



UNIVERSIDAD DE COLIMA

FACULTAD DE MEDICINA

**“OZONO EN EL TRATAMIENTO DE LA INFECCION Y CICATRIZACION
DE ÚLCERAS EN PIE DIABETICO”**

Que para obtener el grado de Maestro en Ciencias presenta el Médico Especialista

Francisco Javier Martínez Rosales

Asesor Clínico:

Dr. BENJAMIN TRUJILLO HERNANDEZ

Doctor en Ciencias Médicas

Coordinador de la Unidad de Investigación del IMSS
Hospital General de Zona y Medicina Familiar No.1

Asesor Básico:

DR. JOSE CLEMENTE VASQUEZ JIMENEZ

Doctor en Ciencias Fisiológicas

Investigador del CUIB de la Universidad de Colima
Colima, Colima México.

Y como investigador asociado:

M en C ENRIQUE HIGAREDA ALMARAZ

Maestro en Ciencias Medicas

Hospital General de Zona y Medicina Familiar No. 1

Colima, Col. Noviembre del 2007

AGRADECIMIENTOS

A Dios por haberme permitido existir y poder ofrecer algo para mitigar el dolor humano.

Con un profundo respecto, amor y dedicación, a mis Padres Guillermo y Micaela por haberme dado el don de la vida y hacer de mi un hombre de bien con su apoyo, orientación y consejos. Mi Madre fallecida que me brindo toda su ternura.

A mi Esposa Luz Maria, compañera y amiga, la cual me acompaño durante esta etapa de mi formación con su tiempo, sus desvelos, su paciencia y su tolerancia, todo el amor y la confianza que me permitieron seguir adelante en momentos de desaliento, brazo fuerte, parte de mi vida.

A mis hijos Carolina Bridget, Alonso Francisco y Saúl Alejandro que soportaron con entereza el tiempo que les robe por no estar con ellos, su paciencia y su entrega que me permitieron demostrar que sueños pueden ser alcanzables.

Al Dr. Jorge Molina Padilla buen amigo que confió en mi y recibí de él siempre su apoyo.

Al Dr. Benjamín Trujillo quien soportó mi falta de conocimientos, quien mantuvo su esperanza para convertir de mí un hombre de ciencia.

Al Dr. Clemente Vásquez Jiménez por su apoyo incesante, sus lecciones y su entrega en mi formación.

Al Dr. Enrique Higareda Almaraz, seguidor incansable sobre los estudios del ozono en el ser humano quien guió el inicio de la investigación, recibiendo un apoyo incondicional siempre, como persona y como amigo.

A mis compañeros que, con sus críticas, su apoyo continuo permitieron completar una etapa más de mi formación.

A Los Residentes de Medicina Familiar, las enfermeras, las pasantes de enfermería que participaron en el proyecto.

A todos y cada uno de los que de alguna forma participaron durante el inicio y el desarrollo del proyecto para que este fuera una realidad gracias por siempre.

INDICE

CONTENIDO	PAGINAS
I MARCO TEORICO	
a) Antecedentes.....	1
b) Justificación.....	19
c) Hipótesis.....	20
d) Objetivo general y específicos.....	21
II MATERIAL Y METODOS	
a) Diseño.....	22
b) Universo de trabajo.....	22
c) Tamaño de muestra.....	22
d) Criterios de inclusión.....	23
e) Criterios de exclusión.....	23
f) Criterios de eliminación.....	23
g) Operacionalización de variables.....	24
h) Análisis estadístico.....	26
i) Metodología (descripción general del estudio).....	27
h) Consideraciones éticas.....	29
III RESULTADOS.....	30
IV DISCUSION.....	33
V CONCLUSIONES.....	35
VI ANEXOS.....	36
VII REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS.....	40
VIII TABLAS Y FIGURAS	
a) Figura 1. Fisiopatología de la diabetes Mellitus.....	4
b) Figura 2. Zonas y porcentajes para el desarrollo de úlceras.....	7
c) Cuadro 1. Características de las úlceras.....	11
d) Cuadro 2. Clasificación de Wagner.....	12
e) Figura 3. Mecanismo de producción de la úlcera en el pie del diabético.....	13
f) Cuadro 3. Tratamiento de las úlceras sugerido por Wagner.....	15
h) Figura 4. Producción del ozono.....	16
i) Figura 5. Propiedades del ozono.....	18

OZONE IN THE TREATMENT OF THE INFECTION AND HEALING OF ULCERS STILL ON DIABETIC. Martínez Rosales FJ, Trujillo Hernández B, Vásquez Jiménez C, Higareda Almaraz E.

Summary

Antecedents. The ulcers in the diabetic foot are a frequent complication of the diabetes mellitus, frequently accompanied by infection and retardation in the healing, needing multiple treatments to try to save the extremity.

Objective. To evaluate the therapeutic value of ozone being favored the healing and eliminating the infection in the infected diabetic foot.

Methods. The present study is a clinical test. Eighty one patients with infected diabetic foot studied, specified themselves according to severity of the injury according to the classification of Wagner, divided themselves in two groups; ozone and conventional treatment (group A) and I oxygenate and conventional treatment (group B), was evaluated as far as the size of the injury and the infection presence, was put under 42 sessions with local ozone evaluating the injuries to I finish of the treatment.

