

Glycophosphopeptical como adyuvante en el tratamiento de lesiones del pie diabético: estudio piloto

Héctor Ruiz-Mercado,* Miguel Huerta-Viera,* Rafael Bustos-Saldaña,* Ernesto Sahagún-Flores,* Georgina Hernández-Flores,** Alejandro Bravo-Cuellar**

Resumen

Introducción: la complejidad del pie diabético, la alta frecuencia de amputaciones y la inmunodepresión que lo acompaña dificultan su tratamiento. **Objetivo:** probar la utilidad del inmunoregulador *glycophosphopeptical* como terapia adyuvante en pie diabético.

Material y métodos: ensayo clínico controlado, doble ciego, con 19 pacientes por grupo con lesiones III y IV (clasificación Wagner). El grupo de estudio fue tratado oralmente con *glycophosphopeptical* 1 g/cada 8 horas por 4 semanas y el grupo control con placebo. Ambos grupos recibieron tratamiento convencional: desbridamiento, antibioticoterapia y control metabólico. Al inicio y a los dos meses del estudio se midieron la superficie y la profundidad de las lesiones, se cuantificaron pacientes con mejoría o curación y, a los quince días de tratamiento, las concentraciones séricas del factor de necrosis tumoral α (TNF- α), del interferón γ (IFN- γ) y de la interleucina 1 β (IL-1 β).

Resultados: el grupo de estudio fue integrado con 13 pacientes masculinos y 6 femeninos (edad 61.6 ± 14.9 años) mientras que el grupo control con 5 mujeres y 14 hombres (edad 56.7 ± 14.6 años). En el grupo de estudio se observó una mayor disminución en la superficie y profundidad de las lesiones ($p < 0.05$). En el grupo de estudio hubo 13 amputaciones contra 17 del grupo control ($p < 0.04$). El grupo tratado con *glycophosphopeptical* presentó 15 pacientes con curación o mejoría y 4 fallas versus 7 con curación o mejoría y 12 fallas del grupo control ($p < 0.03$). El TNF- α fue menor en el grupo de estudio que en el grupo control $p < 0.02$.

Conclusiones: el *glycophosphopeptical* es útil como terapia adyuvante en lesiones de pie diabético.

Palabras clave: *glycophosphopeptical*, adyuvante, lesiones de pie diabético.

Abstract

Background: Due to the complexity of the diabetic foot, its high frequency of amputations and accompanying immunosuppression, treatment is difficult. We tested the usefulness of glycophosphopeptical immunoregulator as adjuvant therapy for diabetic foot injury.

Methods: We carried out a prospective double-blind randomized controlled study with 19 patients per group with diabetic foot injury III and IV (Wagner injury classification). The study group was treated orally with glycophosphopeptical (1 g/every 8 h for 4 weeks). Control group was treated with placebo. Both groups received conventional treatment: wound debridement, antibiotic therapy and metabolic control. Area and depth of injury was measured at the beginning of the study and after 2 months. Patients who were healed or showed improvement were quantified as well with serum levels of TNF- α , interferon- γ and IL-1 β , 15 days after treatment initiation.

Results: The study group was comprised of 13 males and six females (mean age 61.6 ± 14.9 years) and the control group was comprised of five females and 14 males (mean age 56.7 ± 14.6 years). At the end of the study, the area and depth of the lesions were significantly lower in the study group ($p < 0.05$). There were 13 amputations in the study group vs. 17 in the control group. In the group treated with glycophosphopeptical, there were 15 patients who were healed or improved and four failures vs. seven patients in the control group who were healed or improved and 12 failures. There were only four failures in the study group vs. seven in the control group with 12 failures ($p = 0.03$). TNF- α was lower in the study group than in the control group ($p < 0.02$).

Conclusion: Glycophosphopeptical is useful as adjuvant therapy in diabetic foot injuries.

Key words: glycophosphopeptical, adjuvant therapy, diabetic foot injury.

* Servicio de Angiología, Hospital Regional Dr. Valentín Gómez Farías ISSSTE, Guadalajara, Jalisco. México.

** Centro de Investigación Biomédica de Occidente, IMSS, Guadalajara, Jalisco. México. Centro Universitario de los Altos, Universidad de Guadalajara. Tepatitlán de Morelos Jalisco, México.

Correspondencia:

Acad. Dr. Alejandro Bravo Cuellar
Centro de Investigación Biomédica de Occidente del IMSS
Sierra Mojada 800, Col. Independencia
44340 Guadalajara, Jal. México.
Tel.: 36189410
Correo electrónico: abravocster@gmail.com.

Recibido para publicación: 13-05-2011

Aceptado para publicación: 22-09-2011

Introducción

Las infecciones en los pies se cuentan entre las complicaciones más severas de la diabetes mellitus. Según reportes, en pacientes diabéticos de origen mexicano la incidencia de amputación es de 7.4/1000.¹

Después del desbridamiento quirúrgico 18% de los pacientes presenta complicaciones locales y 36% sistémicas. Solamente 50% se curan a los dos meses, el resto termina en amputaciones mayores o persisten sin curación.^{2,3}

En cualquier proceso infeccioso la inmunidad innata es crítica en los primeros 7 días para iniciar el control de la infección y para dar paso a una buena respuesta inmunológica adaptativa.⁴ Desde el principio de la sepsis, al día 28, en el síndrome de respuesta inflamatoria sistémica (SIRS) el balance de moléculas pro y antiinflamatorias es muy importante. Sin embargo, cuando éste no logra desaparecer se produce una falla multiorgánica que eleva la mortalidad. Hay evidencias de que el aumento de las concentraciones de alguno de los reactantes de la fase aguda como el factor de necrosis tumoral α (TNF- α), la interleucina 1 β (IL-1 β), la interleucina 12 (IL-12) y el interferón γ (IFN- γ) son de importancia pronóstica en la evolución de la enfermedad.^{5,6}

