

# ESTUDIO CLÍNICO DEL USO TÓPICO DE CUPERSANgel® PARA EL TRATAMIENTO DE ÚLCERAS DE PIE DE DIABÉTICO GRADOS I Y II.

Dra. Carmen Lía Solís, EU Monica Alucema, Gisela Araneda, Sebastian Herreros, Luis Antonio Fernandez PhD. , Rafael Méndez MS.

Asociación de Diabéticos de Chile (ADICH), Quimilab HT, Cuperscience.

Contacto: Rafael Méndez Fadol correo: rmendez@cuperscience.cl

## RESUMEN

En una serie de 30 casos clínicos desarrollados en la Asociación de Diabéticos de Chile (ADICH), se demostró la efectividad de CUPERSANgel® (hidrogel de cobre con Aloe Vera) para el tratamiento de heridas crónicas en pacientes con úlceras de pie diabético grados I y II (Wagner). El ensayo clínico fue diseñado siguiendo la norma técnica N°57 (MINSAL) que regula la ejecución de ensayos clínicos que utilizan productos farmacéuticos en seres humanos. Fue autorizado por el Comité de Ética Científica del Servicio de Salud Metropolitano Oriente con fecha 14 de octubre 2014. La investigación estuvo a cargo de la Dra. Carmen Lía Solís, Diabetóloga, Director médico de la ADICH, y las curaciones fueron dirigidas por la enfermera jefe EU Mónica Alucema. Los pacientes asistieron a curación dos veces por semana, se evaluaron los niveles de cobre sérico antes y durante el tratamiento. Se tomaron cultivos bacterianos al inicio y término del tratamiento, y se realizó un seguimiento fotográfico cada 7 días. Un 73,5 % de los pacientes completó el estudio, y de ellos el 90,5% fue dado de alta, sin complicaciones. No se observaron efectos adversos ni aumento en los niveles séricos de cobre durante el período de tratamiento.

## INTRODUCCIÓN

Las heridas crónicas como úlceras varicosas, úlceras por presión y úlceras de pie de diabético, son heridas de difícil cicatrización, que afectan principalmente a personas mayores de 60 años, diabéticos con compromisos neuropáticos y vasculares, que resultan en muy mala irrigación sanguínea a los tejidos periféricos. Uno de los aspectos más graves de estas heridas crónicas es la infección, pues empeora el pronóstico y si no es correctamente tratada puede ser necesario la amputación de la extremidad afectada. Las heridas que están colonizadas por biofilms bacterianos favorecen un estado inflamatorio y es común encontrar niveles exacerbados de proteasas alterando el delicado equilibrio entre la degradación y la reparación de tejido - y por lo tanto retardando la cicatrización. En este estado se reproduce un tejido granulador hemorrágico frágil y con una producción reducida de fibroblastos y colágeno. (1, 2)

Se estima que en 2013 hubieron 382 millones de diabéticos en el mundo y que la prevalencia de tener una úlcera de pie de diabético es de 5 a 10%. Según la OMS cada 20 segundos en el mundo hay una amputación a consecuencias de la diabetes, más del 85% de las amputaciones fueron precedidas por una úlcera, sobre el 70% de las personas amputadas muere dentro de los 5 años siguientes y cada año aproximadamente 4 millones de personas en el mundo desarrollan

una nueva úlcera de pie de diabético. (International Working Group on the Diabetic Foot, <http://iwgdf.org/>).

En países desarrollados más del 4% de las personas con diabetes tienen úlceras de pie, usando entre el 12 al 15% de los recursos de salud destinados a diabetes. Se estima que en países en desarrollo los gastos pueden alcanzar hasta un 40%. En Chile se realizan cada año más de 2.000 amputaciones por causa de úlcera de pie de diabético (3). La necesidad de llevar a cabo esta investigación nació luego de las observaciones realizadas por veterinarios en el sur de Chile sobre el uso del gel de cobre como un dipping preventivo de mastitis bovina. En un principio el gel fue diseñado para su aplicación en ubres de vacas lecheras, lo cual llamó rápidamente la atención de los veterinarios ya que pezones heridos sanaban muy velozmente y la calidad de la piel mejoraba notablemente. Esas observaciones nos llevaron a realizar pruebas en perros heridos de la calle para lo cual trabajamos junto a la Clínica Veterinaria Pucará y la Agrupación de ayuda y adopción de canes puro corazón de Osorno, el seguimiento estuvo a cargo del MV Felix Gallardo, documentando casos con resultados que sugerían fuertemente que podría ser usado para tratar heridas de humanos.