Results. One hundred percents of the patients presented/displayed injury type II, in the group A To reduced to the ulcer in 1,7 centimeters \pm 2,1 and I eliminate the infection in 18 of 43 patients, in group B reduced 0,6 \pm 0,6 centimeters and I eliminate the infection in 6 of 38 patients.

Conclusions. The study demonstrated to effects benefits with the ozone use in the healing of ulcers and elimination of the infection. He is recommendable to make additional studies, to confirm these findings.

Key words: ozone, diabetic foot, infection, healing.

OZONO EN EL TRATAMIENTO DE LA INFECCION Y CICATRIZACION DE ÚLCERAS EN PIE DIABETICO. Martínez Rosales FJ, Trujillo Hernández B, Vásquez Jiménez C, Higareda Almaraz E.

Resumen

Antecedentes. Las úlceras en el pie diabético son una complicación frecuente de la diabetes mellitus, con frecuencia se acompaña de infección y retardo en la cicatrización, necesitando múltiples tratamientos para intentar salvar la extremidad.

Objetivo. Evaluar el valor terapéutico del ozono favoreciendo la cicatrización y eliminando la infección en el pie diabético infectado.

Métodos. Se realizó un ensayo clínico ciego simple. Se estudiaron 81 pacientes con pie diabético infectado, se especificaron según severidad de la lesión de acuerdo a la clasificación de Wagner, se dividieron en dos grupos; ozono y tratamiento convencional (grupo A) y oxígeno y tratamiento convencional (grupo B), fueron evaluados en cuanto al tamaño de la lesión y la presencia de infección, se sometieron a 42 sesiones con ozono local evaluando las lesiones al término del tratamiento. Los resultados fueron analizados con Chi cuadrada y U de Mann Witney

Resultados. Cien por ciento de los pacientes presentaron lesión tipo II, en el grupo A se redujo la úlcera en centímetros 1.7 ± 2.1 y se eliminó la infección en 18 pacientes de 43, el grupo B redujo 0.6 ± 0.6 centímetros y se eliminó la infección en 6 de 38 pacientes.

Conclusiones. El estudio demostró efectos beneficios con el uso de ozono en la cicatrización de úlceras y eliminación de la infección. Es recomendable realizar estudios adicionales, para confirmar dichos hallazgos.

Palabras clave: ozono, pie diabético, infección, cicatrización.

**UNIVERSIDAD DE COLIMA
CENTRO UNIVERSITARIO DE INVESTIGACIONES BIOMEDICAS**

**INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DELEGACION ESTATAL COLIMA
HOSPITAL GENERAL DE ZONA Y MEDICINA FAMILIAR No. 1**

**“OZONO EN EL TRATAMIENTO DE LA INFECCIÓN Y CICATRIZACIÓN
DE ÚLCERAS EN PIE DIABETICO”**

Presenta:

**FRANCISCO JAVIER MARTINEZ ROSALES
ALUMNO DE LA MAESTRÍA EN CIENCIAS MÉDICAS**

ASESOR CLINICO:

**BENJAMIN TRUJILLO HERNANDEZ
DOCTOR EN CIENCIAS
ENCARGADO DE LA UNIDAD DE INVESTIGACION del IMSS
HOSPITAL GENERAL DE ZONA Y MEDICINA FAMILIAR No. 1**

ASESOR BASICO:

**DR. JOSE CLEMENTE VASQUEZ JIMENEZ
DOCTOR EN CIENCIAS FISIOLÓGICAS
INVESTIGADOR DEL CUIB DE LA UNIVERSIDAD DE COLIMA
COLIMA, COLIMA MEXICO.**

INVESTIGADOR ASOCIADO:

**M en C ENRIQUE HIGAREDA ALMARAZ
MAESTRO EN CIENCIAS MEDICAS
HOSPITAL GENERAL DE ZONA Y MEDICINA FAMILIAR No. 1**

**El estudio se realizara:
INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
COLIMA, COLIMA, MEXICO.**

No. de registro R 2005-0601-19

INTRODUCCIÓN

ANTECEDENTES

Por su magnitud y trascendencia la diabetes mellitus (DM) es un grave problema mundial de salud pública, se estima que afecta en promedio entre el 15-20% de la población mundial (1). En América Latina se encuentra dentro de las primeras cinco causas de morbilidad y mortalidad en la población en edad productiva entre los 15 y los 64 años. México ocupa el octavo lugar en el mundo de población diabética, la encuesta Nacional de Salud del 2001 estimó que existían 3.6 millones de mexicanos mayores de 20 años con DM, con una prevalencia del 7.5% mayor en mujeres que en hombres a partir de los 50 años, en México se encuentra dentro de los 3 primeros lugares, además el primer lugar en el grupo de edad entre los 55-64 años (2). Actualmente en nuestro país existen alrededor de 9, 654, 000 diabéticos, cifra con incremento anual, que podría ascender en promedio a 17, 684, 000 para el 2025 (3). A nivel nacional, cada año se registran más de 180 mil casos nuevos y alrededor de 36 mil defunciones (4), por sus complicaciones, en el instituto mexicano del seguro social (IMSS), mueren diariamente en promedio 40 pacientes (5,6).