Estudios en poblaciones de ancianos diabéticos a 24 meses de seguimiento (22 044 pacientes) reportaron una cifra de letalidad entre 3 y 7% por choque séptico y una mortalidad general, a los 28 días, de 17.3%.^{7,8}

En nuestro medio se observó que 65 de 79 pacientes (61.9%) con lesiones de pie diabético presentaban infección resistente a dos antibióticos con diferente mecanismo de acción y en 12 pacientes (15.6%) se observó reinfección a pesar del tratamiento específico. Además, en el mismo estudio, 41 pacientes (62.02%) requirieron amputaciones menores y 11 (8.6%) amputaciones mayores. Falleció un paciente (1.3%).⁹

Se han considerado a la inmunodeficiencia, a la neuropatía y a la isquemia como los mayores factores de riesgo para amputación y muerte cuando existe infección. Aunque está establecido que en los pacientes diabéticos hay una disminución de la fagocitosis bacteriana y de la actividad de los radicales libres en la destrucción intracelular de los microorganismos por los macrófagos, deterioro en la quimiotaxis de los neutrófilos y defectos en la adherencia^{10,11} poco se ha hecho aún para resolver estos aspectos. Se ha intentado mejorar el índice de curación con varios inmunomoduladores sin lograr resultados concluyentes. Así se ha reportado, en pacientes con pie diabético, que el uso del factor estimulador de colonias de granulocitos (G-CSF) disminuye significativamente el número de amputaciones mayores de miembros inferiores.^{12,13} Sin embargo, la utilización de inmunorreguladores continúa siendo un campo activo de investigación.

A este respecto cabe mencionar que el *glycophosphopeptical* es un polisacárido glucomanano fosforilado extraído del hongo *Candida utilis*. Estas levaduras crecen en semillas germinadas de *Ricinus communis*. Su peso molecular es de 15 kDa y potencia la respuesta inmunitaria innata mediante una elevación de interleucina 12 (IL-12) y del interferón γ (INF- γ), además de una disminución en la producción del factor de necrosis tumoral- α (TNF- α). Se considera seguro y bien tolerado con efectos secundarios leves; sólo se han reportado náuseas y vómitos en menos de 5% de los pacientes; no es tóxico para el hígado ni el riñón, sólo se absorbe 5% de la dosis por la vía oral y se excreta en las heces sin metabolizarse.¹⁴⁻²³

Nuestro equipo encontró, en leucocitos polimorfonucleares de sangre periférica de pacientes con lesiones de pie diabético y tratados con *glycophosphopeptical*, un incremento en la capacidad fagocítica y microbicida de esas células al final del tratamiento.²⁴

Dado que en el pie diabético se acompaña de inmunodepresión, lo que favorece infecciones clínicas y subclínicas, estudiamos si el *glycophosphopeptical* como fármaco inmunomodulador es útil en el tratamiento de dicha entidad clínica.

Material y métodos

Universo de trabajo: del 1 junio de 2008 al 31 de octubre de 2009 se realizó un ensayo clínico, doble ciego, aleatorizado, controlado con placebo, de pacientes de ambos sexos que acudieron al Servicio de Angiología y Cirugía Vasculardel Hospital Regional Valentín Gómez Farías del ISSSTE, en Guadalajara, Jalisco, con diagnóstico de diabetes mellitus tipo 1 o 2, mayores de 18 años de edad y con datos sugestivos de infección en sus extremidades inferiores.

Protocolo: los pacientes se asignaron aleatoriamente a 2 grupos que recibieron diferentes tratamientos durante 30 días. Al grupo de estudio (n = 19) se le administró, vía oral, 1 g de *glycophosphopeptical* (también conocido como AM3¹⁷) cada 8 horas (Laboratorios Inmunol, Adromaco, México). La dosis del fármaco se determinó de acuerdo con los resultados de mejoría clínica que se han obtenido en otros estudios.¹⁵⁻²⁰ Al grupo control (n = 19) se le administraron 2 cápsulas de placebo de 500 mg cada 8 horas vía oral (compuesto por una mezcla de lactosa 370 mg, estearato de magnesio 5 mg y el resto de celulosa microcristalina). Adicionalmente ambos grupos recibieron tratamiento convencional que consistió en: desbridamiento quirúrgico (más amputación de orjejos cuando fue necesario), antibioticoterapia (ciprofloxacina, clindamicina o ceftriaxona) empírica y reasignación de antibióticos al obtener resultados de cultivos y antibiograma, por al menos cuatro semanas,

según lo establecido en la literatura.²⁵ Se llevó a cabo control metabólico, estudios angiográficos si se ameritaron y procedimientos de revascularización cuando así se requirió. La asignación a cada grupo de tratamiento fue a través de contacto telefónico con un médico monitor del estudio (que no participó en el tratamiento) y de acuerdo con un cuadro de aleatorización (extraído del paquete estadístico EPIDAT-3.1). Se comprobó una adherencia al tratamiento (en cada uno de los pacientes) de cuando menos 80% del medicamento.

Al inicio, y 30 días después de finalizado el tratamiento farmacológico en estudio, a cada paciente seleccionado que cumplió con los criterios de inclusión se le realizó una historia clínica y se le realizaron los siguientes exámenes de laboratorio: biometría hemática completa, electrólitos, química sanguínea, pruebas de función hepática, hemoglobina glucosilada por métodos automatizados, proteína "C" reactiva por medio de la reacción antígeno-anticuerpo con análisis inmunoturbidimétrico.

Con el objetivo de determinar la extensión de la lesión al inicio y a los 30 días de terminado el tratamiento se midieron en cm² y en mm la superficie y la profundidad de la lesión, respectivamente. Las características locales de las lesiones en las extremidades inferiores al inicio se evaluaron de acuerdo con la clasificación de Wagner.³ Se realizó examen microbiológico: después del desbridamiento de la lesión o amputación. Se hizo extracción de 2 muestras por raspado y por aspiración con jeringa para cultivo en tioglicolato de sodio y antibiograma.

