativamente mejorado sin efectos secundarios. Las áreas de hueso recién constituido, en tres meses, eran significativamente mayores respecto al punto de partida del preoperatorio. No se detectó resorción ósea significativa durante el seguimiento a largo plazo. Este reporte representa un nuevo enfoque clínico en la utilización terapéutica de ingeniería de tejido de hueso.

Encontramos resultados similares en otro reporte de un estudio experimental sobre la utilización de células madre mesenquimales derivadas de muestras de un aspirado percutáneo de médula ósea, y andamios en colágeno, en la terapia de los defectos periodontales. Aquí, se logró la regeneración del ligamento periodontal cerca de la pared radicular y la formación de nuevo hueso¹⁵⁴.

El análisis realizado en el grupo tratado con células mononucleares autólogas, mostró una evidente mejoría, con una rápida desaparición del sangrado al sondaje y de la inflamación. Este resultado es reflejo no solo de la actividad antiinflamatoria de las células administradas sino también de otros efectos que pueden tener sobre la vascularización regional. Esta reacción está totalmente de acuerdo con los conocimientos actuales sobre los mecanismos de acción de

las células madre que hasta hace poco tiempo se pensaba estaban solamente relacionados con la implantación de las células y su fusión o transformación en células del tejido implantado. En la actualidad, se acepta, de una manera progresiva, que la acción fundamental es secundaria a la liberación de múltiples factores con actividad sobre los tejidos, y que actúan en una forma balanceada e integral, interviniendo de una forma rápida sobre las alteraciones de los tejidos afectados. Con posterioridad sí pueden intervenir las células que se han integrado al tejido dañado. En esta etapa las acciones son más lentas y derivadas de los contactos intercelulares y también, de forma destacada, de la continuidad en la liberación de factores bioactivos que estimulan a las células circundantes. Estas últimas, a su vez, producen factores estimuladores de los tejidos comprometidos. Este comportamiento es una explicación para las respuestas rápidas iniciales y más lentas pero progresivas que pueden verse con posterioridad¹⁶⁶⁻¹⁶⁸, lo que también se evidencia en el estudio que se muestra.

Urban y cols.¹⁶⁹, refieren que las funciones reparadoras de las células madre mesenquimales, que son una pequeña población dentro de las células mononucleares, se dan a través de la secreción de factores como el VEGF y el FGF, los cuales pueden prevenir la apoptosis, promueven la angiogénesis, asisten en la reorganización de la matriz, incrementan el reclutamiento de células madre circulantes y, posiblemente, promueven la activación de células madre residentes circundantes. Estudios recientes sugieren que las células madre mesenquimales unidas al resto de las células mononucleares contribuye a potencializar la capacidad regenerativa y de renovación tisular¹²⁰.

La inflamación comprende una serie de acontecimientos moleculares y celulares que llevan a una respuesta del hospedero contra el traumatismo y la invasión microbiana, la que, finalmente, conduce la curación de los compartimientos tisulares lesionados⁷⁴.

En consecuencia, por definición, la respuesta del hospedador implica no solo los mecanismos de defensa, sino también los procesos de reparación del daño que se produce por el efecto directo de los invasores, el traumatismo o los propios sistemas del hospedador. Investigaciones recientes han mostrado que, además de las señales de “activación” que inician los procesos inflamatorios, los tejidos periodontales, actuando como controladores de la inflamación, son capaces de generar señales de “desactivación” o “cese”. Estos mecanismos de control involucran circuitos celulares y bioquímicos específicos que han evolucionado en diversas partes del cuerpo⁷⁸.

Por tanto, cabe resaltar los hallazgos referentes a las funciones inmunomoduladoras, tanto *in vivo* como *in vitro*, de las células madre mesenquimales. Aunque el mecanismo no se ha aclarado completamente, se ha visto, *in vitro*, que estas pueden: a) inhibir la función y maduración de células T de memoria y linfocitos vírgenes; b) disminuir la secreción de TNF- α e incrementar la secreción de IL-10, una citoquina inmunosupresora, en las células dendríticas; c) incrementar la proporción de células Treg y d) bloquear la maduración de las células presentadoras de antígenos a la vez que potencia la secreción de IL-10 en las mismas. Youn y cols.¹⁷⁰, observaron, *in vivo*, que la utilización de células madre mesenquimales en la córnea dañada incrementa los niveles de IL-10 y TGF- β (interleuquinas antiinflamatorias) a la vez que reduce la IL-2 y el IFN- γ (interleuquinas proinflamatorias).

El mejor mecanismo pudiera estar involucrado con la secreción de factores solubles, como la prostaglandina E₂ (PGE₂), indolamina-2,3-dioxigenasa (IDO), el factor transformante beta (TGF-β) y el antígeno leucocítico humano G5, HLA-G5 (del inglés, human leukocyte antigen G5), y con la interacción entre las células madre y las células inmunológicas, como las células T y B, macrófagos y células dendríticas¹⁷¹. Bajo el efecto estimulador del interferón-γ (IFN-γ), la enzima IDO metaboliza triptófano del microambiente local a quinurenina. El triptófano es un aminoácido esencial para la proliferación de linfocitos, entre las que se encuentran las células Th1 productoras de IFN-γ. La IDO junto a la PGE₂ bloquean la actividad de las células NK (del inglés, natural killer). El HLA-G5 suprime la proliferación de células T, NK y la citotoxicidad de las células T y promueve la regeneración de células Treg^{172, 173}.

Recientemente, Nemeth y cols.¹⁷⁴, sugirieron que las células madre mesenquimales estimuladas con LPS y TNF-α producen PGE₂, la cual reprograma monocitos y macrófagos para la liberación de IL-10. Esta, a su vez, parecía prevenir la migración de neutrófilos a los tejidos, y, por tanto, el daño oxidativo.

Teniendo en cuenta estos hallazgos, se puede especular que las CMN ejercen potenciales efectos antiinflamatorios e inmunomoduladores a los niveles de las respuestas innata y adaptativa del hospedero. En la investigación que se presenta se evidencia este efecto antiinflamatorio por la marcada reducción del sangrado gingival, del número de las bolsas periodontales y de la movilidad dentaria, además del aspecto clínico de la encía, lo cual se mantiene en el tiempo y hace lógico pensar en la influencia del efecto inmunomodulador mencionado.

La pérdida de inserción clínica debida a periodontitis es generalmente irreversible y refleja la pérdida de inserción histórica más que el estado inflamatorio. El número de sitios con lesiones periodontales representa mejor la carga de inflamación e infección periodontal¹⁷⁵.

La reinsertación periodontal ocurre cuando en una superficie radicular todavía persiste tejido viable del ligamento periodontal de manera que en la curación este tejido es capaz de unirse con las fibras periodontales del lado opuesto de la herida. Este fenómeno puede darse durante la curación de las zonas más profundas de la bolsa periodontal. Por el contrario, se habla de nueva inserción cuando esta reunión de tejidos (epitelial o conectivo) se produce en una zona de la superficie radicular, previamente afectada por la periodontitis, y sin restos viables de tejido periodontal¹⁷⁶.

Sería lógico pensar que al desaparecer el proceso inflamatorio y al haber una regeneración progresiva de los tejidos periodontales, entonces habrá una notable contribución a la mejoría del microambiente de los dientes tratados, desde el punto de vista histológico y anatómico, lo que contribuye a disminuir la movilidad y a mejorar el índice de inserción clínico.

Se conoce que el tratamiento celular puede influir también notablemente sobre el estado de los ligamento periodontales, por una acción directa sobre ellos y también posiblemente mediante una estímulo paracrino de sus proteínas, factores bioactivos liberados sobre las células madre que recientemente se ha señalado existen en el ligamento periodontal (células madre del ligamento periodontal) y en otros tejidos dentarios¹⁷⁷⁻¹⁸³.

A través de estudios, varios autores concordaron con la información de que después del trasplante en defectos óseos, ocurre un incremento del número de

células. Esta proliferación es mantenida con el transcurrir del tiempo formando una mayor cantidad de hueso alveolar. Si es comparada a la cantidad formada solo por células de la superficie ósea, se confirma la hipótesis de que las células mesenquimales indiferenciadas o pluripotentes, residentes en el ligamento periodontal, son capaces de diferenciarse en los diversos tipos celulares que componen el periodonto¹⁸⁴⁻¹⁸⁶.

Se observa en el estudio presentado una notable mejoría en la formación ósea, aunque más lentamente que el resto de los parámetros evaluados. Se ha señalado, en la práctica reciente de los implantes dentales, donde hay que reactivar y estimular el hueso y tarda alrededor de 6 meses para lograr su correcta implantación. La evolución observada tras el implante de CMN se comporta más o menos de un forma similar, y pudiera ser una opción terapéutica regenerativa del hueso preimplante dental. Esta última acción se ha planteado que puede combinarse con la implantación del fragmento óseo infiltrado o recubierto con células madre lo que equivaldría a lo que hoy es conocido como ingeniería de tejido *in situ*^{187, 188}.

A la fecha, muchos estudios han mostrado la efectividad de las células madre en reparación ósea en modelos animales y humanos, donde estas son obtenidas de médula ósea, movilizadas a sangre periférica, o reproducidas en el laboratorio, y llevadas al sitio del defecto, donde se logra el relleno óseo^{185, 189-191}.

Es posible visualizar las CMN como almacenes portadores, en su conjunto, de un cóctel de citoquinas y algunos factores de crecimiento, como factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), TGF- β , IGF, etc. Estos últimos, no solo promueven la regeneración ósea, sino que pudieran contribuir a la

diferenciación de células pluripotentes. Por otro lado, se reporta que estos factores de crecimiento se comportan como agentes mitogénicos en osteoblastos y estimula la migración de células progenitoras mesenquimales. A pesar de esto, la eficacia de la regeneración ósea no está clara, en particular porque no hay reportes de evidencias de la presencia de las proteínas morfogenéticas óseas (BMP), entre los factores de crecimiento, incluso en el plasma rico en plaquetas¹⁵³.

Los mediadores proinflamatorios, como el TNF- α , la IL-1 y la IL-17, inician la destrucción del tejido periodontal a través de la generación de las MMPs y la activación de mecanismos de resorción ósea regidos por la interacción RANKL-RANK, lo cual termina en la diferenciación y activación de los osteoclastos¹⁹². Contrariamente, la IL-10, interleuquina antiinflamatoria producida por los tejidos periodontales, induce la producción de un grupo de proteínas endógenas llamadas inhibidor de metaloproteasas (TIMPs), capaz de inhibir casi cada miembro de la familia de las MMPs de una forma no específica. Además, la IL-10, estimula la producción de la OPG, la cual inhibe potentemente la resorción ósea mediante el impedimento de la unión RANKL-RANK y, por tanto, la apoptosis osteoclástica⁸².

Parece ser que las señales de cese de la resorción ósea están relacionadas, como en las funciones inmunomoduladoras de las células madre mesenquimales, con la liberación de mediadores químicos y la interacción entre las células madre y las células inmunológicas. En los trabajos publicados por Nemeth y cols.¹⁷⁴ y Spaggiari y cols.¹⁹³, se observó que la PGE₂ estimula la producción de IL-10 por los macrófagos y bloquea la diferenciación de monocitos a células dendríticas. Ghannam y cols.¹⁷³, declaran que los

contactos entre las células madre mesenquimales y las células T activadas induce la producción de IL-10.

En la presente investigación se emplearon dos grupos de pacientes aleatorizados y controlados, similares respecto a la composición y alteraciones presentes. Este hecho contribuye positivamente al impacto de las diferencias obtenidas.

El factor estimulante de colonias de granulocitos (FEC-G) es un factor de crecimiento hematopoyético producido por el organismo en cantidades muy pequeñas que regula la formación de los neutrófilos. La producción de FEC-G recombinante ha permitido disponer de las cantidades necesarias para tratar a los pacientes con neutropenia, ya sea adquirida o congénita¹⁹⁴.

Desde hace siete años en el Hospital Provincial Universitario Dr. Gustavo Aldereguía Lima, de la provincia de Cienfuegos, Cuba, se utiliza el ior®-LeukoCIM, un FEC-G recombinante producido por el Centro de Inmunología Molecular de Ciudad de La Habana, Cuba. Este medicamento se administra en forma ambulatoria bajo el control del médico y la enfermera de la familia bajo la premisa del conocimiento, a este nivel de atención de salud, de las posibles reacciones adversas provocadas por este fármaco; entre ellos: dolor óseo, fiebre, hiperuricemia, leucocitosis, neutrofilia, aumento de los niveles de la enzima lactato deshidrogenasa, trombocitopenia, cefalea, náuseas e hipotensión¹⁹⁵.

Pérez y cols.¹⁹⁶, destacan como reacciones adversas al FEC-G más comunes: el dolor óseo y articular y la cefalea. En la mayoría de los casos evaluados por este grupo, la intensidad de las reacciones se evaluó como ligera

Otros autores reportan que en los pacientes tratados con el FEC-G no se detectaron alteraciones en la fisiología y en el estado de salud de los pacientes; ni signos de toxicidad y los efectos secundarios más frecuentes fueron dolores óseos y cefalea, hecho coincidente con la presente investigación^{194, 197}.