La DM es una enfermedad metabólica caracterizada por hiperglucemia, provocada por alteraciones en la secreción de insulina, en su respuesta periférica o en ambas, este síndrome de hiperglucemia crónica se acompaña de alteraciones en el metabolismo de los carbohidratos, proteínas y lípidos. Se han descrito 4 variedades de la enfermedad (7), En la DM tipo 1; existe destrucción de las células β del páncreas y por lo tanto la producción de insulina es nula o insuficiente y la tipo 2; donde existe resistencia de los tejidos periféricos a la acción de la insulina, siendo ésta la más frecuente y donde se encuentran la mayoría de los pacientes (8).

El principal factor de riesgo en la enfermedad es la hiperglucemia crónica sostenida, frecuentemente asintomática, que ocasiona complicaciones sistémicas, neuropáticas, micro y macro vasculares (9), los signos y síntomas que la acompañan en la edad adulta por lo general aparecen en la tercera década de la vida, por lo que las complicaciones pueden ser agudas o crónicas, de tal forma que cuando los pacientes buscan atención, generalmente es por estas mismas, acompañándose de daño, disfunción o insuficiencia a largo plazo de diversos órganos, en especial corazón, vasos sanguíneos, riñón, ojos y nervios.

De estas complicaciones, una causa frecuente por la que estos pacientes buscan atención médica está relacionada con problemas del pie, donde las alteraciones en la circulación y los nervios ocasionan la presencia de úlceras, cuya falta de tratamiento oportuno y apropiado puede llevar a la amputación del miembro afectado (10). Estudios realizados sobre DM y pie diabético, aunque con algunas diferencias, sobresalen las consecuencias en la calidad de vida, el tiempo de hospitalización, la morbi-mortalidad y el impacto económico a la sociedad (11), así; presenta una frecuencia entre el 20 y 30% de los internamientos hospitalarios, acrecienta las defunciones, las intervenciones quirúrgicas y los costos de atención. Los problemas del pie en estos pacientes se incrementan con la edad (12). Las alteraciones en inicio neuropáticas, no cursan con problemas vasculares u obstructivos (85%) y fisiológicamente son provocadas por neuropatía de los nervios periféricos, dando lugar a infección, por lo que el tratamiento está encaminado a la desbridación extensa, la cobertura antimicrobiana, la reconstrucción y rehabilitación. Cuando las lesiones tienen compromiso obstructivo-isquémico (15%) necesitarán además, revascularización y otras medidas terapéuticas, las cuales a pesar del tratamiento terminarán en amputación del miembro afectado (13). Es común que estas complicaciones estén presentes en pacientes con un mal control metabólico que ha permanecido por lo menos durante 10 años.

En 1987 se instaló en el IMSS a nivel nacional el programa de atención integral al diabético (PAID), que se fortalece continuamente, y ha demostrado haber disminuido parcialmente la mortalidad y retardado las complicaciones (14). Con referencia a la complicación del pie diabético no se han logrado disminuir las amputaciones, a pesar de las estrategias educativas y de programas de atención multidisciplinarios. Algunas de las unidades de segundo nivel y en su totalidad las de tercer nivel cuentan con áreas especializadas para el manejo del pie diabético las que han logrado avances significativos, como la clínica para pacientes diabéticos con lesiones del pie (CPDLP) y el programa de atención domiciliaria para el paciente diabético y atención domiciliaria de enfermedades crónicas (PADAD y ADEC respectivamente).

Los avances en el tratamiento de las complicaciones de esta enfermedad han logrado un aumento de vida superior al de hace algunos años, sin embargo, ha traído como consecuencia que las complicaciones crónicas y terminales prevalezcan en todas sus formas (15).

La letalidad, la estancia hospitalaria y los grandes costos que implica la atención de estos pacientes, presentan un incremento desproporcionado comparado con el resto de los padecimientos a nivel nacional en el IMSS (16). De estas complicaciones, una de las más frecuentes por su complejidad es el pie diabético (17,18).

En el IMSS del 50 al 70% de las amputaciones relacionadas con diabetes, son precedidas de úlceras crónicas (19), este síndrome causa entre el 20-30% de las admisiones hospitalarias, buscando curación y no amputación. (20).

Desafortunadamente los esfuerzos de los programas gubernamentales no han sido de gran utilidad debido a la falta de conciencia de la población en una cultura de prevención, existen factores limitantes y potenciales para prevenir la enfermedad y limitar el daño, antes de presentarse las complicaciones; la falta de cultura, las costumbres, los hábitos alimenticios, la educación, la globalización, la carencia de recursos, la cobertura de los servicios de salud, los altos costos de atención, la idiosincrasia y apego al tratamiento y la perspectiva hacia la enfermedad hace difícil el manejo. Una participación compartida ha mostrado ser fundamental, logrando reducir hasta en un 65% las complicaciones y amputaciones en estos pacientes (21). En el IMSS, específicamente el Hospital General de Zona y Medicina Familiar (HGZMF No. 1) Colima, la DM tipo 2 es uno de los principales motivos de hospitalización. De sus complicaciones, las lesiones del pie y su consecuente amputación no difieren a otros estudios en el incremento de la estancia hospitalaria y el costo de atención, sea por sepsis, estado inmunológico comprometido, deterioro general y complicaciones (20). La hospitalización suele prolongarse hasta el control de la infección, la evidencia de granulación o una complicación fatal que permita su egreso. La infección del pie diabético es importante por que es diez veces más frecuente que en los pacientes no diabéticos incrementando el riesgo de amputación en un 25-50% (21).