Se analizó posible osteomielitis mediante radiografía y con biopsia de hueso. *Neuropatía*: se valoraron los datos sugestivos de neuropatía mediante la escala del miniensayo de Michigan.²⁶

Se calculó el índice tobillo/brazo (presión sistólica del tobillo dividido entre la presión sistólica del brazo) de la circulación arterial con Doppler vascular (Madeco Bidop ES-100, BT8MO5, 8 MHz, Japón) considerando como normal un índice de presión tobillo/brazo > de 0.9 obtenida en miembros inferiores.

La gravedad del estado séptico se clasificó al inicio del estudio de acuerdo con las guías de recomendación del consenso sobre las infecciones del pie del diabético de Lipsky.²⁷

Seguimiento: para determinar la evolución del padecimiento se consideraron las características de las lesiones al inicio y al final del tratamiento de acuerdo con los criterios de Pecoraro y Reiberg.^{28,29}

Citocinas: las concentraciones séricas de TNF- α , IL-1 β e INF- γ se determinaron al inicio y a los 15 días de tratamiento mediante ELISA utilizando paquetes comerciales (Invitrogen-Biosource N° de catálogos, TNF- α : KHC3014,

IL-1 β : KHC0013, interferon γ : KHC4022) de acuerdo con las instrucciones del fabricante y leídas a 450 nm de longitud de onda. Cada muestra se corrió por duplicado y los resultados representan la media \pm la desviación estándar y se expresan en pg/ml.

Criterios de inclusión: pacientes diabéticos con lesiones sugestivas de infección del pie (lesión de piel, tejido celular subcutáneo, músculo, tendón, hueso grado III y IV al agregarse necrosis de piel de acuerdo con la clasificación de Wagner).³

Criterios de exclusión: pacientes en tratamiento con fármacos de acción semejante al medicamento de estudio (excepto antibióticos), con discrasias sanguíneas, trasplante de órgano, embarazada o lactando, con falla orgánica múltiple secundaria a septicemia, con infección por VIH, hepatitis C, pacientes con hipercalcemia sérica o trastornos inmunológicos o malignos.

Criterios de eliminación: pacientes que cubrieron menos de 80% del tratamiento y pacientes que abandonaron el estudio por cualquier motivo.

Evolución de las lesiones: se consideró curación al cierre completo de la lesión y sin datos de inflamación; mejoría si hubo datos clínicos de disminuciones de la inflamación, dolor, prurito, fetidez de exudado, edema, tejido de granulación (uniformemente rosado, pálido en parches, aspecto pálido o ausencia de coloración normal); costra (ausente, cubriendo menos de 25% de la lesión, de 25 a 50% o > de 50%; márgenes (sanos, epitelizado, parcialmente epitelizado), eritema, induración, fibrosis o ausencia de cultivos positivos después de 15 días de tratamiento; falla si no hubo ninguna mejoría o cultivos persistentes según los criterios establecidos en la literatura.^{12,28} Se registraron al final los efectos colaterales.

Calculo de la muestra: para el cálculo del tamaño de muestra se usó la fórmula para comparación de dos proporciones²⁹ calculando un porcentaje mayor de 30% esperado de respuesta con el medicamento con respecto al grupo control. El tamaño de la muestra calculado fue de 20 en cada grupo.

Análisis estadístico: se llevó a cabo una descripción de las medidas de tendencia central: media y medidas de dispersión: desviación estándar. Se compararon promedios entre más de dos variables con χ^2 de Pearson con corrección de continuidad. Se utilizó la prueba estadística U de Mann Whitney para comparar diferencias entre dos grupos. Los valores representan la media \pm desviación estándar de los valores obtenidos.

Aspectos éticos: el protocolo fue aprobado por el Comité de Ética del Hospital Dr. Valentín Gómez Farías ISSSTE/CEI/02/08. Todos los pacientes firmaron carta de consentimiento informado.

Resultados

Originalmente se consideraron 52 pacientes de los cuales 44 reunían los requisitos para ingresar al estudio; sin embargo, 2 pacientes decidieron no participar y se excluyeron 4 del grupo de estudio por incumplimiento del tratamiento. Logrando terminar 38 pacientes. De las características demográficas y clínicas (cuadro I), en cuanto al sexo, 5 pacientes fueron del género femenino y 14 del masculino en el grupo placebo. Fueron del género femenino 6 pacientes y 13 del género masculino en el grupo de estudio. La edad media fue 56.7 ± 14.6 y 61.6 ± 14.9 años de edad para mujeres y hombres, respectivamente (p no significativa). No hubo tampoco diferencias entre ambos grupos en cuanto al tiempo de evolución de la diabetes mellitus, el número de

úlceras, el promedio de bacterias aisladas o los días de hospitalización. La presencia de neuropatía o de isquemia fue similar en ambos grupos; sin embargo, el tiempo de evolución de las lesiones fue significativamente más corto en el grupo tratado con el *glycophosphopeptical* (14.8 ± 10.7 días) contra 21.8 ± 22.0 días del grupo tratado con placebo ($p = 0.01$). En cuanto a la afección local, según la escala de Wagner, en el grupo placebo 5 pacientes mostraron grado III y 14 grado IV. Por su parte, en el grupo de estudio 7 pacientes se clasificaron en grado III y 12 en grado IV (p no significativa). En cuanto a la severidad del estadio clínico del paciente de acuerdo con la escala de Lipsky²⁷ al grupo placebo correspondieron 17 pacientes grado 3 y 2 pacientes en grado 4; en el grupo de estudio hubo 11 pacientes con el grado 3 y 8 pacientes con grado 4 ($p = 0.01$). Al ingreso

Cuadro I. Comparación de características demográficas y clínicas generales de los pacientes con pie diabético tratados con *glycophosphopeptical* o con placebo