El procedimiento empleado para la obtención de las CMN autólogas de periferia es simple, no doloroso, poco traumático y sin molestias significativas para el paciente^{145, 198}.

En otros estudios comunicados en la literatura para el tratamiento de las periodontitis se han empleado procedimientos más traumáticos y dolorosos como es la obtención de células madre de la médula ósea de la cresta ilíaca paciente^{127, 161}.

Desde el punto de vista económico, por el hecho de que las técnicas odontológicas y hematológicas utilizadas se caracterizan por su cotidianidad y sencillez en la práctica médica diaria y por la utilización de materiales de producción nacional, el procedimiento empleado no es costoso. Esto permite la extensión de este proceder a otras instituciones del país que no cuentan con los recursos necesarios para la aplicación de métodos más complejos y costosos como la selección de tipos específicos de células madre y su cultivo^{145, 198, 199}.

Si se definiera la eficacia como la relación entre la cantidad de pacientes con mejorías en el tratamiento y la cantidad de pacientes sin mejorías, de acuerdo a los resultados obtenidos, se puede plantear que el procedimiento empleado es muy eficaz.

Por la similitud de los resultados obtenidos con la mayoría de los reportes de la utilización de las células madre en el tratamiento de la enfermedad periodontal,

se puede plantear que las células mononucleares obtenidas en sangre periférica, después de movilización de células madre de la médula ósea, aún sin fraccionar, son una fuente confiable para la terapia celular. Esto se basa en que en el concentrado de CMN obtenido, existe un conjunto de células madre de distintos tipos que cuando se administran en conjunto representan un verdadero cóctel celular, que puede contribuir a que se establezca una colaboración más integral entre las células administradas para favorecer una regeneración más completa de los tejidos.

A causa del número limitado de estudios similares actualmente disponibles, no se puede realizar una amplia comparación con los resultados obtenidos por otros autores. Referente a la técnica desarrollada en la investigación, no se encontró otro reporte en la literatura.

CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

Con el desarrollo del conocimiento aportado y los resultados obtenidos en la investigación, se le dio repuesta al problema científico en correspondencia con los objetivos propuestos y se corroboró la hipótesis al demostrar que:

- El contenido de células mononucleares autólogas en el concentrado celular utilizado para el implante fue alto.
- El implante de células mononucleares autólogas es eficaz en el tratamiento de los pacientes con periodontitis, la mayoría de los mismos obtuvieron un resultado completo que alcanzó en el tiempo al total de los pacientes tratados.
- Con el implante de células mononucleares, en la periodontitis crónica se obtiene mejoría de los parámetros clínicos y radiográficos, con evidencias de nueva formación ósea.
- Los efectos secundarios más frecuentes al empleo de FEC-G como agente movilizador de células madre a la sangre periférica, son: dolores óseos y cefalea y no se produjeron signos de toxicidad.
- El proceder de implantación no presenta complicaciones.

RECOMENDACIONES

RECOMENDACIONES

- Realizar estudios con un mayor número de pacientes que permitan corroborar la eficacia de los resultados obtenidos en esta investigación.
- Iniciar investigaciones con la incorporación de estas células en procedimientos de ingeniería de tejidos utilizando como soportes celulares a andamios biodegradables que contribuyan a la aceleración de la regeneración ósea, que permitan optimizar la respuesta clínica y permitan crear las bases para su aplicación como paso previo a los implantes dentales.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Lindhe J, Niklaus PL, Thorkild K. Periodontología Clínica e Implantología Odontológica. 5a ed: Médica Panamericana; 2009.
2. Wolf DL, Lamster IB. Contemporary concepts in the diagnosis of periodontal disease. Dent Clin North Am. 2011;55(1):47-61.
3. Carranza F. Periodontología clínica. 9th ed. México DF: Mc Graw-Hill Interamericana; 2004.
4. Botero JE, Bedoya E. Determinantes del diagnóstico periodontal. Rev Clin Perio Implantol Rehabil Oral [serial on the Internet]. 2010 Ago [cited 2013 Abr 23]; 3(2): [about 6 p.]. Available from: http://www.scielo.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0719-01072010000200007&lng=es
5. Borrell LN, Crawford ND. Social disparities in periodontitis among United States adults 1994- 2004. Commun Dent Oral Epidemiol. 2008;36:383-91.
6. Matezans PP, Matos CR, Bascone MA. Enfermedades gingivales: una revisión de la literatura. Avances en Periodoncia. 2008;20(1):11-25.
7. Carrillo MJ, Catillo GM, Hernández RHG, Zermeño IJ. Estudio epidemiológico de las enfermedades periodontales en pacientes que acuden a la facultad de estomatología de la UASLP. Rev ADM. 2000;57(5):205-13.

8. Arrieta VKM, Díaz AC, González FM. Prevalencia de caries y enfermedad periodontal en estudiantes de odontología. Rev Cubana Estomatol. 2011;48(1):6-13.
9. Díaz CA, Vivas RR, Puesta LL, Ahumado MM, Cabrales SR, Herrera HA, et al. Periodontitis, *Porphyromonas gingivalis* y su relación con la expresión de *quorum sensing*. Rev Cubana Estomatol. 2010;47(4):404-16.
10. 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.
11. Cobb CM, Williams KB, Gerkovitch MM. Is the prevalence of periodontitis in the USA in decline? Periodontol 2000. 2009;50:13-24.
12. Dye BA. Global periodontal disease epidemiology. Periodontol 2000. 2012;58:10-25.
13. Borrell LN, Talih M. Examining periodontal disease disparities among U.S. adults 20 years of age and older: NHANES III (1988-1994) and NHANES 1999-2004. Public Health Rep. 2012; 127:497-506.
14. Sabbah W, Tsakos G, Chandola T, Newton T, Kawachi I, Sheiham A, et al. The relationship between social network, social support and periodontal disease among older Americans. J Clin Periodontol. 2011;38:547-52.
15. Esmonde F, Keung L. Epidemiology of periodontitis in the Asia and Oceania regions. Periodontol 2000. 2011;56:25-64.

16. Escudero CN, Perea GMA, Bascones MA. Revisión de la periodontitis crónica: Evolución y su aplicación clínica. *Avances en Periodoncia*. 2008;20(1):27-37.
17. Ruiz CHJ, Herrera BA. La prevalencia de periodontopatías y algunos factores de riesgo en el adulto mayor. *Rev Cubana Invest Biomed*. 2009;28(3):73-82.
18. Cruz HI, Rubio RG, Torres LM. Enfermedad periodontal inmunoinflamatoria crónica. Municipio Fomento. 2010. *Gaceta Médica Espirituana*. 2013;15(1):1-5.
19. Rubio RG, Cruz HI, Torres LM. Estado periodontal e higiene bucal en mayores de 15 años. Área Norte. Sancti Spíritus 2010. *Gaceta Médica Espirituana*. 2013;15(1):1-5.
20. Armitage GC, Robertson PB. The Biology, Prevention, Diagnosis and Treatment of Periodontal Diseases: Scientific Advances un the United States. *J Am Dent Assoc*. 2009; 140:36-43.
21. Si Y, Fan H, Song Y, Zhou X. Association between periodontitis and chronic obstructive pulmonary disease in a Chinese population. *J Periodontol*. 2012;83:1288-96.
22. Alarcón PMA, Proaño de Casalino D, Lizárraga MCM. Evaluación de definiciones de periodontitis para determinar la asociación entre enfermedad periodontal y bajo peso al nacer. Un estudio de casos y controles. *Rev Estomatol Herediana*. 2010;20(2):57-62.
23. Chambrone L, Guglielmetti MR, Pannuti CM, Chambrone LA. Evidence grade associating periodontitis to preterm birth and/or low birth weight: I.

- A systematic review of prospective cohort studies. *J Clin Periodontol*. 2011;38:795-808.
24. Méndez GJA, Armesto CW. Enfermedad periodontal y embarazo [Revisión bibliográfica]. *Rev haban cienc med*. 2008;7(1):1-9.
 25. Luc E, Coulibaly N, Demoersman J, Boutigny H. Dental care during pregnancy. *Schweiz Monatsschr Zahnmed*. 2012;122:1047-63.
 26. García R, Dietrich T. Introduction to periodontal epidemiology. *Periodontol 2000*. 2012;58:7-9.
 27. Cantley MD, Haynes DR, Marino V, Bartold PM. Pre-existing periodontitis exacerbates experimental arthritis in a mouse model. *J Clin Periodontol*. 2011;38:532-41.
 28. Ortiz P, Bissada NF, Palomo L, Han YW, Al-Zahrani MS, Panneerselvam A, et al. Periodontal therapy reduces the severity of active rheumatoid arthritis in patients treated with or without tumor necrosis factor inhibitors. *J Periodontol*. 2009;80(4):535-40.
 29. Del Nero VG. La resorción como proceso inflamatorio. Aproximación a la patogenia de las resorciones dentaria y periodontal. *RCOE set-dez*. 2005;10(5-6):545-56.
 30. Botero J. Respuesta inmune en las enfermedades del periodonto: desde salud hasta enfermedad y sus implicaciones terapéuticas. *Rev Fac Odontol Univ Antioq*. 2009;21(1):122-8.
 31. Heaton B, Dietrich T. Causal theory and the etiology of periodontal diseases. *Periodontol 2000*. 2012;58:26-36.
 32. Lavandeira H. Etiología y terapia de la periodontitis agresiva: estado actual. *Rev Asoc Odontol Argent*. 2008;96(4):309-20.

33. Discepoli N, Bascones MA. Controversias etiológicas, diagnósticas y terapéuticas de la periodontitis agresiva. *Avances en Periodoncia*. 2008;20(1):39-47.
34. Laine ML, Crielaard W, Loos BG. Genetic susceptibility to periodontitis. *Periodontol 2000*. 2012;58:37-68.
35. Pineda GO, De la Portilla L, Guerrero del Ángel F. Regeneración tisular guiada. *Rev Nac Odontol*. 2009;3(1):1-4.
36. Jeom C, Gregory JS. Vaccines against periodontitis: a forward-looking review. *J Periodontal Implant Sci*. 2010;40:153-63.
37. Sujith S, Dřízhal I. Bone grafts in periodontal therapy. *Acta Medica (hradec králové)*. 2008;51(4):203-7.
38. Bullón FP, Rodríguez VL. Tratamiento periodontal: eficacia de las distintas opciones terapéuticas. *Gaceta Dent*. 2010;220:156-64.
39. Gómez CY. Tratamiento periodontal: ¿mecánico, quirúrgico o farmacológico? *Rev Ateneo Argent Odontol*. 2007;45(3):16-21.
40. Mombelli A, Cionca N, Almaghlouth A. Does adjunctive antimicrobial therapy reduce the perceived need for periodontal surgery? *Periodontol 2000*. 2011;55:205-16.
41. Escudero CN, Perea GM, Campo TJ, Bascones MA. Regeneración ósea de un defecto circunferencial de tres paredes con hueso autólogo. *Avances en Periodoncia*. 2008;20(2):103-11.
42. Jun J, Xiaohong W, Minkui L, Nghiem D, Yin X, Fuhua Y. Application of autologous periosteal cells for the regeneration of class III furcation defects in Beagle dogs. *Cytotechnology*. 2010;62:235-43.

43. Chitsazi MT, Shirmohammadi A, Faramarzie M, Pourabbas R, Rostamzadeh A. Clinical comparison of nano-crystalline hydroxyapatite (Ostim) and autogenous bone graft in the treatment of periodontal intra-bony defects. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011;16(3):448-53.
44. Marín RM, San Hipólito ML, Belarra AC, Martín GF, Martínez GJM. Injertos sustitutos no óseos. Aportaciones del ácido poliláctico y poliglicólico. *Av Peridon Implantol*. 2009;2(1):45-52.
45. Hernández RP. Medicina regenerativa II: Aplicaciones, realidad y perspectivas de la terapia celular. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [serial on the Internet]. 2006 Abr [cited 2013 Abr 23]; 22(1):[about 1-33 p.]. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892006000100002&lng=es
46. Pérez BA, Domínguez RL, Ilisástigui OZT, Hernández RP. Utilización de células madre en el tratamiento de defectos óseos periodontales. *Rev Cub Estomatol* [serial on the Internet]. 2009 Dic [cited 2013 Abr 22]; 46(4):[about 6 p.]. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072009000400012&lng=es
47. Pérez Borrego A, Ilisástigui Ortueta ZT, Hernández Ramírez P, Domínguez Rodríguez L, González Iglesias AI, Martínez de Pinillo MdlÁ, et al. Historia de la aplicación de la terapia celular en Periodoncia. *Rev haban cienc med* [serial on the Internet]. 2009 Dic [cited 2013 Abr 22]; 8(5):[about 4 p.]. Available from:

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2009000500002&lng=es

48. Ten Cate AR. Oral histology: development, structure and function. 4th ed. St. Louis: Mosby; 1994.
49. Lindhe J. Textbook of clinical periodontology. 2nd ed. Copenhagen: Munksgaard; 1989.
50. Genco R, Goldman H. Periodoncia. México D.F.: Editorial Interamericana y McGraw-Hill; 1993.
51. Marrios G. Periodoncia: su fundamento biológico. 1^a ed. Bogotá: OP Gráficas; 1989.
52. McCulloch CA, Nemeth E, Lowenberg B, Melcher AH. Paravascular cells in endosteal spaces of alveolar bone contribute to periodontal ligament cell population. Anat Rec. 1987; 219:233-42.
53. Estrela C, de Alencar GAE, Kitten TG, Vencio FE, Gava E. Mesenchymal Stem Cells in the Dental Tissues: Perspectives for Tissue Regeneration. Braz Dent J. 2011;22(2):91-8.
54. Yang Z, Jin F, Zhang X. Tissue engineering of cementum/periodontal-ligament complex using a novel three-dimensional pellet cultivation system for human periodontal ligament stem cells. Tissue Eng Part C Methods. 2009;15:571-81.
55. Coura GS, Garcez RC, De Aguiar CBNM, Alvarez-Silva M, Magini RS, Trentin AG. Human periodontal ligament: a niche of neural crest stem cells. J periodon research. 2008;43(5):531-6.
56. Hynes K, Menicanin D, Gronthos S, Bartold M. Clinical utility of stem cells for periodontal regeneration. Periodontol 2000. 2012;59:203-27.