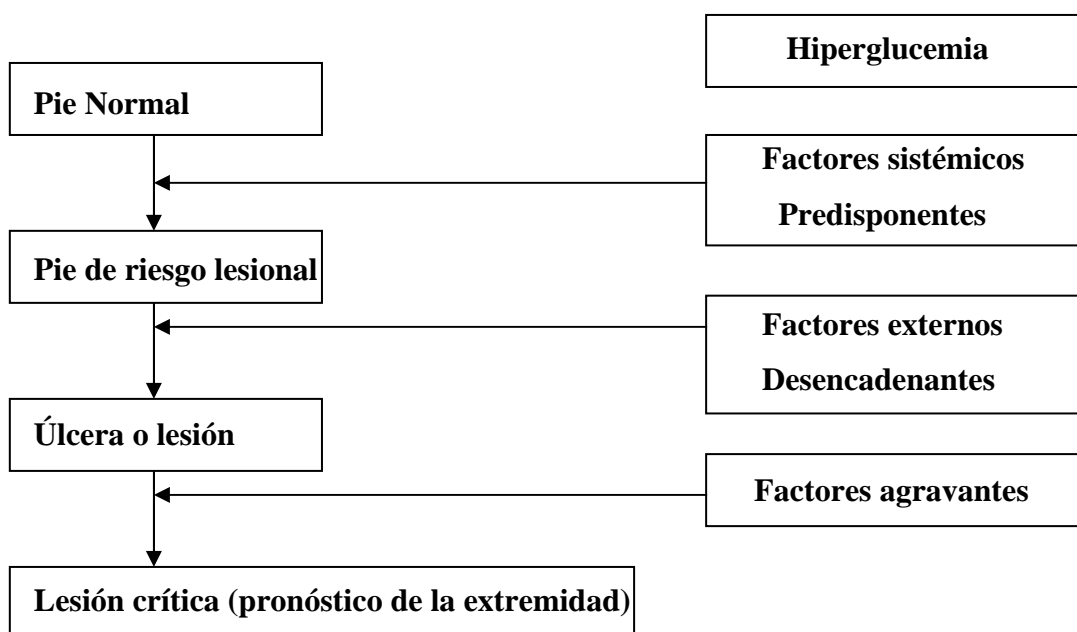
Concientes del problema y basado en estudios sobre los efectos del ozono en el control de la infección y la cicatrización de úlceras, se pretende evaluar su aplicación local con bolsa en los derechohabientes del IMSS portadores de DM 2, con afección de pie diabético con clase I y II de Wagner, como una medida adicional al tratamiento, seguimiento y control de estos pacientes, limitar el daño e integrarlos en lo posible a los programas institucionales.

El manejo y atención de estos pacientes requieren participación multidisciplinaria, que incluye al paciente mismo, su familia y un equipo de salud multidisciplinario integrado (Internistas, Endocrinólogos, Angiólogos, Traumatólogos, Ortopedistas, Cirujanos, Dietistas, Rehabilitadores, Trabajadoras Sociales, Asistentes Médicas, Enfermeras, grupos especiales de ayuda) (22, 23,24).

El pie diabético se define como la alteración clínica con base etiopatogénica neuropática e inducida por la hiperglucemia sostenida, en la que con o sin coexistencia de isquemia y sin previo desencadenante traumático, produce lesión y/o ulceración del pie (23). Este problema afecta entre el 20 y el 30% de los diabéticos tipo 2 (24). Por lo general y bajo condiciones de descompensación metabólica del paciente, ante la presencia del proceso ulceroso se ve implicada la infección. La incidencia de ulceración (68.5 X 1000) e infección (35.5 x 1000) por año se ve reflejada (25).

Existen diferentes estados patológicos que determinan la presencia y evolución de las alteraciones en el pie del diabético; *factores sistémicos* (neuropatía, macroangiopatía, microangiopatía e infección), que interactúan con *factores externos* (modo de vida, higiene local, calzado), y *factores agravantes* que incluyen las alteraciones isquémicas y la necrosis tisular progresiva (Figura No.1).

Figura No.1. **Esquema de la fisiopatología del pie diabético** (26)



Factores sistémicos (Predisponentes)

Dan lugar a un pie vulnerable, con alto riesgo de complicación, primaria (neuropatía, macroangiopatía) o secundaria (microangiopatía).

NEUROPATÍA

El término neuropatía diabética engloba una gran variedad de cuadros clínicos y compleja sintomatología. Es la complicación más común de la DM y potencialmente la más debilitante, en más de la mitad de los casos es asintomática. Aumenta su incidencia paralela a la duración de la enfermedad y a la severidad de la hiperglucemia, (siendo esta el factor de riesgo más sobresaliente) reflejo de un mal control metabólico.