Las primeras experiencias se realizaron entre personas cercanas al equipo desarrollador, de esta manera se demostró que el producto era seguro y no irritaba. Se hicieron algunas pruebas en heridas complejas observándose resultados que dieron el paso para el desarrollo de un estudio más elaborado.

### Diseño experimental

El ensayo clínico fue realizado en la Asociación de Diabéticos de Chile (ADICH) entre Noviembre del 2014 y Julio del 2015. Participaron en el ensayo 30 pacientes hombres y mujeres mayores de 45 años diabéticos, neuropáticos, con índice de masa corporal entre 20-40, con diversos tipos de lesiones, principalmente grado I y II Wagner y según criterio del equipo investigador. Quedaron excluidos del estudio pacientes con cáncer, menores de 18 años, mujeres embarazadas, o en periodo de lactancia.

La serie de casos clínicos hizo el seguimiento a un solo grupo de estudio (n°30) al que se le realizaron curaciones con CUPERSANgel® (hidrogel de cobre y Aloe Vera). Los pacientes participaron en el estudio de forma voluntaria, al momento del ingreso firmaron un consentimiento informado, se les tomó una muestra de sangre y se les fotografió la herida junto a una regla en la que estaba escrito el número de identificación del paciente y la fecha de la toma de foto. El ingreso de los pacientes al estudio fue dirigido por la Dra. Carmen Lía Solís y las curaciones fueron realizadas y/o supervisadas por la enfermera Jefe Mónica Alucema.

El protocolo de curación definido para este estudio siguió el siguiente orden: primero valoración y fotografía de la herida. Llenado de la ficha clínica en la que se registró la fecha de visita, valoración de las características de la herida (Wagner), glicemia y hemoglobina glicosilada. Se tomaron muestras de sangre para medir cobre sérico al día 1 y al día 15 (aprox) de tratamiento. Las muestras microbiológicas de inicio y durante el tratamiento se tomaron del centro de la herida utilizando torulas estériles T'enT'-SS. Las muestras fueron transportadas a un laboratorio clínico para su análisis. Se realizó desbridamiento del tejido esfacelado de manera mecánica con bisturí o tijera e irrigación con suero fisiológico, se aplicó una capa de 4 mm del CUPERSANgel® (hidrogel de cobre y Aloe Vera), se cubrió con gasa parafinada (Jelonet®) y un apósito secundario de gasa estéril. En las heridas con tejido esfacelado de difícil extracción se realizó primero desbridamiento autolítico por dos días utilizando el hidrogel Askina® y una vez eliminado el tejido es-

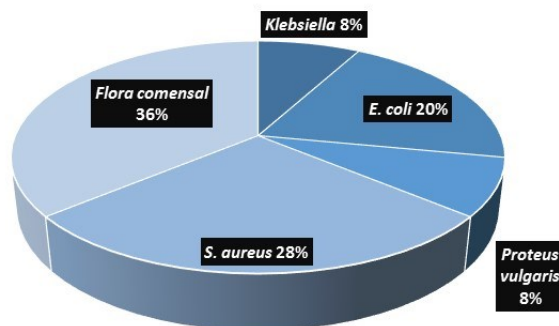
facelado se comenzó el tratamiento con CUPERSANgel® (hidrogel de cobre y Aloe Vera). Las curaciones se realizaron dos veces por semana. Se tomaron fotografías de la herida junto a una regla cada 7 días. Las imágenes se analizaron en un programa informático (Image J) y se hizo el seguimiento del área de la herida. Los pacientes fueron dados de alta una vez que la herida estuvo cicatrizada.

### Resultados

De los 30 pacientes inscritos en el estudio 15 presentaban lesiones grado I y gracias a la baja gravedad de sus lesiones terminaron el tratamiento en 15 días promedio. Los 15 pacientes con lesiones grado II tuvieron una media de tratamiento de 39,8 días.

Todos los pacientes del estudio presentaron niveles de cobre sérico dentro de los valores normales (70-140 µg/dl) - antes de iniciar el tratamiento- con un promedio de 97,6 ± 21,2 µg/dl y durante el tratamiento de 96,4 ± 19,1 µg/dl siendo la diferencia estadísticamente no significativa (p>0,05).