57. Offenbacher S, Barros SP, Altarawneh S, Beck JD. Impact of tooth loss on oral and systemic health. *Gen Dent*. 2012;60:494-500.
58. Jansen Van Rensburg BG. *Oral biology*. Neuburg: Quintessence Publishing Co; 1995.
59. Rendón J, Jiménez LP, Urrego PA. Células madre en odontología. *Rev CES Odont*. 2011;24(1):51-8.
60. Kadkhodazadeh M, Tabari ZA, Ardakani MR, Ebadian AR. Analysis of osteoprotegerin (OPG) gene polymorphism in Iranian patients with chronic periodontitis and peri-implantitis. A cross-sectional study. *Eur J Oral Implantol*. 2012;5:381-8.
61. Pérez RAO. Proceso inflamatorio. In: Pérez RAO, editor. *El estomatólogo su relación con el dolor y la sangre*. La Habana: Editorial Ciencias Médicas; 2008. p. 119-70.
62. Kumar RS, Prakash S. Impaired neutrophil and monocyte chemotaxis in chronic and aggressive periodontitis and effects of periodontal therapy. *Indian J Dent Res*. 2012; 23:69-74.
63. Wilensky A, Polak D, Awawdi S, Halabi A, Shapira L, Houry-Haddad Y. Strain-dependent activation of the mouse immune response is correlated with *Porphyromonas gingivalis*-induced experimental periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2009;36:915-21.
64. Lohinai Z, Keremi B, Szoko E, Tabi T. Bacterial lysine decarboxylase influences human dental biofilm lysine content, biofilm accumulation, and subclinical gingival inflammation. *J Periodontol*. 2012;83:1048-56.
65. Cochran DL. Inflammation and Bone Loss in Periodontal Disease. *J Periodontol*. 2008;79(8):1569-76.

66. Choi H, Lim W, Kim I, Kim J. Inflammatory cytokines are suppressed by light-emitting diode irradiation of *P. gingivalis* LPS-treated human gingival fibroblasts: inflammatory cytokine changes by LED irradiation. . *Lasers Med Sci.* 2012;27:459-67.
67. Ebersole JL, Taubman MA. The protective nature of host responses in periodontal diseases. *Periodontol 2000.* 1994;5:112-41.
68. Trombelli L, Farina R, Minenna L, Carrieri A, Scapoli C, Tatakis DN. Experimental gingivitis: reproducibility of plaque accumulation and gingival inflammation parameters in selected populations during a repeat trial. *J clin periodontol.* 2008;35(1):955-60.
69. Giannobile WV. Host-response therapeutics for periodontal diseases. *J periodontol.* 2008;79(8):1592-600.
70. Hajishengallis G, Lambris JD. Complement and dysbiosis in periodontal disease. *Immunol.* 2012;217:1111-6.
71. Daoussis D, Andonopoulos AP, Liossis SN. Wnt pathway and IL-17: novel regulators of joint remodeling in rheumatic diseases. Looking beyond the RANK-RANKL-OPG axis. *Semin Arthritis Rheum.* 2010;39:369-83.
72. Morandini ACdF, Sipert CR, Ramos-Junior ES, Brozoski DT, Santos CF. Periodontal ligament and gingival fibroblasts participate in the production of TGF- β , interleukin (IL)-8 and IL-10. *Braz Oral Res.* 2011;25(2):157-62.
73. Morandini AC, Sipert CR, Gasparoto TH, Gregghi SL, Passanezi E, Rezende ML, et al. Differential production of macrophage inflammatory protein-1 α , stromal-derived factor-1, and IL-6 by human cultured

- periodontal ligament and gingival fibroblasts challenged with lipopolysaccharide from *P. gingivalis*. J Periodontol. 2010;81(2):310-7.
74. Manel N, Unutmaz D, Littman DR. The differentiation of human TH-17 cells requires transforming growth factor- and induction of the nuclear receptor ROR γ t. Nature Immunol. 2008;9:641 - 9.
 75. Ishida K, Kobayashi T, Ito S, Komatsu Y. Interleukin-6 gene promoter methylation in rheumatoid arthritis and chronic periodontitis. J Periodontol. 2012;83:917-25.
 76. Korn T, Bettelli E, Oukka M, Kuchroo VK. IL-17 and Th17 Cells. Annu Rev Immunol. 2009;27(1):485-517.
 77. Gonçalves LD, Oliveira G, Hurtado PA, Feitosa A, Takiya CM, Granjeiro JM, et al. Expression of metalloproteinases and their tissue inhibitors in inflamed gingival biopsies. J Periodontal Res. 2008; 43:570-7.
 78. Cochran DL. Inflammation and Bone Loss in Periodontal Disease. J Periodontol. 2008;79(8 Supl 2):1569-76.
 79. Liu C, Walter TS, Huang P. Structural and functional insights of RANKL-RANK interaction and signaling. J Immunol. 2010;184(12):6910-9.
 80. Trouvin A-P, Goëb V. Receptor activator of nuclear factor- κ B ligand and osteoprotegerin: maintaining the balance to prevent bone loss. Clinical Interventions Aging. 2010;5:345-54.
 81. Kearns AE, Khosla S, Kostenuik PJ. Receptor activator of nuclear factor κ B ligand and osteoprotegerin regulation of bone remodeling in health and disease. Endocr Rev. 2008;29(2):155-92.

82. Garlet GP. Destructive and protective roles of cytokines in periodontitis: a re-appraisal from host defense and tissue destruction viewpoints. *J Dent Res.* 2010;89(12):1349-63.
83. Miossec P, Korn T, Kuchroo VK. Interleukin-17 and Type 17 Helper T Cells. *N Engl J Med.* 2009; 361:888-98.
84. Petersen PE, Baehni PC. Periodontal health and global public health. *Periodontol 2000.* 2012;60:7-14.
85. Dentino A, Lee S, Mailhot J, Hefti AF. Principios de periodontology. *Periodontol 2000.* 2013;61:16-53.
86. Sensorn W, Chatrchaiwiwatana S, Bumrerraj S. Relationship between diabetes mellitus and tooth loss in adults residing in Ubonratchathani province, Thailand. *J Med Assoc Thai.* 2012;95:1593-605.
87. Tcacencu I, Karlström E, Cedervall J, Wendel M. Transplanted Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells Seeded onto Peptide Hydrogel Decrease Alveolar Bone Loss. *Biores Open Access.* 2012;1(5):215-21.
88. Crawford RW, Tredwin C, Moles D, Gill D. Smile esthetics: the influence of posterior maxillary gingival margin position. *J Prosthodont.* 2012;21:270-8.
89. Nishimura F, Iwashita M, Yamashita A. Periodontal disease. *Nihon Rinsho.* 2012;70 Suppl 5:499-502.
90. Caffese R, Watchtel HC. Surgical periodontal therapy. In: Weinmann JP, editor. *Proceedings of 1st European Workshop on Periodontology.* 2^a ed. México: Nueva Editorial Interamericana; 1989. p. 159.

91. Torrungruang K, Bandhaya P, Likittanasombat K, Grittayaphong C. Relationship between the presence of certain bacterial pathogens and periodontal status of urban Thai adults. *J Periodontol.* 2009;80:122-9.
92. Ardila CM, Granada MI, Guzmán IC. Antibiotic resistance of subgingival species in chronic periodontitis patients. *J Periodontal Res.* 2010; 45:557-63.
93. Hernández PR. Medicina regenerativa y aplicaciones de las células madre: una nueva revolución en medicina. *Rev cubana med [serial on the Internet].* 2011 Dic [cited 2012 Nov 25]; 50(4):[about 3 p.]. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75232011000400001&lng=es
94. Körbling M, de Lima MJ, Thomas E, Khanna A, Najjar AM, Gu J, et al. Fusion of circulating blood cells with solid organ tissue cells in clinical stem cell transplant: A potential therapeutic model? *Regen Med.* 2008; 3:157-64.
95. Park IH, Zhao R, West JA, Yabuuchi A, Huo H, Ince TA. Reprogramming of human somatic cells to pluripotency with defined factors. *Nature.* 2008;451:1.
96. Nagata MJH, Melo LGN, Messoria MR, Bomfim SRM, Fucini SE, Garcia VG, et al. Effect of platelet-rich plasma on bone healing of autogenous bone grafts in critical-size defects. *J Clin Periodontol.* 2009;36:775-83.
97. Sood S, Gupta S, Mahendra A. Gene therapy with growth factors for periodontal tissue engineering [Review]. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal.* 2012;17(2):301-8.

98. Cavagnari BM. Terapia génica: los ácidos nucleicos como fármacos. Mecanismos de acción y vías de entrega a la célula. Arch Argent Pediatr. 2011;109(3):237-44.
99. Hughes-Fulford M, Li CF. The role of FGF-2 and BMP-2 in regulation of gene induction, cell proliferation and mineralization. J Orthop Surg Res. 2011;6(1):8.
100. Velazco G, . ACTA BIOCLINICA. Ingeniería de tejidos y andamios de regeneración celular. Acta Bioclin. 2011 Jun;1(1):1-5.
101. Stavropoulos A, Wikesjö UM. Growth and differentiation factors for periodontal regeneration: a review on factors with clinical testing. J Periodontal Res. 2012; 47:545-53.
102. Hernández PR, Dorticós E. Medicina Regenerativa. Células madre embrionarias y adultas. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [serial on the Internet]. 2009; 25(1): Available from: http://bvs.sld.cu/revistas/hih/vol25_1_09/hih02109.htm
103. Hernández PR. Medicina regenerativa y células madre. Mecanismos de acción de las células madre adultas. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [serial on the Internet]. 2009 Abr [cited 2012 Nov 22]; 25(1): Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892009000100002&lng=es
104. Mason C, Dunnill P. A brief definition of regenerative medicine. Regen Med. 2008; 3:1-5.
105. Bergel SD. Células madre y libertad de investigación. Rev Bioética. 2009;17(1):34-9.

106. Bischoff DS, Makhijani NS, Yamaguchi DT. Constitutive Expression of Human Telomerase Enhances the Proliferation Potential of Human Mesenchymal Stem Cells. *Biores Open Access*. 2012;1(6):273-9.
107. Hemmat S, Lieberman DM, Most SP. An introduction to stem cell biology. *Facial Plast Surg*. 2012;26(5):343-9.
108. Rondon J, Jiménez LP, Urrego PA. Células madre en odontología. *Rev CES Odontol*. 2011;24(1):51-8.
109. Haseltine WA. The emergence of regenerative medicine: A new field and a new society. *J Regen Med*. 2001; 2:17.
110. Lowry WE, Richter L, Yachechko R, Pyle AD, Tchieu J, Sridharan R, et al. Generation of human induced pluripotent stem cells from dermal fibroblast. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008;105:2883-8.
111. Reyes-Juárez JL, Zarain-Herzberg Á. Terapia génica en la insuficiencia cardiaca. *Arch Cardiol Mex [serial on the Internet]*. 2009 Jun [cited 2012 Nov 22]; 79(2):[about 147-56 p.]. Available from: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-99402009000200013&lng=es
112. Gneocchi M, Zhang Z, Ni A, Dzau V. Paracrine mechanism in adult stem cell signaling and therapy. *Cir Res*. 2008; 103:1204-19.
113. Gratwohl A, Baldomero H, Honsberger B, Schmid C, Passweg J, Urbano-Ispizua A. Current trends in hematopoietic stem cell transplantation in Europe. *Blood*. 2002;100:2374-86.
114. Del Rio NM. Avances en medicina regenerativa y terapia génica en dermatología. *Piel*. 2008;23(10):537-9.