Aproximadamente el 50% de los pacientes con DM presentan deformidad en el pie, de ellos un 12% tienen una causa directa de la lesión. Los diabéticos de más de 15 años de evolución presentan ya alguna evidencia de neuropatía y esta es manifiesta en el 50% de los pacientes con 25 años de evolución. El control estricto de la glucemia, con cifras óptimas de hemoglobina glucosilada (HbA1c) disminuye hasta en un 50% la incidencia de neuropatía diabética. La neuropatía periférica es la forma más común de neuropatía diabética con una prevalencia entre el 30-50%, y en nuestro país del 25-30%.

A pesar de ser una complicación frecuente, el médico no suele prestarle demasiada atención, ya sea por ser silente, o porque sus manifestaciones son mal interpretadas si no se conoce a detalle esta complicación (27).

Existen 3 ejes fisiopatológicos de la neuropatía: la isquemia, las alteraciones metabólicas y la inmunidad.

Isquemia. Los estudios histopatológicos de los nervios distales muestran alteraciones estructurales de la microcirculación (engrosamiento de la membrana basal, hiperplasia de las células endoteliales, agregados plaquetarios y oclusión de vasos) que conducen a una hipoxia tisular y cambios celulares.

Alteraciones metabólicas. Proviene de 4 situaciones:

- 1.- La hiperglucemia provoca hiperfunción de la vía de los polioles con formación de sorbitol en un primer paso (por la acción de la aldosa reductasa) y de fructuosa posteriormente (por la acción de la sorbitol deshidrogenasa), acumulándose en las células nerviosas, ocasionando daño por un efecto hiperosmolar local o agravando el déficit de mioinositol intracelular y de taurina que se genera por la hiperglucemia en sí. La carencia de mioinositol provoca disminución de la fosfatidilinositol y de la actividad Na-K-ATPasa con aumento de la concentración intracelular de Na^+ y lesión celular por alteración estructural irreversible, disminuyendo la conducción nerviosa en estos casos. Además el aumento en sodio disminuye más el mioinositol intracelular por inhibición competitiva creando un círculo cerrado perpetuo mientras no se corrija la hiperglucemia.
- 2.- Alteración de la vía de las prostaglandinas, específicamente la prostaglandina PG1, puede producir alteración de la estructura del nervio y déficit de la L-carnitina, elemento importante para el mantenimiento funcional del mismo.
- 3.- Disminución de los factores neurotróficos; Nerve growth factor (NGF), Neurotrofina-3 Insulin growth factor (IGF).
- 4.- Linfocitos T, ya que su presencia en los nervios periféricos sugiere factores de tipo inmunitario que pueden explicar el proceso neuropático.

La neuropatía diabética es un grupo heterogéneo de alteraciones que se clasifican en función de su distribución anatómica, dentro de ellas la neuropatía periférica bilateral o polineuropatía distal mixta y simétrica es la más frecuente, inicialmente hay afección sensitiva (sentido de posición de los dedos y reflejos intrínsecos) y posteriormente motora de las fibras cortas y pequeñas (sensibilidad táctil, térmica y dolorosa) así como las largas y de mayor diámetro (vibratoria y propioceptiva), inicia en forma distal y progresan en sentido ascendente (“en calcetín”), con atrofia de la musculatura intrínseca del pie, provocando acortamientos tendinosos y alteración de la distribución de las fuerzas de soporte manifiesta por deformidades (dedos en martillo o garra, prominencia de cabezas metatarsianas, desplazamiento anterior de la almohadilla grasa plantar atrofiada) (28).

MACROANGIOPATÍA

La isquemia es consecuencia de la macroangiopatía, afectando vasos de mediano y grueso calibre produciendo arteriosclerosis, la cual no es diferente en el paciente no diabético (depósito de colesterol, calcio, lípidos, plaquetas y células de la musculatura lisa), salvo en una característica, donde en los pacientes diabéticos existe calcificación de la capa media arterial secundaria a la lesión nerviosa de la vasa vasorum causada por la neuropatía autónoma provocando alteración de la forma de la onda del pulso elevando falsamente la presión en las arteriolas tibiales a nivel del tobillo. La arteriopatía muestra predilección por las arterias infrageniculares de la pierna que tiende a ser bilateral y multisegmentaria.

La frecuencia de isquemia en las extremidades inferiores causada por la macroangiopatía es 4 veces más en el hombre y 8 veces más en la mujer con respecto a la población general (30).

MICROANGIOPATÍA

Afecta los capilares, arteriolas y vénulas de todo el organismo, donde la lesión consiste en la proliferación de la capa endotelial sin estrechamiento de la luz vascular, la membrana basal capilar se encuentra engrosada y contiene sustancias PAS positivas ocasionando alteraciones funcionales. La presencia de microangiopatía guarda relación con la duración y control metabólico de la enfermedad, la hiperglucemia sostenida es la responsable de la biosíntesis de proteínas específicas que integran el engrosamiento de la membrana basal. En forma errónea se ha pensado que la causa de las lesiones tróficas es fundamentalmente por isquemia aun en presencia de pulsos presentes a nivel del pie, la gangrena digital en presencia de pulsos distales se interpretaba como secundaria a microangiopatía, pero esta es debida a trombosis de arterias digitales producida por toxinas necrotizantes liberadas por distintos gérmenes sobre todo *Staphylococcus aureus*.