Variable / Grupo	Placebo n = 19	<i>Glycophosphopeptical</i> n = 19	Análisis estadístico
Sexo	Femenino = 5 Masculino = 14	Femenino = 6 Masculino = 13	*NS
Edad	56.7 ± 14.6	61.6 ± 14.9	**NS
Evolución de la diabetes mellitus al ingreso del estudio en años	15.9 ± 10.0	16.11 ± 7.8	**NS
Días de duración de las lesiones desde su inicio hasta su ingreso	21.8 ± 22.0	14.8 ± 10.7	** $p = 0.01$
Número de úlceras en extremidades afectadas por paciente	1.2 ± 0.7	1.3 ± 0.6	**NS
Promedio de bacterias aisladas por paciente	2.3 ± 2.7	2.3 ± 3.3	**NS
Días de hospitalización	9.0 ± 4.1	7.9 ± 3.4	**NS
Severidad del estadio clínico al ingreso del estudio de acuerdo con la clasificación de Lipsky ²⁴	Grado 3 = 17 Grado 4 = 2	Grado 3 = 11 Grado 4 = 8	* $p = 0.01$
Grado de compromiso de la lesión (escala de Wagner)	III = 5 IV = 14	III = 7 IV = 12	*NS
Osteomielitis	11	11	*NS
Neuropatía	12	9	*NS
Neuropatía e isquemia	5	9	*NS
Sólo datos de isquemia	1	0	-
Media de antibióticos usados por los pacientes	Media 3.4 rango de 1 a 6	Media 3.3 rango de 2 a 5	*NS
Hipertensión arterial sistémica	10	9	-
Insuficiencia renal crónica	4	3	-

* χ^2 de Pearson.

**U de Mann Whitney.

NS = no significativo.

del estudio presentaban diagnóstico sugestivo de osteomielitis 11 pacientes en cada grupo. Por otra parte, también fue comparable el número de pacientes con antecedentes de amputación. Cabe mencionar que 73% de pacientes del grupo placebo usó antibióticos antes de iniciar el estudio mientras que en el grupo de estudio el porcentaje fue 94% (p no significativa). Finalmente, en cuanto al número de antibióticos utilizados, éste fue similar en ambos grupos, en promedio alrededor de 3.4 por paciente. Al inicio del estudio 10 y 9 pacientes presentaban hipertensión arterial sistémica para los grupos placebo y estudio, respectivamente. Asimismo, el número de pacientes con insuficiencia renal 4 en el grupo placebo y 3 en el grupo de estudio.

Respecto al “índice tobillo/brazo derecho e izquierdo” no hubo diferencias en las presiones y el comportamiento fue similar en ambos grupos: > 0.9 al inicio y al término del estudio (datos no mostrados). Predominó el compromiso neuropático o neuroisquémico con escasa afección de tipo obstructivo arterial significativo. Sólo tres pacientes requirieron revascularización: 2 del grupo placebo y 1 del grupo de estudio, teniendo éxito en sólo un paciente del grupo placebo. En el plano quirúrgico es importante mencionar que se observó que se requirieron menos amputaciones en el grupo de estudio: sólo 13 pacientes fueron amputados, de los cuales 11 (84.61%) fueron infracondíleas y 2 (15.38%)

supracondíleas contra un total de 17 amputaciones en el grupo placebo de las cuales 16 (94.11%) fueron infracondíleas y 1 (5.88%) supracondílea, lo que supuso una diferencia estadísticamente significativa (χ^2 , $p = 0.04$).

En relación con los análisis clínicos en la biometría hemática (cuadro II) solamente se observaron, al inicio y al término del estudio, discreta leucocitosis y una linfopenia en ambas muestras que al final del estudio tendieron a corregirse. En ambas poblaciones hubo cifras de hemoglobina glucosilada altas (del orden de 10%) demostrando un descontrol metabólico en ambos grupos. En el mismo cuadro II podemos observar que la proteína C reactiva, marcador inespecífico de la inflamación, se observó una concentración sérica elevada en ambos grupos al inicio del tratamiento, siendo más alta en el grupo tratado con *glycophosphopeptical* ($p = 0.01$), lo que concuerda con el grado de severidad de las lesiones. Sin embargo, ambos grupos presentaron al final del estudio una tendencia a la disminución de las concentraciones séricas de proteína C reactiva postratamiento.

En ambas muestras se lograron aislar microorganismos de sus lesiones excepto en un paciente del grupo placebo; se aislaron 84 tipos diferentes de bacterias. Los tipos de microorganismo más frecuentemente aislados, en ambos grupos, fueron los enterococos: 23.0% en el grupo placebo y 22.2% en el grupo tratado con *glycophosphopeptical*,

Cuadro II. Paraclínicos de pacientes con pie diabético antes y después de ser tratados con *glycophosphopeptical* o con placebo

Variable / Grupo	Placebo n = 19	<i>Glycophosphopeptical</i> n = 19	*U de Mann Whitney
Leucocitos (miles/dl)	Inicial 10,011 ± 4,015	Inicial 10,780 ± 4,728	NS
	Final 9,685 ± 3,263	Final 10,949 ± 5,283	
Linfocitos (%)	Inicio 18.2 ± 7.4	Inicio 16.5 ± 8.6	NS
	Final 23.6 ± 8.1	Final 22.3 ± 8.2	
Plaquetas ($\times 10^3$ /dl)	Inicio 259.3 ± 62.0	Inicio 295.4 ± 106.5	NS
	Final 344.1 ± 120.0	Final 340.5 ± 44.0	
Neutrófilos (%)	Inicial 70.7 ± 9.9	Inicial 74.4 ± 11.0	NS
	Final 67.8 ± 10.4	Final 68.1 ± 10.7	
Hemoglobina glucosilada A1c (%)	Inicial 10.9 ± 2.4	Inicial 10.6 ± 2.1	NS
	Final 156.7 ± 69.5	Final 161.5 ± 61.9	
Glucosa (mg/dl)	Inicial 175.7 ± 80.8	Inicial 175.6 ± 137.2	NS
	Final 156.7 ± 69.5	Final 161.5 ± 61.9	
Proteína C reactiva (mg/dl)	Inicio 70.5 ± 86.7	Inicio 103.0 ± 48.2	$p = 0.01$
	Final 31.7 ± 17.4	Final 46.8 ± 70.2	
Hemoglobina (mg/dl)	Inicial 11.7 ± 1.8	Inicial 10.7 ± 1.7	NS
	Final 12.1 ± 2.1	Final 11.1 ± 2.2	