115. Carnot UJ. Logros y perspectivas del transplante de células hematopoyéticas en Cuba. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.* 2012;28(2):108-10.
116. Zhen T, Qing Z, Ping G, Yang W, Na W, Quan Y, et al. Research on promoting periodontal regeneration with human basic fibroblast growth factor-modified bone marrow mesenchymal stromal cell gene therapy. *Cytotherapy.* 2009;11(2):317-25.
117. Acevedo TPA, Cortés MMM. Células madre: generalidades, eventos biológicos y moleculares. *Iatreia.* 2008 Sep;21(3):15.
118. Munévar JCN, del Pilar ABC, Bermúdez CO. Aspectos celulares y moleculares de las células madre involucrados en la regeneración de tejidos con aplicaciones en la práctica clínica odontológica. *Acta Odontol Venezolana.* 2008;46(3):1-12.
119. Boissonneault G. Diabetes: exploring a periodontal connection. *JAAPA.* 2012;25:18.
120. Sarasúa GJ, López PS, Viejo ÁM, Basterrechea PM, Rodríguez FA, Gutiérrez FA, et al. Treatment of pressure ulcers with autologous bone marrow nuclear cells in patients with spinal cord injury. *J Spinal Cord Med.* 2011;34(3):301-7.
121. Ratajczak MZ, Zuba-Surma EK, Wysoczynski M, Ratajczak J, Kucia M. Very small embryonic-like stem cells: characterization, developmental origin, and biological significance. *Exp Hematol.* 2008;36:742-51.
122. Zuba-Surma EK, Kucia M, Ratajczak J, Ratajczak MZ. Small stem cells in adult tissues: Very small embryonic-like stem cells stand up! *Cytometry.* 2009;75A:4-13.

123. Avanzini MA, Bernardo ME, Cometa AM, Perotti C, Zaffaroni N, Novara F, et al. Generation of mesenchymal stromal cells in the presence of platelet lysate: a phenotypic and functional comparison of umbilical cord blood- and bone marrow-derived progenitors. *Haematol.* 2009;94:1649-60.
124. Bianco P, Gehron PR, Saggio I, Riminucci M. "Mesenchymal" Stem Cells in Human Bone Marrow (Skeletal Stem Cells): A Critical Discussion of Their Nature, Identity, and Significance in Incurable Skeletal Disease. *Human Gene Therapy.* 2010;21(9):1057-66.
125. Kawaguchi H, Hirachi A, Hsegawa N. Enhancement of periodontal tissue regeneration by transplantation of bone marrow mesenchymal stem cells. *J Periodontol.* 2004;75:1281-7.
126. Kawaguchi H, Hirachi A, Mizuno N. Cell transplantation for periodontal diseases: a novel periodontal tissue regenerative therapy using bone marrow mesenchymal stem cells. *Clin Calcium.* 2005;15:1197-202.
127. Yoichi Y, Minoru U, Shunsuke B, Hideharu H. Nueva técnica de regeneración de tejidos periodontales con células madre mesenquimales y plasma rico en plaquetas mediante tecnología de ingeniería tisular: Caso clínico. *Rev Internac Odontol Rest Perio.* 2006;10(4):371-7.
128. Haider HK, Jiang S, Idris NM, Ashraf M. IGF-1–Overexpressing Mesenchymal Stem Cells Accelerate Bone Marrow Stem Cell Mobilization via Paracrine Activation of SDF-1 α /CXCR4 Signaling to Promote Myocardial Repair. *Cir Res.* 2008; 103:1300-8.

129. Laricchia-Robbio L, Nucifora G. Significant increase of self-renewal in hematopoietic cells after forced expression of EVI1. *Blood Cells Mol Dis.* 2008;40:141-7.
130. Bernard P, Fleming A, Lacombe A, Harley VR, Vilain E. Wnt4 inhibits beta-catenin/TCF signalling by redirecting beta-catenin to the cell membrane. *J Biol Cell.* 2008;100:167-77.
131. Liu G, Vijayakumar S, Grumolato L. Canonical Wnts function as potent regulators of osteogenesis by human mesenchymal stem cells. *J Cell Biol.* 2009; 185:67-75.
132. Lin T, Jones RJ, Matsui W. Cancer stem cells: relevance to SCT. *Bone Marrow transplantation.* 2009;43:517-23.
133. Liu J, Sato C, Cerletti M, Wagers A. Notch signaling in the regulation of stem cell self-renewal and differentiation. *Curr Top Dev Biol.* 2012; 92:367-409.
134. Kalderon D. Transducing the Hedgehog signal. *Cell.* 2000;103:371-4.
135. Grinstein PW. Cellular signaling in normal and cancerous stem cells. *Cell Signal.* 2007;19:2428-33.
136. McGinnis W, Krumlauf R. Homeobox genes and axial patterning. *Cell.* 1992;68(283-302)
137. Pierantozzi E, Gava B, Manini I, Roviello F, Marotta G, Chiavarelli M, et al. Pluripotency Regulators in Human Mesenchymal Stem Cells: Expression of NANOG But Not of OCT-4 and SOX-2. *Stem Cells Dev.* 2011;20(5):915-23.

138. Colnot C, Zhang X, Tate MLK. Current insights on the regenerative potential of the periosteum: Molecular, cellular, and endogenous engineering approaches. *J Orthop Res.* 2012; 30:1869-78.
139. Blank U, Karlsson G, Karlsson S. Signaling pathways governing stem-cell fat. *Blood.* 2008;111:492-503.
140. Makio OM, LaRue AC, Watson PM, Watson DK. Hematopoietic stem cell origin of mesenchymal cells: opportunity for novel therapeutic approaches. *Int J Hematol.* 2010;91:353-9.
141. Moreno DLA, Zarante IM. ¿Sacaremos cerebros de la sangre? Estado del arte de la transdiferenciación celular. *Universitas Médicas.* 2006;47(1):24-34.
142. Bieback K, Hecker A, Kocaömer A, Lannert H, Schallmoser K, Strunk D, et al. Human alternatives to fetal bovine serum for the expansion of mesenchymal stromal cells from bone marrow. *Stem Cells.* 2009;27(9):2331-41.
143. Goicoechea DP, Hernández RP, Artaza SH, Cortina RL, Marsán SV, Peña QY, et al. Terapia celular en el tratamiento de linfedema de miembros inferiores [Presentación de un caso]. *Revista Cubana de Hematología, Inmunología y Hemoterapia.* 2010;26(4):352-8.
144. Velazco G. Ingeniería de tejidos y andamios de regeneración celular. *Acta Bioclin.* 2011;1(1):1-2.
145. Cortina L, Hernández P, López De Roux MR, Artaza HM, Dorticós E, Macías C, et al. Aislamiento de células mononucleares de sangre periférica para trasplante de células madre: método simplificado. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [serial on the Internet]. 2008 Dic

- [cited 2013 Abr 22]; 24(3):[about 11 p.]. Available from:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892008000300004&lng=es&nrm=iso&tlng=es
146. González IAI, Forrellat BM, Fernández DN, Hernández RP. Movilización de progenitores hematopoyéticos en mayores de 60 años. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [serial on the Internet]. 2012 Jun [cited 2013 Abr 16]; 28(2):[about 2 p.]. Available from:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892012000200010&lng=es
147. Whaites E. Essentials of dental radiography and radiology. 3th ed. China: Churchill Livingstone; 2005.
148. White SC. Radiología oral, principios e interpretación. 4th ed. Madrid: Ediciones Hartcourt; 2002.
149. Carranza FA, Sznajder NG. Compendio de Periodoncia. 5th ed. Madrid: Médica Panamericana; 1996.
150. Aldana L, Bacardí D, Merino N, Cosme K, Porras D, Carreras I, et al. Evaluación de la seguridad del factor estimulador de colonias de granulocitos producido por el CIGB. Biotecnol Aplic. 2005;22(1):45-9.
151. Mendoza HI, Cachimaille BY, Guerra CPP, Robaina GM, Damaso FJ, Wilford de León M, et al. Impacto en la asistencia médica cubana de la extensión nacional del lor® LeukoCIM a través de ensayos clínicos. Centro Nacional Coordinador de Ensayos Clínicos [serial on the Internet]. 2009 [cited 2012 Ago 10]; 44 supl 2:[about 10 p.]. Available from:
http://bvs.sld.cu/revistas/far/vol44_sup2_10/Impacto%20en%20la%20asi

stencia%20medica%20cubana%20de%20la%20extension%20nacional
%20del%20ior%20LeukoCIM%20a%20traves%20de%20EC.pdf

152. WMA World Medical Association. Declaration of Helsinki - Ethical Principles for Medical Research Involving Human Subjects. 59th ed. Seoul: WMA 2011 World Medical Association, Inc; 2008.
153. Tobita M, Uysal CA, Ogawa R, Hyakusoku H, Mizuno H. Periodontal Tissue Regeneration with Adipose-Derived Stem Cells. *Tissue Eng Part A*. 2008;14(6):945-53.
154. Carini F, Menchini FGB, 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* [serial on the Internet]. 2011 Ago [cited 2012 May 04]; 23(2):[about 10 p.]. Available from: http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1699-65852011000200003&lng=es
155. Zhao Q, Gong P, Tan Z, Tang X. Differentiation control of transplanted mesenchymal stem cells (MSCs): a new possible strategy to promote periodontal regeneration. *Med Hypotheses*. 2008;70(5):944-7.
156. Flaquer M, Romagnani P, Cruzado JM. Factores de crecimiento y regeneración renal. *Nefrología*. 2010;30(4):385-93.
157. Suárez de Lezo J, Herrera C, Romero MA, Pan M, Jiménez R, Carmona D, et al. Recuperación funcional tras infusión intracoronaria de células mononucleadas de médula ósea autóloga en pacientes con infarto crónico anterior y depresión severa de la función ventricular. *Rev Esp Cardiol*. 2010;63(10):1127-35.

158. Terzic A, Perez-Terzic C. Terapia celular para la insuficiencia cardiaca. Rev Esp Cardiol. 2010;63(10):1117-9.
159. Baganet CAM, Hernández RP, Fernández DN, Forrellat BM, González IAI, Pérez FE, 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 [serial on the Internet]. 2010 Dic [cited 2012 Abr 17]; 26(3):[about 6 p.]. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892010000300010&lng=es
160. García OD. Suelo pélvico: células madre aplicadas a la incontinencia urinaria. Enfuro. 2008;108:19-24.
161. Torres RLE, Marimón TME, Morejón AFC, Camacho DR, León AL. Autotrasplante de células madre adultas en defecto óseo de rama mandibular por quiste dentígero. Rev Ciencias Médicas [serial on the Internet]. 2011 Dic [cited 2013 Abr 08]; 15(4):[about 12 p.]. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1561-31942011000400010&lng=es
162. Naranjo R, Duque S, Correa T, Sanín G. Evaluación clínica de la osteointegración de implantes con plasma rico en plaquetas y hueso liofilizado en pacientes con pérdida dentoalveolar por trauma en el sector anterior: Primera fase. Rev Fac Odontol Univer Antioquia. 2009;20(2):149-60.

163. Yamada Y, Nakamura S, Ueda M, Ito K. Osteotome technique with injectable tissue-engineered bone and simultaneous implant placement by cell therapy. *Clin Oral Impl Res.* 2013; 24:468-74.
164. Yamada Y, Nakamura S, Ito K, Umemura E, Hara K, Nagasaka T, et al. Injectable Bone Tissue Engineering Using Expanded Mesenchymal Stem Cells. *Stem Cells.* 2013;31:572-80.
165. 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 limbs ischemia disease. *Zhonghua Xue Ye Xue Za Zhi.* 2011 Feb;32(2):112-4.
166. Singer N, Caplan A. Mesenchymal stem cells: Mechanisms of inflammation. *Annu Rev Pathol Mech Dis.* 2011;6:457-78.
167. Yufang S, Juanjuan S, Arthur IR, Peishun S, Rabson AB, Guangwen R. How mesenchymal stem cells interact with tissue immune responses. *Trends Immunol.* 2012;33(3):136-43.
168. Koning JJ, Kooij G, De Vries HE, Nolte MA, Mebius R. Mesenchymal stem cells are mobilized from the bone marrow during inflammation. *Front Immunol.* 2013;4:49.
169. Urbán VS, Kiss J, Kovács J, Góczy E, Vas V, Monostori E, et al. Mesenchymal stem cells cooperate with bone marrow cells in therapy of diabetes. *Stem Cells.* 2008;26(1):244-53.
170. Youn OJ, Kum KM, Sun SM, Ju Lee H, Hwa KJ, Ryang WW, et al. The Anti-Inflammatory and Anti-Angiogenic Role of Mesenchymal Stem Cells in Corneal Wound Healing Following Chemical Injury. *Stem Cells.* 2008;26(4):1047-55.

171. Li Z, Jiang CM, An S, Cheng Q, Huang YF, Wang YT, et al. Immunomodulatory properties of dental tissue-derived mesenchymal stem cells. *Oral Dis.* [Journal article]. In press 2013.
172. Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nature Rev.* 2008; 8:726-36.
173. Ghannam S, Bouffi C, Djouad F, Jorgensen C, Noël D. Immunosuppression by mesenchymal stem cells: mechanisms and clinical applications. *Stem Cells Res Ther.* 2010;1(2):1-7.
174. Nemeth K, Leelahavanichkul A, Yuen PS, Mayer B, Parmelee A, Doi K, et al. Bone marrow stromal cells attenuate sepsis via prostaglandin E2-dependent reprogramming of host macrophages to increase their interleukin-10 production. *Nat Med.* 2009; 15:42-9.
175. López NJ, Chamorro A, Llancequeo M. Association between atherosclerosis and periodontitis. *Rev Med Chile.* 2011;139:717-24.
176. Lin NH, Gronthos S, Bartold P. Stem cells and periodontal regeneration. *Aust Dent J.* 2008; 53:108-21.
177. Yang ZH, Zhang XJ, Dang NN, Ma ZF, Xu L, Wu JJ, et al. Apical tooth germ cell-conditioned medium enhances the differentiation of periodontal ligament stem cells into cementum/periodontal ligament-like tissues. *J Periodon Res.* 2009; 44:199-210.
178. Tour G, Wendel M, Moll G, Tcacencu I. Bone Repair Using Periodontal Ligament Progenitor Cell-seeded Constructs. *J Dent Res.* 2012; 91:789.
179. Maher A, Gil RC, Fabregat M, García FD, Barajas M, Carrasco MA. Dental pulp of the third molar: a new source of pluripotent-like stem cells. *J Cell Sci.* 2012;125:3343-56.