De ahí que el valor de la revascularización consigue los mismos efectos en los pacientes con o sin microangiopatía, esta se implicaba en la patogenia de la úlcera neuropática, pero las lesiones neuropáticas no difieren en personas no diabéticas o con otra patología en ausencia de microangiopatía.

Aunque en la microcirculación no hay disminución de la luz pero sí engrosamiento de la membrana basal y alteraciones funcionales, provoca paso de albúmina al intersticio celular y alteraciones de intercambio de moléculas nutrientes, que interfiere en la cicatrización como causa multifactorial (hiperglucemia, susceptibilidad genética, alteraciones endoteliales). Las alteraciones hemodinámicas consisten en vasodilatación reactiva reducida, reducción de la respuesta inflamatoria al trauma, infección y vasoconstricción inducida postural con distribución deficiente del flujo sanguíneo. En los enfermos con diabetes Mellitus la interacción de neuropatía, macroangiopatía y microangiopatía son factores que se combinan para producir pie diabético (30).

INFECCIÓN

El factor más importante que predispone a la infección es la pérdida de la barrera cutánea, determinante para el desarrollo de la úlcera y relevante en el mantenimiento de la misma.

La infección no es responsable de la úlcera, excepto cuando la lesión en la piel es causada en forma directa por hongos (cándida, dermatofitosis), aunque interviene en la evolución de la misma una vez iniciada. El origen de la infección en pacientes con diabetes mellitus es multicausal, entre las más importantes: la presencia de neuropatía (pérdida de sensibilidad al dolor), donde los traumatismos que aunque mínimos provocan lesiones progresivas difíciles de curar y rebeldes al tratamiento (celulitis extensa o absceso), que permiten el ingreso de microorganismos, la isquemia que se acompaña con el compromiso en la perfusión tisular e hipoxia incrementando el riesgo, la hiperglucemia que ocasiona alteración en los mecanismos inmunitarios (inmunidad celular), secundarios a los cambios bioquímicos de la función leucocitaria (disminución de la capacidad fagocitaria, quimiotáctica y citotóxica). Los gérmenes que habitualmente crecen en su mayoría son saprófitos; cocos grampositivos aerobios (*Staphylococcus epidermidis*) y bacilos gramnegativos (*Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus coagulasa positivo*, *streptococcus* y *enterococcus*), por lo general son infecciones poli microbianas, se cultivan en más del 90% de los casos y como único patógeno en el 43%, también pueden estar presentes bacilos gramnegativos aerobios y anaerobios facultativos sobre todo enterobacterias (*Klebsiella*, *Proteus*, *E. Coli* y *Pseudomona*) y anaerobios estrictos (*Bacteroides*, *Clostridium*), que se cultivan 20% y bacterias anaerobias en el 13% de los casos (31, 32,33).

Los gérmenes implicados en la infección varían, en infecciones leves no complicadas, (celulitis, úlcera crónica con infección aguda, paranoquia, abscesos superficiales) no ponen en peligro la extremidad, pero favorecidos por las condiciones hemorriológicas pueden invadir tejidos profundos progresando a estructuras óseas. La presencia de altas cifras de crecimiento bacteriano y cultivo de 4 o más especies diferentes en la herida son causa de retraso en la cicatrización de la úlcera (32) y conllevan a un alto porcentaje de amputaciones (33). El diagnóstico de infección se establece bajo los criterios de presencia de supuración y dos o más signos de inflamación (eritema, induración, dolor, sensibilidad y calor), de no estar presentes no se justifica el tratamiento con antibióticos hasta obtener cultivo. Las infecciones graves que ponen en peligro la extremidad generalmente son polimicrobianas (más de 5 gérmenes), en promedio tres aerobios y dos anaerobios, la combinación de los anteriores u otras super infecciones.

La presencia de hongos es característica, cuando no se obtiene mejoría con un tratamiento prolongado con antibiótico, especialmente *Candida sp.*

La infección en el pie diabético se ha clasificado de diferentes maneras; en **superficial** cuando se encuentra limitada a la piel y al tejido celular subcutáneo, y **profunda** al afectar fascia, músculo, articulación o hueso. Otra clasificación es la de Karchmer y Gibbons (34):

Infección leve: No pone en riesgo la extremidad, existe celulitis de menos de 2 centímetros de extensión y son úlceras superficiales, habitualmente pueden ser tratadas con régimen ambulatorio.

Infección moderada o grave: Amenazan la extremidad, celulitis más extensa y profunda, ameritan ingreso hospitalario, puede o no coexistir osteomielitis.

Infección grave: Amenazan la vida del paciente, celulitis masiva, abscesos masivos y facitis necrosante, se asocian a toxicidad sistémica e inestabilidad metabólica, amerita cirugía de urgencia.