En el análisis microbiológico de las heridas se observó 24 pacientes infectados al inicio del tratamiento, 4 resultaron negativos y 2 pacientes no fueron analizados. El 100% de los pacientes infectados continuaron infectados durante el tratamiento a pesar que fue posible distinguir la disminución del mal olor y la evolución positiva de las úlceras tratadas.



**Gráfico 1:** Especies bacterianas encontradas en el análisis microbiológico de las heridas

De los 30 pacientes inscritos, 22 (73%) terminaron el estudio. 6 pacientes con heridas grado I (20%) y 2 pacientes con heridas grado II (6,7%) abandonaron el estudio.

**Tabla 1: Cohorte de pacientes: clasificación y resultados**

	HERIDAS GRADO I		HERIDAS GRADO II	
	(a)		(a)	
<b>CANTIDAD DE PACIENTES INSCRITOS</b>	<b>15</b>		<b>15</b>	
<b>DIAGNOSTICO</b>				
DIABETES TIPO I	<b>15</b>		<b>15</b>	
<b>PARÁMETRO</b>	<i>Promedio</i>	<i>DS</i>	<i>Promedio</i>	<i>DS</i>
EDAD (años)	58,8	± 12,4	60,7	± 8,5
HbA1c (%)	9,5	± 1,5	8,2	± 1,5
COBRE SÉRICO (b)				
INICIO DEL TRATAMIENTO (µg/dl)	96,5	± 18,4	98,6	± 20,3
DURANTE EL TRATAMIENTO (µg/dl)	97,5	± 21,2	95,2	± 20,2
<b>RECUESTO BACTERIANO</b>				
INICIO DEL TRATAMIENTO (ufc/ml)	<b>11</b> positivo (c)		<b>13</b> positivo (c)	
DURANTE EL TRATAMIENTO (ufc/ml)	<b>11</b> positivo (c)		<b>13</b> positivo (c)	
<b>PACIENTES QUE FINALIZARON EL TRATAMIENTO</b>	<b>9</b> (60%)		<b>13</b> (87%)	
<b>CON ÉXITO (d)</b>	<b>8</b> (89%)		<b>12</b> (92%)	
<b>DURACIÓN DEL TRATAMIENTO (días)</b>	<b>15,0</b>	<b>± 13,9</b>	<b>39,8</b>	<b>± 34,3</b>

(a): Clasificación de Wagner (6)

(b): Intervalo de referencia: 70 -140 µg/dl. No hay dependencia del sexo del paciente

(c): Recuento sobre 100,000 ufc/ml

(d): Reducción en 70% o mas de la superficie de la herida (Software de análisis de imágenes: Imagem)

## Discusión

Las observaciones generales sobre el funcionamiento de CUPERSANgel® (hidrogel de cobre con Aloe Vera) fue positiva pese a no tener significancia estadística debido al bajo número de pacientes estudiados. En casi todos los casos se observaron resultados sobresalientes, menores tiempos de cicatrización, desaparición del mal olor en la herida, presencia de tejido granulatorio, contornos y piel circundante a la herida sana sin presencia de tejido macerado. Los pacientes que participaron del estudio en su gran mayoría eran socios de la ADICH y algunos frecuentaban las curaciones en el mismo lugar, por lo que fue posible distinguir por parte de la enfermera y el paciente tiempos menores de sanación en comparación al tratamiento de heridas similares tratadas anteriormente con otros procedimientos y productos.

Los pacientes diabéticos al tener mala irrigación sanguínea en las extremidades tienen tiempos de cicatrización mayores en comparación a personas sanas y una pequeña herida puede llegar a tardar meses en cicatrizar. La infección de la misma favorecerá un estado inflamatorio con producción exacerbada de proteasas que son contraproducentes en la formación del nuevo tejido (1). La mayoría de los pacientes inscritos derivaron desde otros tipos de tratamientos que resultaron poco efectivos y presentaban una evolución de cicatrización escasa o nula. En casi el 100% de los casos se