180. Magallanes FM, Carmona RB, Álvarez PMA. Aislamiento y caracterización parcial de células madre de pulpa dental. *Rev Odontol Mex.* 2010;14(1):15-20.
181. Huang GT, Gronthos D, Shi S. Mesenchymal Stem Cells Derived from Dental Tissues vs. Those from Other Sources: Their Biology and Role in Regenerative Medicine. *J Dent Res.* 2009;88(9):792-806.
182. Sonoyama W, Liu Y, Yamaza T, Tuan RS, Wang S, Shi S, et al. Characterization of the apical papilla and its residing stem cells from human immature permanent teeth: a pilot study. *J Endod.* 2008;34:166-71.
183. Yan X, Qin H, Qu C, Tuan RS, Shi S, Huang GT. iPS cells reprogrammed from human mesenchymal-like stem/progenitor cells of dental tissue origin. *Stem Cells Dev.* 2010; 19:469-80.
184. do Nascimento D, Diógenes AUR, Cavalcanti SF, Pina GG, Gordón NMA, Meira BP. La participación de las células-tronco en la regeneración periodontal. *Acta Odontol Venezolana.* 2010;48(2):1-12.
185. Bradley SM. La matriz de injerto que contiene células progenitoras favorece la regeneración periodontal: reporte de un caso. *Rev Internac Odontol Rest Perio.* 2011;15(2):148-55.
186. Pérez Bórrego A, Domínguez Rodríguez L, Ilisástigui Ortueta ZT. De la Terapia Celular a la Regeneración Periodontal. *Rev haban cienc med [serial on the Internet].* 2009 Jun [cited 2013 Abr 16]; 8(2):[about 11 p.]. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2009000200007&lng=es

187. Simsek SB, Keles GC, Baris S, Cetinkaya BO. Comparison of mesenchymal stem cells and autogenous cortical bone graft in the treatment of class II furcation defects in dogs. *Clin Oral Investig*. 2012;16(1):251-8.
188. Jayakumar A, Rajababu P, Rohini S, Butchibabu K, Naveen A, Reddy P, et al. Multi-centre, randomized clinical trial on the efficacy and safety of recombinant human platelet-derived growth factor with β -tricalcium phosphate in human intra-osseous periodontal defects. *J Clin Periodontol*. 2011;38:163-72.
189. Carrasco J, Bonete D, Gomar F. Plasma Rico en Plaquetas vs. Plasma rico en factores de crecimiento. *Rev Esp Cir Osteoart*. 2009;239(46):127.
190. González GJA, Gámez PA, Rodríguez OC, Cruz SP, López GE, González CF, et al. Terapia celular en fractura del fémur. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter* [serial on the Internet]. 2012 Mar [cited 2013 Abr 08]; 28(1):[about 6 p.]. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892012000100010&lng=es
191. Bai LW, Wei S, Zhen CS, Nian FZ, De BY, Wan SG, et al. Treatment of nontraumatic osteonecrosis of the femoral head with the implantation of core decompression and concentrated autologous bone marrow containing mononuclear cells. *Arch Orthopae Trau Sur*. 2010;130(7):859-65.
192. Claudino M, Trombone APF, Cardoso CR, Ferreira Jr SB, Martins Jr W, Assis GF, et al. The broad effects of the functional IL-10 promoter-592 polymorphism: modulation of IL-10, TIMP-3, and OPG expression and

- their association with periodontal disease outcome. *J Leukoc Biol.* 2008; 84:1565-73.
193. Spaggiari GM, Abdelrazik H, Becchetti F, Moretta L. MSCs inhibit monocytederived DC maturation and function by selectively interfering with the generation of immature DCs: central role of MSC-derived prostaglandin E2. *Blood.* 2009;113:6576-83.
194. Socarrás FBB, Macías AC, del Valle PL, Marsán SV, Vergara CJ, Lam DRM, et al. Comparación de la actividad de 2 factores estimuladores de colonias de granulocitos de producción nacional: Hebevital y Leukocim. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.* 2011;27(4):429-34.
195. Alfonso Valdés ME, Bencomo Hernández AA, Macías Abraham C, Ballester Santovenia JM. Desarrollo de la Medicina Transfusional en el Instituto de Hematología e Inmunología en el período 1996-2010. *Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter.* 2011;27(1)
196. Pérez RL, Fernández ÁJD, Ramos CAM. Factor estimulante de colonias de granulocitos en el tratamiento ambulatorio de la neutropenia posterior a la quimioterapia. *Rev Panam Salud Publica [serial on the Internet].* 2009 Sep [cited 2013 May 12]; 26(3):[about 2 p.]. Available from: http://www.scielosp.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1020-49892009000900013&lng=en
197. Ávila PLM, Ospino B, Franco CA, Arroyo F, Ávila J, Pareja L, et al. Efectos del uso del factor estimulante de colonias granulocíticas en la obtención de células madre en un grupo de pacientes con enfermedad arterial oclusiva crónica. *Rev Colomb Cienc Quím Farm.* 2010;39(2):122-31.

198. González IAI, Forrellat BM, González ST, Salgado AO, Fernández DND, Hernández RP, et al. Obtención y procesamiento de progenitores hematopoyéticos de sangre periférica para terapia celular en enfermedades angiológicas. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [serial on the Internet]. 2011 Sep [cited 2013 Abr 12]; 27(3):[about 8 p.]. Available from: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892011000300012&lng=es
199. Hynes K, Menicanin D, Gronthos S, Bartold PM. Clinical utility of stem cells for periodontal regeneration. Periodontol 2000. 2012;59(1):203-27.

Desarrollo de la Medicina Transfusional en el Instituto de Hematología e
Inmunología en el período 1996-2010

Alfonso-Valdés, María E.; Bencomo-Hernández, Antonio A.; Macías-Abraham,
Consuelo; Ballester-Santovenia, José M.

· resumen en Español | Inglés · texto en Español · pdf en Español

ANEXOS

ANEXOS

Anexo 1. Recolección de los datos

Utilización de células mononucleares autólogas en el tratamiento de la periodontitis crónica

Planilla de recolección de datos:

No. De orden _____

No. de Historia Clínica _____ Edad _____ Sexo _____

Grupo estudio _____ Grupo control _____

EVALUACIÓN: _____

DERECHA

IZQUIERDA

																	Dientes afectados.
																	Sangrado al sondeo
																	Bolsa periodontal
																	Movilidad dentaria
																	Pérdida de inserción
7	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6	7				
																	Pérdida de inserción
																	Movilidad dentaria
																	Bolsa periodontal
																	Sangrado al sondeo
																	Dientes afectados

SEÑALAR CON "X"

Número de dientes afectados _____

Puntos de sangrado al sondeo _____

Número de bolsas periodontales _____

Número de dientes con movilidad _____

Medidas de pérdida de inserción: Se colocara la pérdida en el espacio señalado en cada defecto.

a) < 1,5 mm b) 1,5 a 1,9 mm c) 2,0 a 2,9 mm

d) 3 a 4,9 mm e) 5 mm o más

Evaluación radiográfica:

Se tomará dos defectos por paciente, los más graves y se hará la evaluación radiográfica según clasificación de 1, 2, 3 o 4.

Fecha: _____

Anexo 2. Documento de Consentimiento Informado

Consentimiento para la inclusión en el proyecto de investigación: Autotrasplante de células mononucleares autólogas en pacientes con periodontitis crónica

El que suscribe: _____

hago constar que por este medio doy mi autorización para la inclusión en este ensayo clínico después de haber recibido una explicación detallada suministrada por la Dra. Amparo Pérez Borrego sobre las características y posibilidades de este tratamiento en el tipo de enfermedad que padezco.

Con respecto a la periodontitis crónica se me señaló que es la segunda causa de mortalidad dentaria, que produce daño en los tejidos de protección del diente y pérdida de los tejidos de inserción y como consecuencia puede provocar la pérdida del mismo.

Con respecto a la periodontitis crónica se me señaló que es la segunda causa de mortalidad dentaria, que produce daño en los tejidos de protección del diente y pérdida de los tejidos de inserción y como consecuencia puede provocar la pérdida del mismo.

Se me ha explicado que en los últimos años se han desarrollado algunos tipos de tratamiento que aun se mantienen en fase experimental para mejorar la calidad de los tejidos periodontales afectados. Entre estas nuevas terapéuticas incorporadas está el autotrasplante de células mononucleares de periferia, movilizadas de la médula ósea del propio enfermo con la finalidad de aportar factores y células que puedan mejorar la calidad de los tejidos que protegen y soportan al diente. Este último es el tipo de tratamiento que se me ha planteado y que pudiera evitarme la pérdida dentaria.

Se me ha informado que en el Instituto de Hematología e Inmunología existe experiencia en la obtención de las células de la médula ósea en sangre periférica sin que se hayan comunicado manifestaciones secundarias en las personas donantes. Además se me ha señalado que el estudio tiene dos grupos: en uno se recibirán células de la médula ósea concentradas en sangre periférica y en el otro el tratamiento habitual. La inclusión en uno u otro grupo será realizada al azar. Posteriormente las células obtenidas serán inyectadas en los diferentes sitios afectados después de realizada los procedimientos de raspado y alisado y/o quirúrgicos convencionales bajo anestesia de la región y que se efectuará en el salón de operaciones del departamento de Cirugía Maxilo Facial y la extracción de la muestra en el Banco de Sangre del IHI. Tengo conocimiento además que el acto quirúrgico pudiera ser extenso y que esto puede limitar, durante varios días, la masticación y la comunicación.

Tengo conocimiento que este es un tipo de tratamiento muy prometedor para la enfermedad que padezco de acuerdo a las investigaciones y estudios clínicos realizados en otros países

También se me ha informado que la inclusión en este estudio es totalmente voluntaria y que puedo retirarme de la investigación cuando así lo estime conveniente sin que esto traiga consigo ninguna reacción negativa contra mi persona en ese momento, ni tampoco en el futuro.

Y para que así conste y por mi libre voluntad firmo el presente documento en presencia de: _____, que actúa como testigo de lo antes señalado.

La Habana_____ de _____ del 20____

Firma de la paciente

Firma del testigo

Anexo 3. Tablas

Tabla 1. Pacientes según sexo y tratamiento recibido. Servicio de Cirugía

Maxilo Facial del Hospital Docente "William Soler"

Sexo	Grupo estudio		Grupo control		Total	
	No.	%	No.	%	No.	%
Femenino	20	58,8	20	58,8	40	58,8
Masculino	14	41,2	14	41,2	28	41,2
Total	34	100,0	34	100,0	68	100,0

p=0,8072

Tabla 2. Parámetros hematológicos antes de la autodonación.