Glycophosphopeptical 1g cada 8 horas vía oral o con placebo cada 8 horas vía oral y a los 60 días de iniciado. Los valores representan la media ± desviación estándar. NS = no significativo.

los estafilococos en 20.5 y 22.2%, respectivamente. Cabe hacer mención que se logró identificar, en siete pacientes (15.5%) del grupo de estudio, la bacteria *Achromobacter xilosoxidans* y, en el grupo placebo únicamente en un paciente (2.5%) (cuadro III).

Al inicio del trabajo ambos grupos presentaron concentraciones séricas del TNF- α de 1.4 ± 1.6 pg/ml. A los quince días de recibir *glycophosphopeptical* los pacientes mostraron una disminución importante del TNF- α sérico: 0.5 ± 0.5 pg/ml que representa un $\Delta\%$ de -64 ($p = 0.01$). El grupo placebo, contrariamente, no mostró ninguna variación de los valores iniciales (1.3 ± 1.6 pg/ml) y la concentración fue significativamente mayor que la del grupo de estudio ($p = 0.02$). En relación con el TNF- γ : antes del tratamiento ambos grupos presentaban concentraciones séricas similares (5.5 ± 11.7 pg/ml); estas cifras disminuyeron de manera similar a los quince días de tratamiento pero sin diferencia estadísticamente significativa ($\Delta\%$: grupo placebo -38.8% y grupo de estudio -32.7%). El comportamiento de la IL-1 β (cuadro IV) fue similar en ambos grupos, al inicio del estudio tuvieron una concentración de 1.7 ± 1.5 y 1.5 ± 1.9 pg/ml para los grupos control y de estudio, respectivamente. A los quince días de iniciado el tratamiento en ambos grupos se observó una disminución (no significativa) de la IL-1 β al-

canzando valores muy similares en ambos grupos (grupo control: 0.9 ± 1.3 y grupo de estudio: 1.0 ± 1.5 pg/ml).

En cuanto a la superficie afectada (cuadro V) en el grupo placebo, al inicio del estudio, fue de 38.3 ± 56.3 cm², cifra que disminuyó a 22.4 ± 36.8 cm² a los 60 días de iniciado el tratamiento ($\Delta\% = -41$). La superficie afectada en el grupo tratado con *glycophosphopeptical* presentó, también al inicio, un área muy similar a la del grupo placebo: 39.0 ± 49.5 cm² y al momento de la valoración final las lesiones se habían reducido a 18.3 ± 29.5 cm² ($\Delta\% = -53.1$); la comparación de las reducciones entre ambos grupos resultó significativa: $p = 0.05$. Con respecto a la profundidad de las lesiones al principio, en el grupo placebo, fue de 12.6 ± 6.9 mm y al final de 11.0 ± 8.0 mm; en el grupo de estudio las lesiones al inicio tuvieron una profundidad de 18.6 ± 4.3 mm y a los 60 días de iniciado el tratamiento ésta disminuyó a 4.4 ± 5.9 mm (grupo placebo vs. grupo de estudio $p = 0.01$).

Al analizar el resultado del número de pacientes curados o que experimentaron mejoría (cuadro VI) se observaron resultados con diferencias significativas favorables para el grupo de estudio. En el grupo de estudio 8 pacientes resultaron curados y 7 experimentaron mejoría clínica y, en conjunto, representaron 78.9% del total de pacientes de ese

Cuadro III. Flora bacteriana de 84 muestras encontrada en lesiones de pie diabético de pacientes tratados con *glycophosphopeptical* o con placebo

Microorganismos	Placebo n = 19	<i>Glycophosphopeptical</i> n = 19
<i>Enterococo spp: faecalis, cloacae, baumannii, aerogenes, casseliflavus y avium</i>	9 (23.0%)	10 (22.2%)
<i>Escherichia coli</i>	3 (7.6%)	1 (2.2%)
<i>Achromobacter xilosoxidans</i>	1 (2.5%)	7 (15.5%)
<i>Pseudomona spp: aeruginosa y maltophyla y lluteola</i>	3 (7.6%)	4 (8.8%)
<i>Serratia spp: Martens, monticola</i>	2 (5.1%)	3 (6.6%)
<i>Morganela morgagni</i>	2 (5.1%)	2 (4.4%)
<i>Proteus spp: mirabilis renneri y vulgaris</i>	5 (12.8%)	3 (6.6%)
<i>Klebsiela spp: oxitoca, pneumonie</i>	2 (5.1%)	2 (4.4%)
<i>Acitrobacter freundi</i>	1 (2.5%)	
<i>Estafilococo aureus, E. epidermidis, spp:haemolyticus, hominis, cohani y urealiticu.s</i>	8 (20.5%)	10 (22.2%)
<i>Estreptococo spp: agalactie y anginosus.</i>	2 (5.1%)	3 (6.6%)
<i>Yersinia aldovae</i>	1 (2.5%)	
<i>Cándida albicans</i>	0	1 (2.2%)
Totales	39	45

En el grupo placebo se encontraron 39 cultivos positivos y en el grupo tratado con *glycophosphopeptical* 45 cultivos fueron positivos; cifras que se consideraron como 100%, respectivamente.