observó la re activación de la cicatrización. Uno de los casos más sorprendentes corresponde al del paciente ID 24 , masculino de 66 años, HbA1c 7,4% con una úlcera arterial de 4 años de antigüedad en la que fue posible el cierre de la úlcera en solo 22 días de tratamiento, obteniéndose además una mejora notoria del tejido circundante a la úlcera. La paciente que estuvo más tiempo en tratamiento ID 17, femenina de 64 años, HbA1c 10,2% presentaba 3 lesiones definidas como necrosis lipídica, infectadas, con cavernas y abundante exudado con una antigüedad de 3 años. Participó en el estudio por 3 meses obteniéndose una mejora sustancial, terminado el seguimiento de 3 meses, la paciente continuó el tratamiento mediante la aplicación en su casa, los controles rutinarios evidenciaron mejora continua. Pese a lo extenso de las lesiones y el largo tratamiento no se observaron alteraciones significativas en los niveles séricos de cobre al igual que en todos los pacientes tratados. Esto se explica ya que el cobre al estar acomplejado a una macro molécula está inactivo y por lo tanto no tiene posibilidad de permear membranas celulares. El cobre activo o libre estimamos que no supera el 1 a 2% del total de producto aplicado, lo cual podría ser suficiente para promover la angiogénesis (4) y es suficiente para actuar como agente bactericida sin ser irritante.

Pruebas realizadas previamente en vacas y perros demostraron la seguridad y buenos resultados del producto. En vacas el producto fue usado en más de 1.000 ejemplares como sellador de pezones post-ordeña, los veterinarios describieron mejoras en la calidad del tejido mamario, y cicatrización muy veloz de grietas en los pezones. Dichas observaciones motivaron las pruebas del producto como cicatrizante en perros. Las pruebas que se realizaron en perros aparte de demostrar la efectividad para combatir infecciones cutáneas y como cicatrizante, demostraron resultados que sugieren la nula toxicidad ya que los animales en todos los casos se “lamieron el producto” ingiriendo volúmenes considerables de él sin mostrar complicaciones.

Los niveles seguros de ingesta oral diaria de cobre -en adultos- según la Food and Drug Administration (FDA); son de 10 mg diarios. Niveles de cobre sérico superiores a 5 mg/l son asociados a intoxicación grave. Bajo estos valores referenciales realizamos un ejercicio simple para estimar el nivel de toxicidad de nuestro producto. Si se realizara la aplicación máxima de 10 ml/día de CUPERSANgel® sobre una úlcera, (volumen exagerado) sería posible encontrar 0,5 mg/l de cobre libre sobre la herida, lo cual es 20 veces menor a los niveles seguros de ingesta diaria de cobre y 10 veces menor al nivel sérico considerado como tóxico. Por consiguiente el aporte de cobre estaría bajo el rango de cobre sérico considerado como normal en adultos (0,7-1,4 mg/litro) (5, 10, 11).

Los pacientes sin trastornos sensoriales describieron sentir ardor al momento de la aplicación, particularmente el paciente ID 9 masculino 70 años, HbA<sub>1c</sub> 5,8%, con una úlcera arterial en el talón quien manifestó niveles altos de ardor durante el tratamiento pero prefirió la resiliencia y continuar con las curaciones ya que se observó avance en su tratamiento. El cierre total de la úlcera se consiguió a los 29 días de tratamiento. El paciente describió sentir ardor también en el uso de hidrogel convencional.

En los casos de úlceras que tenían tejido esfacelado de difícil extracción se observó que la aplicación de CUPERSANgel® dificultaba la debridación autolítica, por lo que se decidió que el tratamiento debía comenzar con la aplicación de hidrogel sin cobre por 3 días para favorecer el desbridamiento autolítico. Se observó que este paso es crítico para obtener buenos resultados de cicatrización, ya que es necesario extraer todo el tejido muerto para dar espacio al desarrollo del tejido nuevo. La aplicación del producto de cobre, se realiza únicamente en heridas limpias sin tejido

esfacelado, ya que el cobre inhibe la actividad de las proteasas que llevan a cabo el desbridamiento autolítico y por lo tanto entorpece la eliminación del tejido muerto.

Los pacientes ID 9 e ID 21 masculino 48 años, HbA<sub>1c</sub> 7,3%, úlcera arterial, representan ejemplos en los cuales fue necesario la aplicación de hidrogel sin cobre para favorecer el desbridamiento autolítico y posterior continuación del tratamiento con CUPERSANgel®. El paciente ID 21 fue derivado desde una clínica privada donde no pudieron cerrar la úlcera, estuvo en tratamiento por 36 días con CUPERSANgel® hasta que cicatrizó por completo.