Parámetro	Media	Mediana	Rango
Hemoglobina (Hb) g/ L	135,09	131,5	115 - 150
Hematocrito (Hto)	40,17	39,5	33 - 50
Leucocitos x 10 ⁹ /L	6,9	6,75	4,6 - 12,8
Plaquetas x 10 ⁹ /L	257,02	257	151 - 398
Células mononucleares %	38,7	38	25 - 54

Tabla 3. Concentrados celulares en el grupo tratado con células mononucleares autólogas

Parámetro	Media	DE	Rango
Volumen (ml)	8,98	7,3	4 - 33
Contenido total de leucocitos x 10 ⁹	331,65	117,3	50 - 536
Células mononucleares %	30,14	14,4	8 - 80
Total de células mononucleares x 10 ⁹	99,5	1,21	15 - 161

Tabla 4. Variables estudiadas en ambos grupos antes de aplicados los tratamientos

Preimplante	Grupo	n	Media	Desviación estándar	Diferencia de medias	IC 95 % para la diferencia de medias	p
Edad (años)	Grupo estudio	34	42,91	6,93	0,83	-2,67;4,32	0,08
	Grupo control	34	42,08	7,48			
Dientes afectados	Grupo estudio	34	13,18	3,86	1,03	-0,53;2,59	0,29
	Grupo control	34	12,15	2,45			
Sangrado al sondeo	Grupo estudio	34	12,88	1,47	0,09	-0,59; 0,77	0,793
	Grupo control	34	12,79	1,34			
Bolsas periodontales	Grupo estudio	34	18,09	3,90	0,59	-1,07; 2,25	0,068
	Grupo control	34	17,50	2,88			
Movilidad dentaria	Grupo estudio	34	4,15	1,79	0,15	-0,66; 0,95	0,231
	Grupo control	34	4,00	1,54			
Pérdida de inserción	Grupo estudio	34	2,38	0,52	0,12	-0,26; 0,49	0,371
	Grupo control	34	2,26	0,75			
Evaluación radiográfica	Grupo estudio	34	1,15	0,26	-0,02	-0,19; 0,14	0,738
	Grupo control	34	1,17	0,23			

Tabla 5. Variables estudiadas en los diferentes momentos del estudio en el grupo de estudio antes y después del implante

Variables	Antes del tratamiento X ± DE	6 meses X ± DE	12 meses X ± DE	24 meses X ± DE	30 meses X ± DE	p
Dientes afectados	13,18 ± 3,86	2,21 ± 0,54	2,21 ± 0,59	2,06 ± 0,42	1,97 ± 0,39	0,000*
Sangrado al sondeo	12,88 ± 1,47	1,12 ± 0,77	0,91 ± 0,83	0,82 ± 0,76	0,76 ± 0,70	0,000*
Bolsas periodontales	18,09 ± 3,90	3,70 ± 1,09	3,18 ± 0,87	1,88 ± 0,54	1,68 ± 0,53	0,000*
Movilidad dentaria	4,15 ± 1,79	1,00 ± 0,85	0,94 ± 0,78	0,82 ± 0,67	0,76 ± 0,74	0,000*
Pérdida de inserción	2,38 ± 0,82	1,41 ± 0,82	1,18 ± 0,82	1,01 ± 0,88	0,98 ± 0,70	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 estadísticamente significativas al nivel de significación de $p \leq 0,05$

Tabla 5A Variables estudiadas en los diferentes momentos del estudio en el grupo de estudio antes y después del implante

Variables	Antes s↔ 6 mese s	Antes ↔12 meses	Antes ↔24 meses	Antes ↔30 meses	6↔ 12 mes es	6 ↔2 4 mes es	6 ↔3 0 mes es	12 ↔2 4 mes es	12 ↔3 0 mes es	24 ↔3 0 mes es
Dientes afectados	0,00 0*	0,000*	0,000*	0,000*	0,00 3*	0,00 0*	0,00 0*	0,00 8	0,01 0	1,00 0
Sangrado al sondeo	0,00 0*	0,000*	0,000*	0,000*	0,39 0	0,16 0	0,66 0	0,56 0	0,72 0	0,36 0
Bolsas periodontales	0,00 0*	0,000*	0,000*	0,000*	0,00 0*	0,00 0*	0,00 0*	0,00 5*	0,00 0*	0,01 0
Movilidad dentaria	0,00 0*	0,000*	0,000*	0,000*	0,94 0	0,95 0	0,30 0	0,73 0	0,38 0	0,10 0
Pérdida de inserción	0,00 0*	0,000*	0,000*	0,000*	0,56 0	0,38 0	0,56 0	0,38 0	0,56 0	0,31 0
Evaluación radiográfica	0,00 0*	0,000*	0,000*	0,000*	0,15 0	0,08 0	0,08 0	0,31 0	0,31 0	1,00 0

*Comparaciones estadísticamente significativas al nivel de significación de $p \leq 0,005$

aplicando la prueba a posteriori de Bonferroni

Tabla 6. Variables estudiadas en los diferentes momentos del estudio en el grupo de control antes y después del tratamiento

Variables	Antes del tratamiento X ± DE	6 meses X ± DE	12 meses X ± DE	24 meses X ± DE	30 meses X ± DE	p
Dientes afectados	12,15 ± 2,45	2,68 ± 0,68	2,71 ± 0,97	2,85 ± 0,70	2,94 ± 0,60	0,000*
Sangrado al sondeo	12,79 ± 1,34	1,71± 0,46	1,79 ± 0,64	2,35 ± 0,69	2,24 ± 0,55	0,000*
Bolsas periodontales	17,50 ± 2,88	3,76 ± 0,78	3,56 ± 1,05	3,06 ± 1,28	2,53 ± 0,96	0,000*
Movilidad dentaria	4,00 ± 1,54	1,18 ± 0,46	1,12 ± 0,41	0,94 ± 0,24	1,06 ± 0,24	0,001*
Pérdida de inserción	2,26 ± 0,75	2,26 ± 0,75	1,59 ± 0,71	1,48 ± 0,82	1,36 ± 0,70	0,850
Evaluación radiográfica	1,17± 0,23	2,08 ± 0,33	2,07 ± 0,24	2,06± 0,34	2,06 ± 0,06	0,000*

*Comparaciones estadísticamente significativas al nivel de significación de $p \leq 0,05$

Tabla 6A. Variables estudiadas en los diferentes momentos del estudio en el grupo de control antes y después del tratamiento

Variable s	Antes ↔6 meses	Antes ↔12 meses	Antes ↔24 meses	Antes ↔30 meses	6↔12 meses	6↔24 meses	6↔30 meses	12↔24 meses	12↔30 meses	24↔30 meses
Dientes afectados	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,130
Sangrado al sondeo	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,026
Bolsas periodontales	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,116	0,031	0,006	0,001*	0,000*	0,030
Movilidad dentaria	0,000*	0,000*	0,000*	0,003*	0,040	0,970	0,790	0,030	0,017	0,520
Pérdida de inserción	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,150	0,180	0,310
Evaluación radiográfica	0,000*	0,000*	0,000*	0,000*	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999	0,999

* Comparaciones estadísticamente significativas al nivel de significación de $p \leq 0,005$ aplicando la prueba a posteriori de Bonferroni

Tabla 7. Dientes afectados en los diferentes momentos del estudio según el tipo de tratamiento recibido

Dientes afectados	Grupo	n	Media	Desviación estándar	Diferencia de medias	IC 95 % para la diferencia de medias	p
Pretratamiento	Grupo estudio	34	13,18	3,86	1,03	-0,53; 2,59	0,29
	Grupo control	34	12,15	2,45			
6 meses	Grupo estudio	34	2,21	0,54	-0,47	-0,77; 0,17	0,06
	Grupo control	34	2,68	0,68			
12 meses	Grupo estudio	34	2,21	0,59	-0,50	-0,88; -0,11	0,009*
	Grupo control	34	2,71	0,97			
24 meses	Grupo estudio	34	2,06	0,42	-0,79	-1,07; -0,51	0,006*
	Grupo control	34	2,85	0,70			
30 meses	Grupo estudio	34	1,97	0,39	-0,97	-1,21; -0,73	0,031*
	Grupo control	34	2,94	0,60			

Tabla 8. Puntos de sangrado al sondeo en los diferentes momentos del estudio según el tipo de tratamiento recibido

Sangrado al sondeo	Grupo	n	Media	Desviación estándar	Diferencia de medias	IC 95 % para la diferencia de medias	p
Pretratamiento	Grupo estudio	34	12,88	1,47	0,09	-	0,793
	Grupo control	34	12,79	1,34			
6 meses	Grupo estudio	34	1,12	0,77	-0,59	-0,89;-0,28	0,014*
	Grupo control	34	1,71	0,46			
12 meses	Grupo estudio	34	0,91	0,83	-0,88	-1,24;-0,522	0,152
	Grupo control	34	1,79	0,64			
24 meses	Grupo estudio	34	0,82	0,76	-1,53	-1,88;-1,17	0,947
	Grupo control	34	2,35	0,69			
30 meses	Grupo estudio	34	0,76	0,70	-0,57	-1,77;-1,16	0,109
	Grupo control	34	2,24	0,55			

Tabla 9. Bolsas periodontales en los diferentes momentos del estudio según el tipo de tratamiento recibido

Bolsas Periodontales	Grupo	n	Media	Desviación estándar	Diferencia de medias	IC 95 % para la diferencia de medias	p																																																	
Pretratamiento	Grupo estudio	34	18,09	3,90	0,59	-	0,068																																																	
	Grupo control	34	17,50	2,88				1,07;2,25	6 meses	Grupo estudio	34	3,70	1,09	-0,06	-	0,129	Grupo control	34	3,76	0,78	0,52;0,39	12 meses	Grupo estudio	34	3,18	0,87	-0,38	-	0,655	Grupo control	34	3,56	1,05	0,85;0,08	24 meses	Grupo estudio	34	1,88	0,54	-1,18	-	0,000*	Grupo control	34	3,06	1,28	-1,65;-0,70	30 meses	Grupo estudio	34	1,68	0,53	-0,85	-	0,006*	Grupo control
6 meses	Grupo estudio	34	3,70	1,09	-0,06	-	0,129																																																	
	Grupo control	34	3,76	0,78				0,52;0,39	12 meses	Grupo estudio	34	3,18	0,87	-0,38	-	0,655	Grupo control	34	3,56	1,05	0,85;0,08	24 meses	Grupo estudio	34	1,88	0,54	-1,18	-	0,000*	Grupo control	34	3,06	1,28	-1,65;-0,70	30 meses	Grupo estudio	34	1,68	0,53	-0,85	-	0,006*	Grupo control	34	2,53	0,96	-1,23;-0,47									
12 meses	Grupo estudio	34	3,18	0,87	-0,38	-	0,655																																																	
	Grupo control	34	3,56	1,05				0,85;0,08	24 meses	Grupo estudio	34	1,88	0,54	-1,18	-	0,000*	Grupo control	34	3,06	1,28	-1,65;-0,70	30 meses	Grupo estudio	34	1,68	0,53	-0,85	-	0,006*	Grupo control	34	2,53	0,96	-1,23;-0,47																						
24 meses	Grupo estudio	34	1,88	0,54	-1,18	-	0,000*																																																	
	Grupo control	34	3,06	1,28				-1,65;-0,70	30 meses	Grupo estudio	34	1,68	0,53	-0,85	-	0,006*	Grupo control	34	2,53	0,96	-1,23;-0,47																																			
30 meses	Grupo estudio	34	1,68	0,53	-0,85	-	0,006*																																																	
	Grupo control	34	2,53	0,96				-1,23;-0,47																																																

Tabla 10. Dientes con movilidad dentaria en los diferentes momentos del estudio según el tipo de tratamiento recibido

Movilidad dentaria	Grupo	n	Media	Desviación estándar	Diferencia de medias	IC 95 % para la diferencia de medias	p																																												
Pretratamiento	Grupo estudio	34	4,15	1,79	0,15	-0,66;0,95	0,231																																												
	Grupo control	34	4,00	1,54				6 meses	Grupo estudio	34	1,00	0,85	-0,18	-0,50;0,15	0,005*	Grupo control	34	1,18	0,46	12 meses	Grupo estudio	34	0,94	0,78	-0,18	-0,48;0,12	0,001*	Grupo control	34	1,12	0,41	24 meses	Grupo estudio	34	0,82	0,67	-0,12	-0,36;0,12	0,000*	Grupo control	34	0,94	0,24	30 meses	Grupo estudio	34	0,76	0,74	-0,3	-0,56;-0,03	0,000*
6 meses	Grupo estudio	34	1,00	0,85	-0,18	-0,50;0,15	0,005*																																												
	Grupo control	34	1,18	0,46				12 meses	Grupo estudio	34	0,94	0,78	-0,18	-0,48;0,12	0,001*	Grupo control	34	1,12	0,41	24 meses	Grupo estudio	34	0,82	0,67	-0,12	-0,36;0,12	0,000*	Grupo control	34	0,94	0,24	30 meses	Grupo estudio	34	0,76	0,74	-0,3	-0,56;-0,03	0,000*	Grupo control	34	1,06	0,24								
12 meses	Grupo estudio	34	0,94	0,78	-0,18	-0,48;0,12	0,001*																																												
	Grupo control	34	1,12	0,41				24 meses	Grupo estudio	34	0,82	0,67	-0,12	-0,36;0,12	0,000*	Grupo control	34	0,94	0,24	30 meses	Grupo estudio	34	0,76	0,74	-0,3	-0,56;-0,03	0,000*	Grupo control	34	1,06	0,24																				
24 meses	Grupo estudio	34	0,82	0,67	-0,12	-0,36;0,12	0,000*																																												
	Grupo control	34	0,94	0,24				30 meses	Grupo estudio	34	0,76	0,74	-0,3	-0,56;-0,03	0,000*	Grupo control	34	1,06	0,24																																
30 meses	Grupo estudio	34	0,76	0,74	-0,3	-0,56;-0,03	0,000*																																												
	Grupo control	34	1,06	0,24																																															

Tabla 11. Nivel de pérdida de inserción periodontal en los diferentes momentos del estudio según el tipo de tratamiento recibido

Pérdida de inserción	Grupo	n	Media	Desviación estándar	Diferencia de medias	IC 95 % para la diferencia de medias	p
Pretratamiento	Grupo estudio	34	2,38	0,82	0,12	-0,26;0,49	0,5311
	Grupo control	34	2,26	0,75			
6 meses	Grupo estudio	34	1,41	0,82	-0,85	-1,23;-0,47	0,000*
	Grupo control	34	2,26	0,75			
12 meses	Grupo estudio	34	1,18	0,82	-0,41	-0,40;0,39	0,031*
	Grupo control	34	1,59	0,71			
24 meses	Grupo estudio	34	1,01	0,88	-0,47	-0,58;0,23	0,0259*
	Grupo control	34	1,48	0,82			
30 meses	Grupo estudio	34	0,98	0,70	-0,38	0,041;0,719	0,0286*
	Grupo control	34	1,36	0,70			