Cuadro IV. Concentraciones de citocinas en suero de pacientes con pie diabético antes y después de ser tratados con *glycophosphopeptical* o con placebo

Citocinas (pg/ml)	Placebo (n = 19)	<i>Glycophosphopeptical</i> (n = 19)	U de Mann Whitney
TNF- α			
Inicio	1.3 \pm 1.6	1.4 \pm 1.6	NS
15 días	1.3 \pm 1.1	0.5 \pm 0.5	$p = 0.02$
INF- γ			
Inicio	5.4 \pm 11.0	5.5 \pm 11.7	NS
15 días	3.3 \pm 6.4	3.7 \pm 8.5	NS
IL-1 β			
Inicio	1.7 \pm 1.5	1.5 \pm 1.9	NS
15 días	0.9 \pm 1.3	1.0 \pm 1.5	NS

NS = no significativo.

Las citocinas fueron determinadas al inicio del tratamiento (con *glycophosphopeptical* 1g cada 8 horas vía oral o con placebo cada 8 horas también vía oral) y 15 días después de haber iniciado el tratamiento. Los valores representan la media \pm desviación estándar.

Cuadro V. Evolución de las lesiones de pie diabético de pacientes tratados con *glycophosphopeptical* o placebo

Variable / Grupo	Placebo n = 19	<i>Glycophosphopeptical</i> n = 19	U de Mann Whitney
Superficie cm ²			
Inicial	38.3 \pm 56.3	Inicial 39.0 \pm 49.5	NS
Final	22.4 \pm 36.8	Final 18.3 \pm 29.5	$p = 0.05$
Profundidad mm			
Inicial	12.6 \pm 6.9	Inicial 18.6 \pm 4.3	$p = 0.01$
Final	11.0 \pm 8.0	Final 4.4 \pm 5.9	$p = 0.01$

NS = no significante.

La superficie y profundidad de las lesiones fueron determinadas al inicio del tratamiento con *glycophosphopeptical* 1g cada 8 horas vía oral o con placebo cada 8 horas vía oral y a los 60 días después de haber iniciado. Los valores representan la media \pm desviación estándar.

grupo. En contraste, en el grupo tratado con placebo sólo hubo 4 pacientes curados y 3 con mejoría clínica, lo que representó solamente 36.8% de los casos. El análisis estadístico indica que la diferencia es estadísticamente significativa cuando se comparan ambos grupos: $p = 0.03$.

El cálculo del número de pacientes necesario a tratar (NNT) para obtener una diferencia clínica favorable arrojó 6

pacientes. Para ello se consideró sólo el número de los pacientes curados en ambos grupos. No se encontraron reacciones adversas graves al medicamento en estudio. Solamente hubo reacciones leves como náuseas, mareos y cefalea en menos de 5% de ambas muestras y sin diferencias entre grupos. En ningún caso hubo necesidad de abandonar el tratamiento y es importante mencionar que no hubo ninguna muerte.

Cuadro VI. Evolución clínica de pacientes con pie diabético tratados con *glycophosphopeptical* o placebo

Grupo	Curación o mejoría	Falla	χ^2 de Pearson (curados + mejoría)
<i>Glycophosphopeptical</i> 1g/8 horas vía oral (n = 19)	Curados 8 (42.1%) Mejoría 7 (36.8%) Total 15 (78.9%)	4 (21.05%)	p = 0.03
Placebo 1g/8 horas vía oral (n = 19)	Curados 4 (21.0%) Mejoría 3 (15.7%) Total 7 (36.8%)	12 (63.15%)	

Los criterios de curación, mejoría o falla a los 60 días se establecieron de acuerdo con los criterios de Pecoraro y Reiberg.²⁹ Placebo: mezcla de lactosa 370 mg, estearato de magnesio 5 mg y celulosa microcristalina.

Discusión

Las variables clinicodemográficas resumidas en el cuadro I son similares en ambos grupos lo que otorga confiabilidad al presente trabajo; a excepción del tiempo de evolución de las lesiones antes del ingreso al estudio que resultó ser significativamente mayor en el grupo tratado con placebo. Sin embargo, y de acuerdo con la clasificación de Lipsky, las lesiones fueron significativamente más severas en el grupo tratado con el *glycophosphopeptical*. A este respecto es importante considerar que las complicaciones van más unidas tanto a la severidad como al tiempo de evolución de las lesiones. Lo anterior es relevante porque se obtuvieron mejores resultados en el grupo de estudio a pesar que en este grupo, por azar, se concentraron los pacientes con las lesiones más críticas.

Desafortunadamente, la complicación más importante del pie diabético a largo plazo es la amputación.¹ En el presente estudio el porcentaje de amputaciones mayores fue similar en ambas poblaciones; sin embargo, si tomamos en consideración que el número total de amputaciones fue menor en el grupo de pacientes que recibieron *glycophosphopeptical* ($p = 0.04$) dicho resultado habla en favor de la posible utilidad del fármaco.

Las alteraciones encontradas en la biometría hemática son similares a otras encontradas en este tipo de pacientes^{12,13} y, en cuanto a la recuperación de la linfopenia, el *glycophosphopeptical* ha sido reportado como capaz de incrementar la celularidad de la médula ósea.¹⁹

En relación con los microorganismos aislados en todos los pacientes es evidente hubo una influencia debida a la ingesta de antibióticos antes del estudio. En este tenor, cabe recordar que en ambos grupos se encontró *Achromobacter xiloxidans* que, de acuerdo con Shie-Sen et al., fue aislada por primera vez en 1971 por Yabuchi Oyama en pacientes con otitis media crónica. Este microorganismo se considera oportunista y en inmunodeprimidos se asocia con alta leta-

lidad por sepsis;³⁰ sin embargo, no hubo fallecimientos en nuestro estudio, lo que sugiere un comportamiento más bien no patógeno.