Se observó que con CUPERSANgel® se evita y revierte la maceración del tejido circundante a la herida, un claro ejemplo es el paciente ID 14 masculino 63 años, HbA<sub>1c</sub> 8,1 ampolla por roce, se extrajo la epidermis asomándose tejido macerado (color blanco). Con solo una aplicación de CUPERSANgel fue suficiente para observar el cambio de color y obtener piel sana a los dos días. Otro caso donde se observó esta cualidad del producto fue en el paciente ID 13 masculino 70 años, HbA<sub>1c</sub> 10,1% quien ingresó derivado de otro centro con una úlcera grado IV, el paciente fue inscrito en el estudio pese a que no cumplía con el criterio de inclusión por la valoración inicial de su úlcera. La inscripción fue una decisión tomada por el equipo médico que impulsado por los buenos resultados observados en otros pacientes decidió probar como última opción el tratamiento con cobre. No fue posible salvar el orjejo pero si se pudo observar como desapareció el tejido macerado del contorno de la úlcera en solo 2 días.

En el caso de pacientes neuropáticos la aplicación de CUPERSANgel® no significó ninguna molestia. Fue aplicado en quemaduras de segundo grado ID 8 masculino 63 años, HbA<sub>1c</sub> 8%, con quemaduras de agua caliente en los empeines. La piel dañada fue regenerada en 25 días.

Las infecciones fúngicas interdigitales fueron tratadas con CUPERSANgel®, el caso de la paciente ID 11 femenina 64 años, HbA<sub>1c</sub> 9,4 % muestra un excelente ejemplo de la efectividad del producto para combatir micosis, se obtuvo una clara mejoría a los 10 días de tratamiento.

#### **Análisis Microbiológico**

En los análisis realizados a las úlceras, se obtuvo presencia de bacterias antes y después de la aplicación de CUPERSANgel®. No fue posible demostrar la disminución de la carga bacteriana debido a que se utilizó una técnica cualitativa. Sin embargo fue posible distinguir la eliminación del mal

olor de todas las úlceras que venían infectadas, lo cual sugiere fuertemente la disminución de la carga microbiana en la herida. Los resultados positivos en los cultivos bacterianos antes y después del uso del hidrogel, motivaron el desarrollo de una solución con mayor capacidad limpiadora y bactericida (CUPERSAN<sup>clean</sup>).

Las heridas crónicas, se encuentran permanentemente colonizadas por bacterias refugiadas en biofilms, dichas estructuras están constituidas de una sustancia polimérica extracelular muy resistente, que impide el ingreso de anticuerpos y antibióticos, por lo que su erradicación depende de la ruptura del biofilm. Las comunidades bacterianas allí alojadas, secretan toxinas que mantienen el estado inflamado de la zona y por lo tanto altos niveles de exudado, lo que brinda las condiciones de humedad óptimas para favorecer la proliferación bacteriana. El desarrollo de un producto con capacidad de romper los biofilms y así permitir el contacto directo entre los iones de cobre y las bacterias, concluyó en la creación de una solución para la irrigación de heridas y eliminación de biofilms bacterianos a base de cobre, tensoactivos y otros elementos. Tiene acción bactericida superior a CUPERSANgel<sup>®</sup> ya que posee mayor concentración de cobre libre y otros componentes como tensoactivos que degradan las fuertes estructuras de los biofilms. Los resultados de los experimentos in vitro de concentración mínima inhibitoria (MIC) frente a *S. aureus* ATCC 25923 dieron una MIC para CUPERSANgel<sup>®</sup> de 40.000 ppm y una MIC de 20.000 ppm para el nuevo producto (Antecedentes de desarrollo interno).

### **Mecanismo de acción de CUPERSANgel<sup>®</sup>**

El mecanismo de acción que nosotros postulamos se basa en 3 principios claves.

1. El cobre como elemento bactericida permite bajar la carga microbiana de la herida lo cual a su vez permite la disminución del estado inflamatorio.
2. El cobre como elemento de estimulación de la angiogénesis, incentiva la producción del factor de crecimiento vascular endotelial VEGF (9), y por lo tanto el desarrollo de nuevos vasos sanguíneos, lo cual en un paciente con compromiso vascular periférico representa una importante contribución al proceso de cicatrización (4).
3. El cobre como inhibidor de proteasas genera una condición muy favorable en el proceso de cicatrización de heridas crónicas, ya que ellas presentan niveles exacerbados de proteasas que degradan al tejido recién regenerado y maceran el borde de la herida.