Tabla 12. Evaluación radiográfica en los diferentes momentos del estudio según el tipo de tratamiento recibido

Evolución radiográfica	Grupo	n	Media	Desviación estándar	Diferencia de medias	IC 95 % para la diferencia de medias	p																																												
Pretratamiento	Grupo estudio	34	1,15	0,26	-0,02	- 0,09;0,14	0,738																																												
	Grupo control	34	1,17	0,23				6 meses	Grupo estudio	34	3,91	0,29	1,79	1,64;1,94	0,432	Grupo control	34	2,12	0,33	12 meses	Grupo estudio	34	4,00	0,00	1,94	1,85;2,02	0,003*	Grupo control	34	2,06	0,24	24 meses	Grupo estudio	34	4,00	0,00	1,94	1,82;2,05	0,002*	Grupo control	34	2,06	0,34	30 meses	Grupo estudio	34	4,00	0,00	1,94	1,82;2,05	0,002*
6 meses	Grupo estudio	34	3,91	0,29	1,79	1,64;1,94	0,432																																												
	Grupo control	34	2,12	0,33				12 meses	Grupo estudio	34	4,00	0,00	1,94	1,85;2,02	0,003*	Grupo control	34	2,06	0,24	24 meses	Grupo estudio	34	4,00	0,00	1,94	1,82;2,05	0,002*	Grupo control	34	2,06	0,34	30 meses	Grupo estudio	34	4,00	0,00	1,94	1,82;2,05	0,002*	Grupo control	34	2,06	0,34								
12 meses	Grupo estudio	34	4,00	0,00	1,94	1,85;2,02	0,003*																																												
	Grupo control	34	2,06	0,24				24 meses	Grupo estudio	34	4,00	0,00	1,94	1,82;2,05	0,002*	Grupo control	34	2,06	0,34	30 meses	Grupo estudio	34	4,00	0,00	1,94	1,82;2,05	0,002*	Grupo control	34	2,06	0,34																				
24 meses	Grupo estudio	34	4,00	0,00	1,94	1,82;2,05	0,002*																																												
	Grupo control	34	2,06	0,34				30 meses	Grupo estudio	34	4,00	0,00	1,94	1,82;2,05	0,002*	Grupo control	34	2,06	0,34																																
30 meses	Grupo estudio	34	4,00	0,00	1,94	1,82;2,05	0,002*																																												
	Grupo control	34	2,06	0,34																																															

Tabla 13. Grado de respuesta en ambos grupos a los 6 meses

Mejoría	Grupo estudio		Grupo control		Total	
	No.	%	No.	%	No	%
Completa	27	79,41	18	52,94	45	66,18
Parcial	6	17,65	8	23,53	14	20,59
No Mejoría	1	2,94	8	23,53	9	13,23
Total	34	100,00	34	100,00	68	100,00

p =0,04**Tabla 14.** Grado de respuesta en ambos grupos a los 24 meses

Mejoría	Grupo estudio		Grupo control		Total	
	No.	%	No.	%	No.	%
Completa	34	100,00	11	32,35	45	66,17
Parcial			16	47,05	16	23,52
No mejoría			7	20,58	7	10,29
Total	34	100,00	34	100,00	68	100,00

p =0,03

Tabla 15. Reacciones adversa del uso del Factor Estimulador de Colonias de Granulocitos

Reacciones adversas	Ausencia de Dolor (0)		Dolor Leve (1-4)		Dolor Moderado (5-8)		Total	
	No.	%	No.	%	No.	%	No.	%
Dolor osteoarticular	23	67,64	8	23,52	3	8,82	34	100
Cefalea	25	73,52	7	20,58	2	5,88	34	100

Anexo 4. Figuras

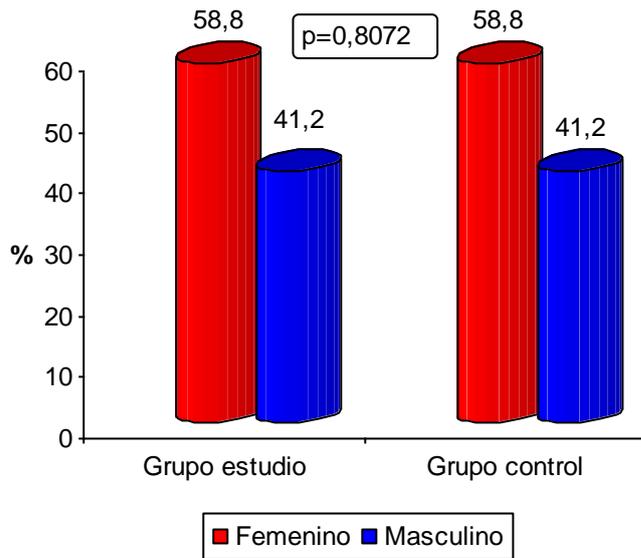


Figura 4. Pacientes según sexo y tratamiento recibido. Servicio de Cirugía Maxilo Facial del Hospital Docente “William Soler”

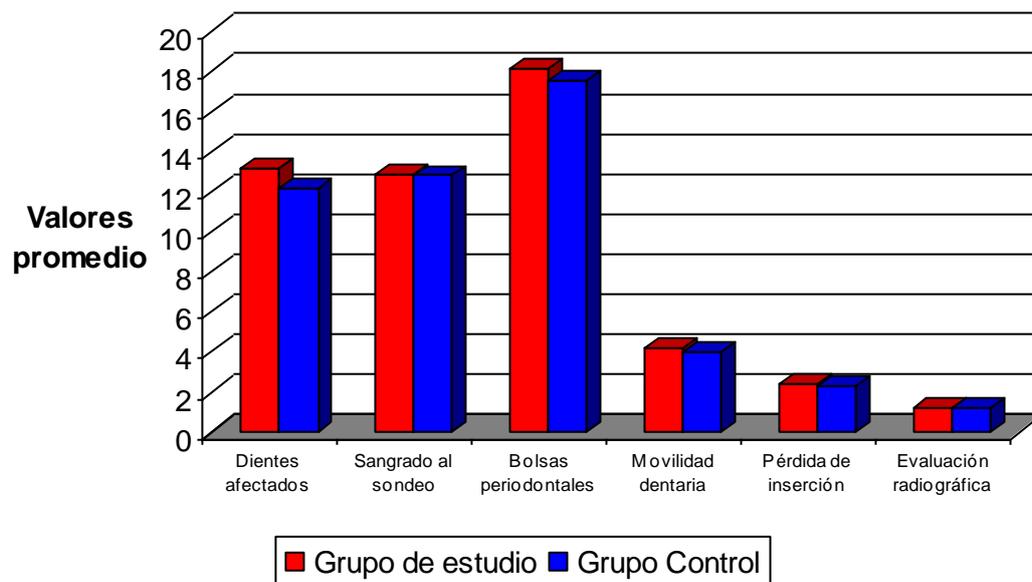
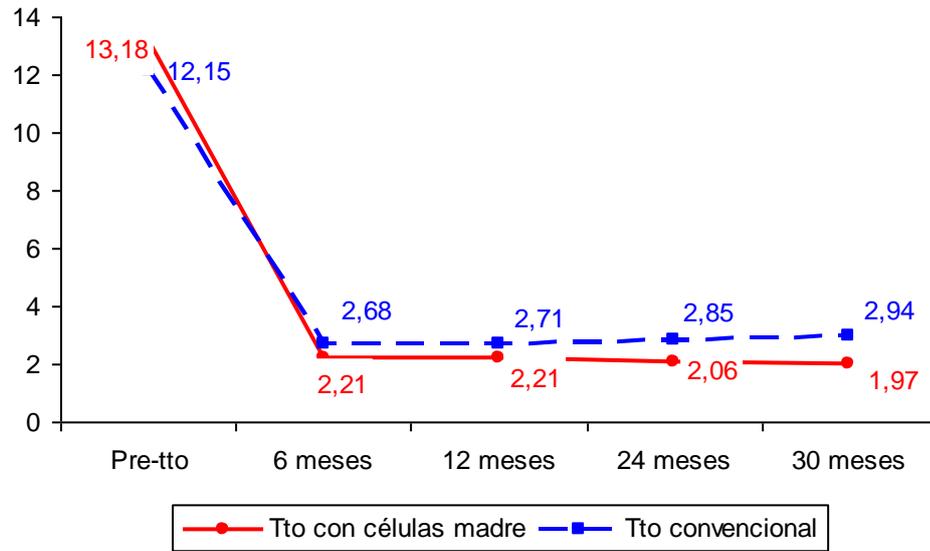


Figura 5.-Variables estudiadas en ambos grupos antes de aplicados los tratamientos.

Fuente: Tabla 4

Dientes afectados

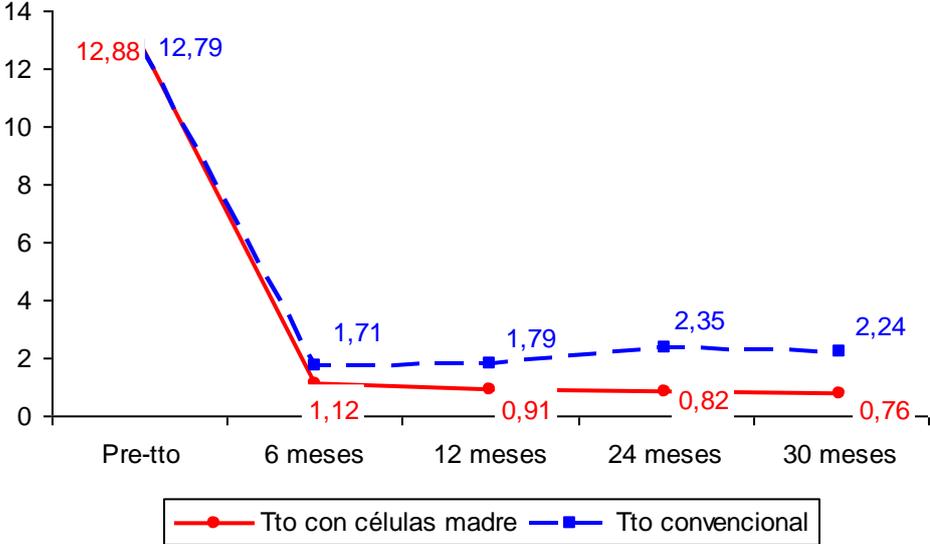


*Estadísticamente significativo

Figura 6. Dientes afectados en los diferentes momentos del estudio según el tipo de tratamiento recibido

Fuente: Tabla 7.

Puntos de sangrado

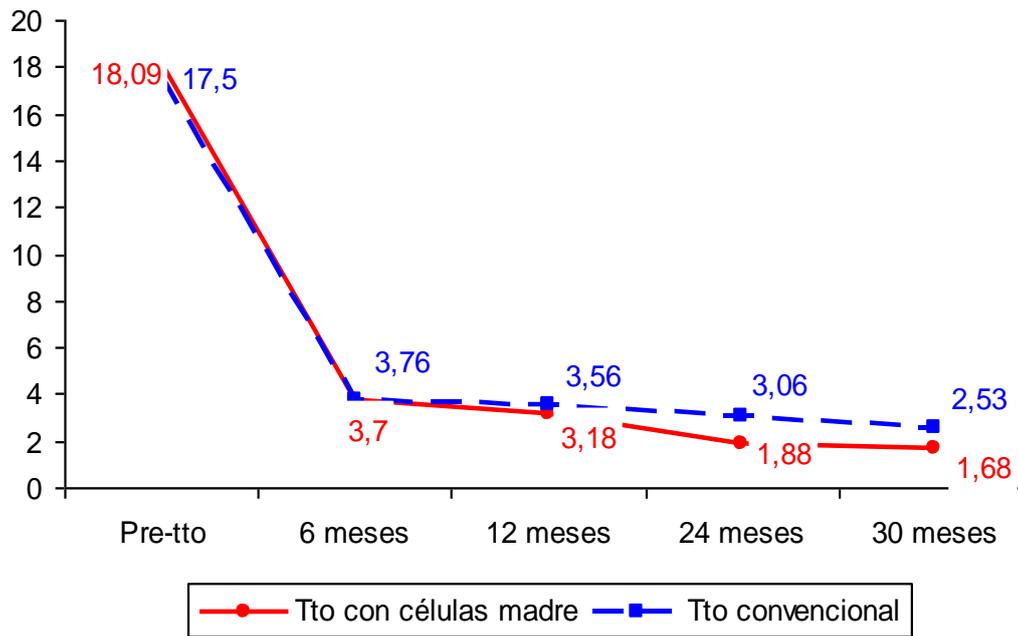


*Estadísticamente significativo

Figura 7. Puntos de sangrado al sondeo en los diferentes momentos del estudio según el tipo de tratamiento recibido

Fuente: Tabla 8.