CLASIFICACIÓN DE LAS ÚLCERAS

Las úlceras y otras lesiones del pie del diabético pueden clasificarse según su etiopatogenia en:

Úlcera Neuropática. Ulceración en un punto de presión o deformación del pie que presenta tres localizaciones frecuentes; primero y quinto dedo metatarsiano en sus zonas acras y calcáneo en su extremo posterior. Las ulceraciones son redondeadas, con callosidad peri ulcerosa e indolora, la perfusión arterial y pulsos periféricos conservados.

Úlcera Angiopática (neuro-isquémica). Necrosis inicialmente seca y habitualmente de localización latero-digital, que suele progresar de forma rápida a húmeda y supurativa si existe infección sobre-añadida. Generalmente los pulsos tibiales están abolidos y existe una neuropatía previa asociada (35). Pueden identificarse diferencias entre una úlcera neuropática y una isquémica, según sus características (cuadro No. 1):

CUADRO No. 1 Características de las úlceras (35)

	Úlcera Neuropática	Úlcera Angiopática
Anamnesis	Diabetes mellitus antigua, consumo de alcohol, otras complicaciones diabéticas, elevado HBA _{1C}	Factores de riesgo complementarios, abuso en el consumo de nicotina.
Localización	Plantar, raras veces dorsal	Acral (dedos, talón)
Sensibilidad	Alteración de la sensibilidad al calor y a las vibraciones, reflejos en estado patológico.	Imperceptible
Dolores	Pocos o ninguno	Existentes
Inspección	Pie caliente, voluminoso. "Pie en garra"	Pie frío, piel atrófica.
Pulso en el pie	Existente	Déficit
Radiografías	Osteólisis prematura	Estructura ósea normal en la zona de la necrosis

Existe otra clasificación basada en el curso clínico, sucesivo y simultáneo que distinguen tres alteraciones; celulitis superficial, infección necrosante y osteomielitis (35).

- a) **Celulitis superficial:** Causada generalmente por un solo gérmen, en general gram positivo (*Stafilococo aureus, estreptococo*), en un 90% - 95%. Puede ser autolimitada o progresar a formas más extensas en función de los factores predisponentes.
- b) **Infección necrotizante:** Afecta tejidos blandos, es poli microbiana y forma abscesos, puede extenderse a compartimentos plantares.
- c) **Osteomielitis:** Se localiza más frecuentemente en los dedos 1, 2 y 5, puede ser asintomática con ausencia de signos inflamatorios, o sintomática, con dificultad para establecer diagnóstico diferencial con la artropatía no séptica. En este sentido, la exteriorización ósea en la base de una ulceración tiene un valor predictivo del 90%.

Una clasificación ampliamente aceptada de las úlceras es la del Dr. Wagner, basada en la severidad de la lesión: (gravedad, profundidad de la úlcera, grado de infección y gangrena) se explica en el siguiente esquema (35, 36) (Cuadro No. 2):

Cuadro 2. **CLASIFICACIÓN DE WAGNER (36)**

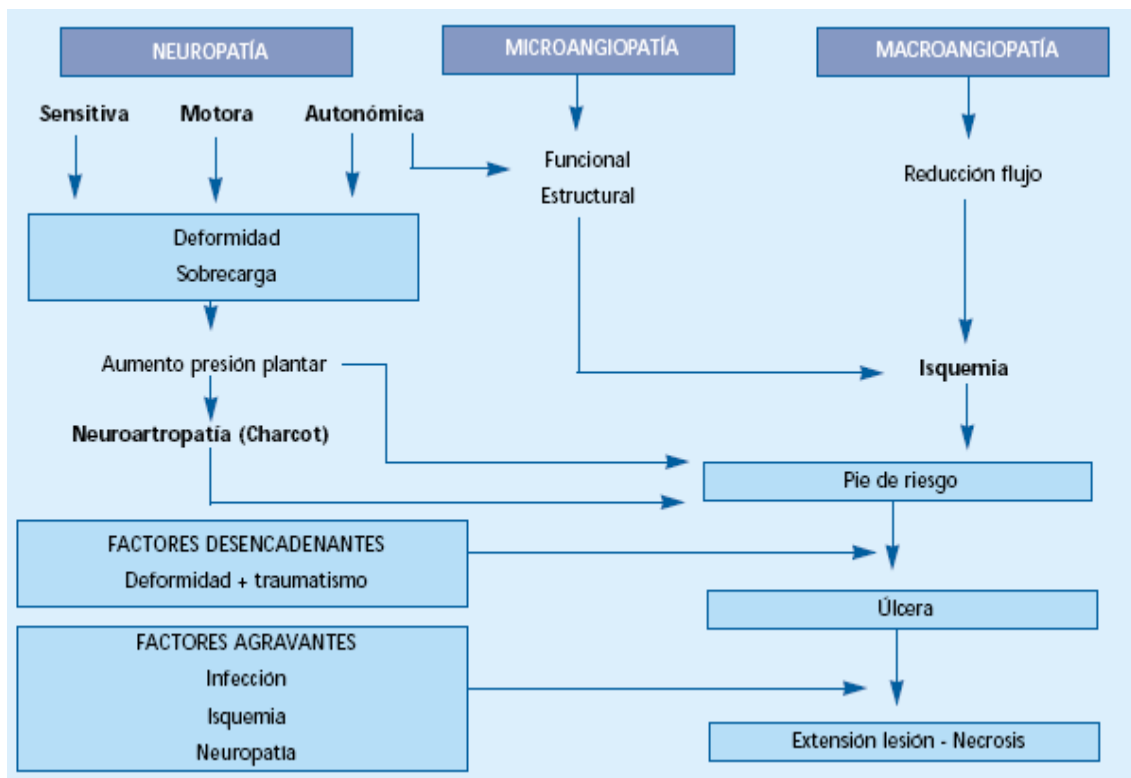
Grado	Lesión	Características
0	Ninguna, pie de riesgo	Callos gruesos, cabezas metatarsianos prominentes, dedos de garra, deformidades óseas, piel normal
I	Úlceras superficiales	Dstrucción del espesor total de la piel
II	Úlceras profundas	Penetra en la piel, grasa, ligamentos pero sin afectar hueso, infectada
III	Úlceras profundas más absceso (osteomielitis)	Extensa, profunda, secreción, mal olor
IV	Gangrena limitada	Necrosis de parte del pie, dedos, talón, planta
V	Gangrena extensa	Todo el pie afectado; efectos sistémicos.