Medimos la capacidad inhibitoria del cobre frente a proteasas, se ensayó in vitro utilizando como modelo de prueba un detergente de lavado enzimático que contiene proteasas, las cuales fueron expuestas a diferentes concentraciones de cobre. Como resultado a esta exposición se observó de forma evidente la inhibición de las proteasas del detergente en función a la concentración de Cu<sup>++</sup> presente en la solución de lavado. En un segundo lavado se observó que la presencia del hidrogel de cobre en la solución de lavado disminuyó la efectividad de las proteasas en un 68%.

Finalmente la combinación con Aloe Vera aporta a la formulación componentes claves como vitaminas, minerales, aminoácidos esenciales y polisacáridos útiles para la regeneración celular.(7, 8)

### **Conclusiones**

Los resultados obtenidos no permiten realizar conclusiones estadísticamente significativas, sin embargo esta serie de casos sugieren fuertemente que el uso de CUPERSANgel<sup>®</sup> es adecuado para el tratamiento de úlceras de pie diabético, úlceras varicosas, úlceras arteriales, úlceras plantares, necrosis lipídica, micosis interdigital, quemaduras grado 2, cortes y heridas traumáticas, sin alterar el nivel de cobre sérico. El uso de CUPERSANgel<sup>®</sup> reactiva la cicatrización de heridas estancadas y evita la maceración del tejido circundante.

CUPERSANgel<sup>®</sup> solo debe ser aplicado una vez que se ha retirado todo el tejido esfacelado o necrótico, ya que este inhibe el funcionamiento de las proteasas y por lo tanto retarda el desbridamiento autolítico.

### **Agradecimientos**

En primer lugar agradecemos a los pacientes que formaron parte del estudio, al equipo de investigación de la Asociación de Diabéticos de Chile, a Teresa Ávila, y especialmente a la presidenta de ADICH Miriam Rojas Pizarro por la buena disposición y apoyo en el desarrollo del estudio.

### **Referencias:**

1. Consenso internacional. Función de las proteasas en el diagnóstico de heridas. Revisión de un grupo de trabajo de expertos. Londres: Wounds International, 2011.
2. International Best Practice Guidelines: Wound Management in Diabetic Foot Ulcers. Wounds International, 2013. Disponible en: [www.woundsinternational.com](http://www.woundsinternational.com)
3. Seguel G. ¿Por qué debemos preocuparnos del pie diabético? Importancia del pie diabético. Rev Med Chile 2013; 1464-1469.
4. .A. Parke, P. Bhattacharjee, R. M. Palmer, N. R. Lazarus. Characterization and quantification of copper sulfate-induced vascularization of the rabbit cornea.

Am J Pathol. 1988 January; 130(1): 173–178. PMID: PMC1880543

5. Kratz A, Ferraro M, Sluss PM, et al: Case records of the Massachusetts general hospital: laboratory Values. *N Engl J Med* 2004; 351 (15):1549-1563.
6. Wagner FW. The diabetic foot. *Orthopedics* 1987; 10:163-72
7. Roig JT. Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba. La Habana: Editorial Científico Técnica, 1988.
8. RODRIGUEZ DOMINGUEZ, Ileana; SANTANA GUTIERREZ, Odalis; RECIO LOPEZ, Orlando y FUENTES NARANJO, Marilín. Beneficios del Aloe Vera l.(sábila) en las afecciones de la piel. *Rev Cubana Enfermer* [online]. 2006, vol.22, n.3, pp. 0 -0. ISSN 1561-2961.
9. Chandan K Sen, Savita Khanna, Mika Venojarvi, Prashant Trikha, et all. Copper – induced vascular endothelial growth factor expression and wound healing. *Am Jour Physiol hearth Physiol* 282: H 1821-1827, 2002.
10. Borkow G, Gabbai J. Copper as a biocidal tool. *Curr Med Chem.* 2005; 12 (18:2163-2165) 4. Hostynek JJ, Maibach HI. Copper hypersensitivity: dermatologic aspects—an overview. *Rev Environ Health.* 2003;18:153–183.
11. Gorter RW, Butorac M, Cobian EP. Examination of the cutaneous absorption of copper after the use of copper-containing ointments. *Am J Ther.* 2004;11(6):453–458.