Bolsas periodontales

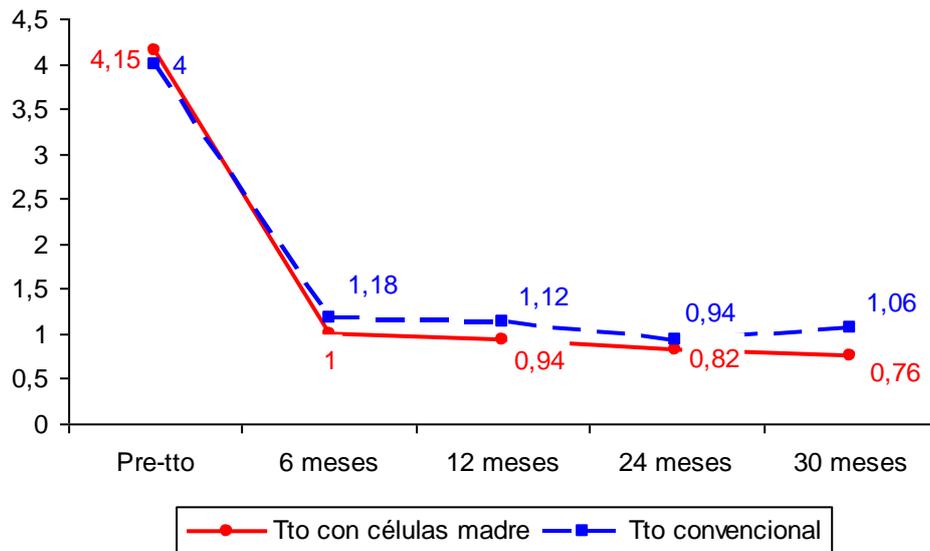


*Estadísticamente significativo

Figura 8. Evolución de las bolsas periodontales según el tipo de tratamiento recibido

Fuente: Tabla 9.

Dientes con movilidad dentaria

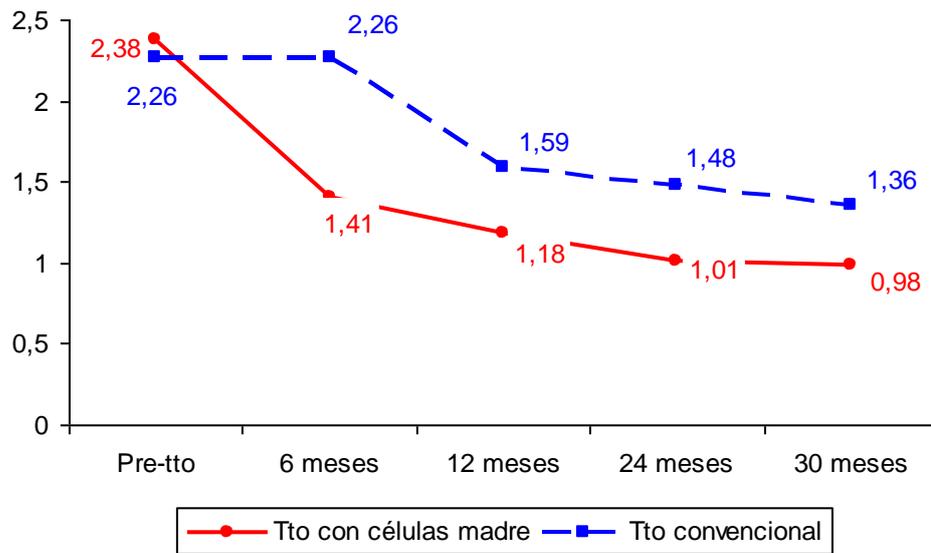


*Estadísticamente significativo

Figura 9. Dientes con movilidad dentaria según el tipo de tratamiento recibido

Fuente: Tabla 10.

Pérdida de inserción periodontal

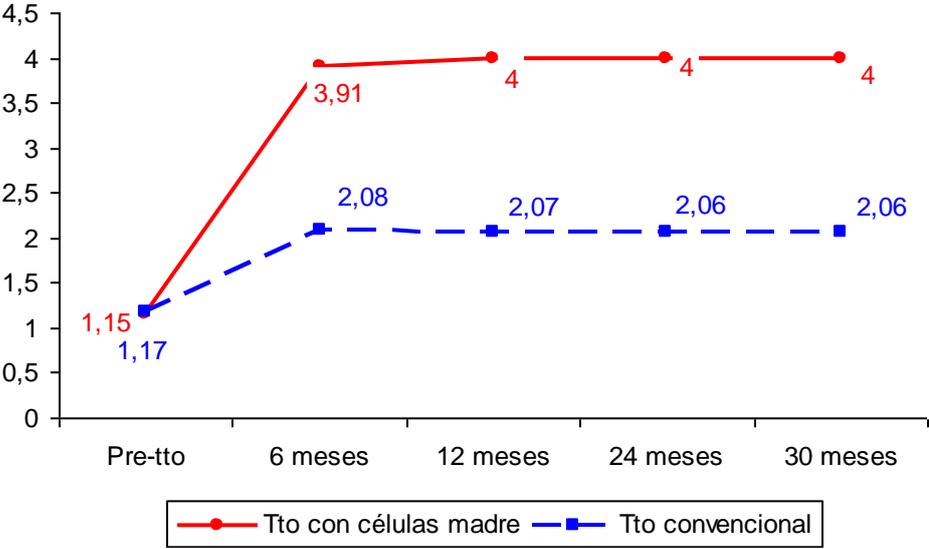


*Estadísticamente significativo

Figura 10. Pérdida de inserción periodontal según el tipo de tratamiento recibido

Fuente: Tabla 11.

Evaluación radiográfica



*Estadísticamente significativo

Figura 11. Evaluación radiográfica según el tipo de tratamiento recibido

Fuente: Tabla 12.

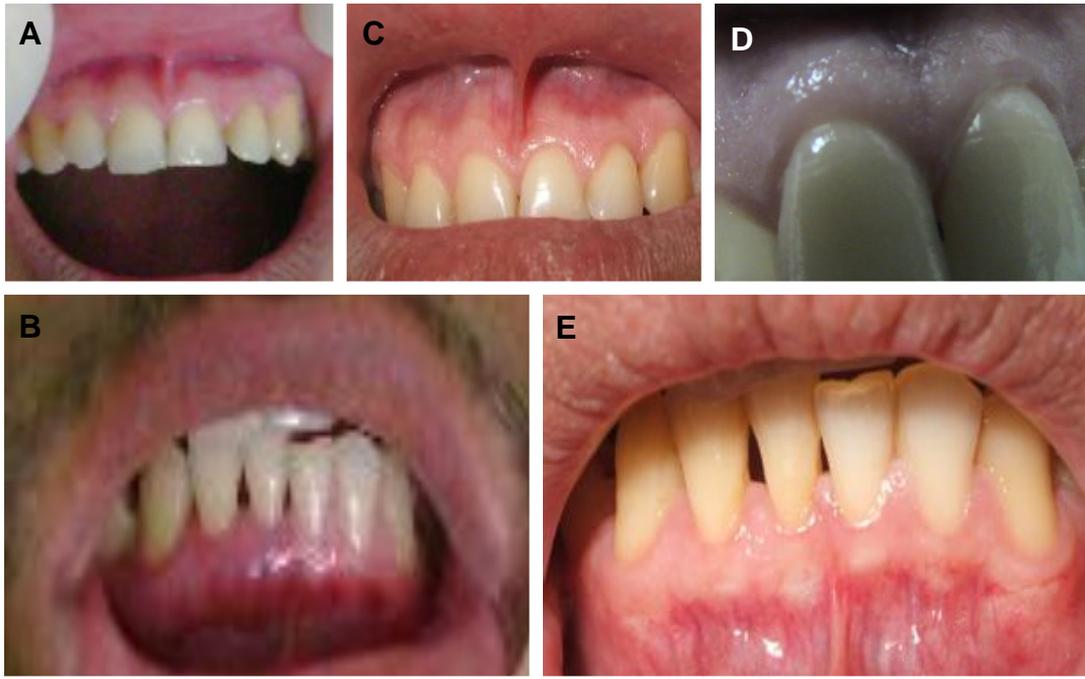


Figura 13. Paciente masculino de 40 años de edad que padece periodontitis crónica. A y B: antes del tratamiento con células mononucleares autólogas. C, D y E: cinco años posteriores a la implantación. Nótese como recupera y mantiene la salud periodontal.



Figura 13. Radiografías izquierdos. A: antes del tratamiento. B: 2 años posterior a la evolutivas de bicúspides y molares inferiores implantación. Nótese organización del trabeculado, formación de cortical ósea y zona radiopaca compatible con formación de nuevo hueso.

***PRODUCCIÓN CIENTÍFICA DE LA AUTORA SOBRE EL TEMA DE
INVESTIGACIÓN***

PRODUCCIÓN CIENTÍFICA DE LA AUTORA SOBRE EL TEMA DE INVESTIGACIÓN

Publicaciones

1. Pérez Borrego Amparo, Domínguez Rodríguez Libia, Ilisástigui Ortueta C. Zaida Teresa. De la Terapia Celular a la Regeneración Periodontal. Rev haban cienc méd [revista en la Internet]. 2009 Jun [citado 2013 Abr 16]; 8(2):1-11. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2009000200007&lng=es.
2. Pérez Borrego Amparo, Domínguez Rodríguez Libia, Ilisástigui Ortueta Zaida Teresa, Hernández Ramírez Porfirio. Utilización de células madre en el tratamiento de defectos óseos periodontales. Rev Cubana Estomatol [revista en la Internet]. 2009 Dic [citado 2013 Abr 22]; 46(4):122-128. Disponible en: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0034-75072009000400012&lng=es.

3. Pérez Borrego Amparo, Ilisástigui Ortueta Zaida Teresa, Hernández Ramírez Porfirio, Domínguez Rodríguez Libia, González Iglesias Ana Iris, Martínez de Pinillo María de los Ángeles et al. Historia de la aplicación de la terapia celular en periodoncia. Rev haban cienc méd [revista en la Internet]. 2009 [citado 2013 Abr 22]; 8(5):4-8. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1729-519X2009000500002&lng=es.
4. Hernández-Ramírez Porfirio, Alfonso-Simón Amel, Aparicio-Suárez José L., Artaza-Sanz Heriberto, Baganet-Cobas Aymara, Blanco-Díaz Ángela, et al. Experiencia cubana con el uso terapéutico de células madre adultas. Rev Cubana Hematol Inmunol Hemoter [revista en la Internet]. 2011 Mar [citado 2013 Abr 16]; 27(1):139-163. Disponible en:
http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-02892011000100012&lng=es.
5. Pérez Borrego Amparo, Ilisástigui Ortueta Zaida Teresa, Hernández Ramírez Porfirio, Domínguez Rodríguez Libia, González Iglesias Ana Iris, Martínez de Pinillo María de los Ángeles, et al. Terapia celular regenerativa con células mononucleares autólogas aplicada a pacientes con Periodontitis. Rev haban cienc méd. 2013; 12(2):

Trabajos presentados en eventos científicos

Fecha	Eventos	Título del trabajo
2008	III Simposio de Medicina Regenerativa "Habana 2008"	Utilización de células madre en los defectos óseos de la periodontitis juvenil.
2008	Jornada 108 Aniversario de la Facultad de Estomatología	Utilización de células madre en los defectos óseos de la periodontitis juvenil.
2009	Hematología 2009. II Simposio Internacional de Medicina Regenerativa. Presentación oral. Palacio de las Convenciones 21 de mayo 2009	Utilización de células madre en los defectos óseos de la periodontitis juvenil. Informe de un año de trabajo
2009	Jornada 109 Aniversario de la Facultad de Estomatología	Utilización de células madre en los defectos óseos de la periodontitis
2010	Jornada Internacional de Atención Pediátrica "William Soler"	Utilización de células madre en los defectos óseos de la periodontitis
Noviembre 2010	Congreso de Estomatología 2010	Utilización de células madre en los defectos óseos de la periodontitis juvenil. Informe de dos años de trabajo
Diciembre 2010	Jornada de Periodontología Orlando Seguí in memoriam 2010	Utilización de células madre en los defectos óseos de la periodontitis juvenil. Informe de dos años de trabajo
Enero 2011	Jornada por el Día de la Ciencia	Tercer aniversario de la aplicación de la terapia celular en periodontología. Resultados a mediano y largo plazo.

2011	VI Jornada Científica CeNaEst	Experiencias con el uso terapéutico de células madre adultas.
2011	Jornada Provincial de Periodoncia	Aplicación de la Medicina Regenerativa en Periodoncia
2012	Jornada-Taller Nacional de "Atención Pediátrica"	Medicina regenerativa y Células Madre. Su aplicación en Periodoncia
Noviembre 2012	Jornada Nacional de Periodoncia	Experiencias del tratamiento con células madre como alternativa terapéutica en pacientes con periodontitis

Cursos de postgrado impartidos

Fecha	Título	Lugar	Nivel
2010	Experiencias con el uso terapéutico de células madre adultas	La Habana	Provincial
2011	Experiencias con el uso terapéutico de células madre adultas.	Pinar del Río	Provincial
2011	Experiencias con el uso terapéutico de células madre adultas.	Cienfuegos	Provincial
2012	Experiencias con el uso terapéutico de células madre adultas.	Santa Clara	Nacional
2012	Experiencias con el uso terapéutico de células madre adultas.	Holguín	Provincial
2012	Experiencias con el uso terapéutico de células madre adultas.	Sancti Spíritus	Provincial
2012	Experiencias con el uso terapéutico de células madre adultas.	Bayamo	Provincial
2013	Experiencias con el uso terapéutico de células madre adultas.	Camaguey	Provincia