Debido a la importancia de las citocinas en los procesos inflamatorios e infecciosos se procedió a determinar, en ambos grupos de pacientes, las concentraciones séricas del TNF- α , la IL-1 β y el INF- γ . Estas determinaciones se practicaron el quinceavo día del tratamiento pues se pensó que era tiempo suficiente para observar modificaciones, tal y como sucedió con el TNF- α . Esto debido a que las concentraciones de éste se modifican muy rápidamente por ser una molécula de alerta que tiende incrementarse rápidamente ante cualquier estímulo nocivo.³¹⁻³³ A los 30 días, por ejemplo, su disminución podría haberse interpretado como consecuencia natural de la reducción del proceso inflamatorio. La proteína C reactiva, marcador clásico de la inflamación, también disminuyó en el grupo tratado con el *glycophosphopeptical*.^{34,35} Las disminuciones de las concentraciones séricas del TNF- α y de la proteína C reactiva concuerdan con los reportes de la literatura.³⁶

Otro dato sugestivo de la utilidad del *glycophosphopeptical* es el hecho de que, de manera significativa, encontramos mejoría tanto en el área de superficie afectada como en la profundidad de la lesión. Sin embargo, es importante considerar que el método utilizado no es el más adecuado; existen otros métodos de medición más adecuados con plantillas cuadrículas estériles³⁷ o, más recientemente, con fotografía tridimensional. Aún así, el sistema de medición empleado permitió observar diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

En el grupo de estudio, de acuerdo con los criterios de Pecoraro y Reiberg²⁸ que valoran la evolución clínica de la lesión, hubo el doble de pacientes que reunieron los criterios de curación y de mejoría si se comparan con los del grupo tratado con placebo, lo que sugiere utilidad en el uso del *glycophosphopeptical*.

Cabe señalar que nuestros resultados concuerdan con otros reportados anteriormente con otros productos. Así, se ha utilizado el factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF), con fines similares, obteniendo mejoría en cuanto al porcentaje de amputaciones pero no en cuanto a la mejoría o la curación.^{12,13} Previamente habíamos demostrado que el *glycophosphopeptical* en pacientes con pie diabético incrementa la capacidad fagocítica y microbicida de los neutrófilos, lo que ayuda a explicar los resultados presentes.²⁴ Sin embargo, hay que considerar que cada inmunorregulador tiene un mecanismo diferente de acción, lo que puede explicar la diferencia de resultados. Estos hechos, en conjunto, sugieren que algunos compuestos con propiedades inmunorreguladoras son útiles en pacientes con pie diabético. No obstante, consideramos que son necesarios más estudios para encontrar el fármaco ideal.

Conclusiones

Los pacientes con lesiones de pie diabético tratados con *glycophosphopeptical*, en comparación con aquellos tratados con placebo, mostraron mejoría clínica en cuanto al número de amputaciones, la evolución de las dimensiones de las lesiones y en cuanto al número de pacientes que mostraron curación o mejoría. Estos indicadores clínicos se correlacionan adecuadamente con las concentraciones séricas de proteína C reactiva y del TNF- α . Su uso es seguro.

Referencias

- Lavery LA, Armstrong DG, Wunderlich RP, Tredwell J, Boulton AJ. Diabetic foot syndrome: evaluating the prevalence and incidence of foot pathology in Mexican Americans and non-Hispanic whites from a diabetes disease management cohort. *Diabetes Care* 2003;26:1435-1438.
- Dalla Paola L, Faglia E. Treatment of diabetic foot ulcer: an overview strategies for clinical approach. *Curr Diabetes Rev.* 2006;2(4):431-447.
- Levin-Marvin E. Pathogenesis and General Management of Foot Lesions. *The Diabetic Patient En: Bowker HJ and Pfeifer A.M. The Diabetic Foot.* St. Louis, Missouri USA: Edit. Mosby, 2001 p. 219-226.
- Janeway-Charles A, Travers P, Walport M, Shlomchik MJ. Conceptos básicos de Inmunología. En: Janeway-Charles. *Inmunobiología. El sistema inmunitario en condiciones de salud y enfermedad.* Barcelona, España: Edit. Masson, 2003 p. 1-34.
- Cavaillon JM, Adib-Conquy M, Fitting C. Citokine cascade in sepsis. *Scand J Infect Dis* 2003;35(9):535-544.
- Sriskandan S, Altmann DM. The Immunology of sepsis. *J Pathol* 2008;214:211-223.
- Ansari MA, Shukla VK: Foot infections. *Int J Low Extrem Wounds* 2005;4(2):74-87.
- Bertoni AG, Krop JS, Anderson GF, Brancati FL. Diabetes-related morbidity and mortality in a national sample of U.S. elders. *Diabetes Care* 2002;25(3):471-475.
- Ruiz Mercado H, Miranda Sosa SA, González Higuera JA, Ochoa González FJ. Microorganismos bacteriológicos más frecuentes y resistencia en las infecciones de pie del diabético. En el Hospital Regional "Dr. Valentín Gómez" Fariás del ISSSTE, Zapopan Jalisco. *Revista Mexicana de Angiología* 2003;35(4):177-184.
- Heinzelmann Michael, Scout M, Lam T. Factors predisposing to bacterial invasion and infection. *Am J Surg* 2002;183:179-190.
- Dos Santos VP, da Silveira DR, Caffaro RA. Risk factors for primary major amputation in diabetic patients. *Sao Pable Med J* 2006;124(2):66-70.
- Fausto de Lalla, Pellicer G, Stazzabosco M, Martín Z, Du Jardin G, Llorca L, et al. Randomized Prospective Controlled Trial of Recombinant-Granulocyte Colony - Stimulating Factor as Adjunctive Therapy for Limb Threatening Diabetic Foot Infection. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy.* 2001;45(4):1094-1098.
- Cruciani M, Lipsky BA, Mengoli C, de Lalla F. Are Granulocyte Colony-Stimulating Factors Beneficial in Treating Diabetic Foot Infection? a meta-analysis. *Diabetes Care* 2005;28(2):454-460.
- Perez García A. AM3 in HBV vaccination. *Kidney International* 2002;61: 1845-1852.
- Villarubia G, Calvo CG, Sada G. Las nuevas vacunas y la respuesta inmunológica. El entorno de la presentación antigénica. Adyuvantes como inductores de linfocitos "T" inductores de respuestas de mediación celular. *Med Clin* 1996;107(5):185-196.
- Reyes Eduardo A, de la Hera A, Lucas P, Álvarez-Sala S, Álvarez-Sala JL, Álvarez-Mon M. Treatment UIT AM3 Restores defective T-Cell function in COPD patients. *Chest* 2006;129(3):527-535.
- Reyes Martín E, Fernández Almendros C, Álvarez-Sala JL, Álvarez-Mon M. Efecto del inmunomodulador AM3 sobre las agudizaciones en enfermos con bronquitis crónica: una revisión sistemática de estudios controlados. *Rev Clín Esp* 2004;204(9):466-471.
- Albillos A, Nieto M, Ubeda M, Muñoz L, Fraile B, Reyes E, et al. The biological response modifier AM3 attenuates the inflammatory cell response and hepatic fibrosis in rats with biliary cirrhosis. *Gut* 2010;59(7):943-952.
- Prieto A, Reyes E, Bernstein ED, Martinez B, Monserrat J, Izquierdo JL, et al. Defective natural killer and phagocytic activities in chronic obstructive pulmonary disease are restored by glycophosphopeptical (immunoferon). *Am J Respir Crit Care Med* 2001;163(7):1578-1583.
- Milla A, Sanchiz F. Bone marrow recuperation by AM3 in breast cancer patients submitted to aggressive adjuvant treatment A preliminary report. *Anticancer Res* 1986;6(4):865-868.
- Millan RF, Rousaud BF, Rousaud BA. Estudio piloto del tratamiento de la cystitis recidivante en la mujer mediante AM3 (Inmunoferon) 2003;27(3):196-201.
- Córdova A, Martín FJ, Reyes E, Alvarez MM. Evidencia del papel beneficioso de un fármaco inmunomodulador en deportistas de élite. *Journal of Sports Sciences* 2004;22(9):827-833.
- Miravittles M. Tratamiento farmacológico de las agudizaciones infecciosas de la EPOC. *Arch de Bronconeumol* 2007;43(Supl 4):18-26.
- Ruiz MH, Serrano LJ, Revilla CH, Meza VMA, González HJA, Parra PR. Utilidad del tratamiento coadyuvante con glicofosfopeptical como inmunomodulador en lesiones del pie del diabético. *Revista Mexicana de Angiología* 2008;34(4):166-168.
- Mazen-Bader. Diabetic foot infection. *Am Fam Physician* 2008;78(1):71-79.

26. Green AD, Feldman LV, Stevens JM, Sima AAF, Albers JW, Pfeifer MA. Diabetic Neuropathy. En: Porte D. Jr. Sherwin SR. Editors, Diabetes mellitus. Stanford, Connecticut USA: Appleton & Lange, 1997 p. 1009-1076.
27. Lipsky BA, Berendt AR, Deery HG, Embil JM, Joseph WS, Karchmer AW, et al. Diagnosis and treatment of diabetic foot infections. Clin Infect Dis 2004 Oct 1; 39(7): 885-910.
28. Purandare H, Supe A. Immunomodulatory role of tinospora cordifolia as an adjuvant surgical in surgical treatment of diabetic foot ulcers: a prospective randomized controlled study. Indian J Med Sci 2007;61(6):3471-3551.
29. Argimon-Palás J. Tamaño de la muestra. En: Métodos de Investigación Clínica y Epidemiológica. Madrid España: Elsevier, 2004 p. 141-150.
30. Shie-Sen S, Huang ChT, Leu HS. Characteristics of Achromobacter xilosoxidans bacteremia in northern Taiwan. J Microbiol Immunol Infect 2005;38:277-282.
31. Darvas K, Futó J, Okrös I, Gondos T, Csomós A, Kupcsulik P. Principles of intensive care in severe acute pancreatitis in 2008. Orv Hetil 2008;149(47):2211-2220.
32. Lerma-Díaz JM, Hernández-Flores G, Domínguez-Rodríguez JR, Ortiz-Lazareno PC, Gómez-Contreras P, Bravo-Cuellar A, et al. In vivo and in vitro sensitization of leukemic cells to adriamycin-induced apoptosis by pentoxifylline. Involvement of caspase cascades and Ikappa Balph phosphorylation. Immunol Lett 2006;103(2):149-158.
33. Bravo-Cuellar A, Ortiz-Lazareno PC, Lerma-Díaz JM, Domínguez-Rodríguez JR, Jave-Suarez LF, Aguilar-Lemarroy A, et al. In vivo and in vitro sensitization of leukemic cells to adriamycin-induced apoptosis by pentoxifylline. Involvement of caspase cascades and Ikappa Balph phosphorylation. Mol Cancer 2010;19(9):114.
34. Cai B, Deitch EA, Ullo L. Novel insights for systemic inflammation in sepsis and hemorrhage. Mediators Inflamm 2010. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2902015/?tool=pubmed>
- 35- Bravo Cuellar A, Romero Ramos E, Hernández Flores G, Romo Pérez FJ, Bravo Cuellar L, Lerma Díaz JM. Comparación de dos técnicas anestésicas sobre los niveles plasmáticos de marcadores inflamatorios. Cirugía y Cirujanos 2007;75(2):99-105.
36. Póvoa P, Coelho L, Almeida E, Fernandes A, Mealha R, Moreira P, et al. C-reactive protein as a marker of infection in critically ill patients. Clin Microbiol Infect. 2005;11(2):101-108.
37. Sheehan-Peter, Jones P, Caselli A, Giurini MJ, Veves A. Percent Change in Wound Area of Diabetic Foot Ulcers Over a 4 Week Period Is Robust Predictor of Complete Healing in a 12 Week Prospective Trial. Diabetes Care 2003;26:1879-1882.