MECANISMO DE PRODUCCIÓN DE LA ÚLCERA:

La combinación de neuropatía y enfermedad vascular son factores de riesgo para el pie diabético, este no se úlcera espontáneamente, la lesión es el estadio final donde implica un factor externo, ambiental (mecánico) y una situación previa de pie de riesgo, tres situaciones mecánicas lesionan al pie de riesgo:

- 1.- Impacto intenso con algún objeto (clavo, chincheta).
- 2.- Presión ligera y sostenida evolutiva.
- 3.- Estrés normal o moderado, reiterativo y por periodos prolongados. (Figura No. 3)

Figura No. 3. **Mecanismo de producción de la úlcera en el pie diabético** (26)



Establecida la úlcera, la persistencia del apoyo favorece la infección y esta a su vez mayor lesión. Las úlceras más frecuentes son neuropáticas en un 45-60%, neuroisquémicas 25-45% y puramente isquémicas 10-15%, así la neuropatía esta implicada en el 85-90% de las úlceras.

TRATAMIENTO DEL PIE DIABÉTICO

El tratamiento debe orientarse inicialmente contra su causa, concretamente contra la presión, que se logra con el reposo en cama y evitar apoyar el pie, además, la úlcera debe desbridarse con regularidad, eliminando todo el callo y el tejido no viable formado alrededor de la úlcera, que facilita una herida con tejido de granulación sano que cura a partir de la base y no a partir de los bordes. Ante la evidencia o sospecha clínica de pie de riesgo (neuropatía, macroangiopatía y microangiopatía) o presencia de úlcera, el paciente debe enviarse a un especialista para su evaluación. Esto es particularmente importante en ausencia de signos de curación al cabo de 6 semanas. Donde se realizarán radiografías para valorar el pie precozmente y repetirse si estuviera clínicamente indicado, en ausencia de curación, presencia de infección profunda o detectar afección osteomielítica. La actitud habitual consiste en instaurar tratamiento con antibióticos ante la mínima sospecha clínica de infección. La úlcera puede estar colonizada por múltiples microorganismos, donde algunos son la causa real de una infección invasiva, por lo que los frotis de la herida suelen proporcionar un beneficio escaso. Se requieren antibióticos de amplio espectro con cobertura aeróbica y anaerobia, incluyendo estreptococos y estafilococos, como amoxicilina-ácido clavulánico, clindamicina o ciprofloxacino (este último posee una cobertura antiestafilocócica deficiente y antiestreptocócica limitada, pero penetra en los tejidos perfectamente). La hospitalización esta indicada cuando no se consigue reposo del pie, fracaso en la curación, infección grave o descompensación metabólica seria. En pacientes hospitalizados, el uso de antibióticos es fundamental aun en ausencia de resultados de cultivos obtenidos por desbridamiento quirúrgico o de hemocultivos, debe considerarse la administración de metronidazol en combinación u otros antibióticos de tercera o cuarta generación (37). El objetivo de la desbridación quirúrgica es transformar una úlcera crónica en una herida aguda.

De acuerdo a la clasificación el tratamiento sugerido por el Dr. Wagner es
(Cuadro No. 3):

Cuadro No. 3. **Tratamiento según grado de afección (Dr. Wagner) (29).**

<p>Grado I Úlcera superficial</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Reposo absoluto del pie lesionado, durante 3-4 semanas. 2. Limpieza diaria con suero fisiológico (a cierta presión). 3. Valorar la lesión cada 2-3 días. 4. El uso de sustancias tópicas es controvertido. Se han propuesto varias, entre ellas las soluciones antisépticas, factores de crecimiento, pero no existen estudios con diseño adecuado que demuestren su eficacia. 5. Si se usaran antisépticos locales, hay que procurar que sean suaves y que no colorean la piel.
<p>Grado II Úlcera Profunda</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Reposo absoluto del pie lesionado. 2. Debe sospecharse la posible existencia de infección. 3. Se realizará un desbridamiento minucioso, eliminando los tejidos necróticos, así como la hiperqueratosis que cubre la herida. 4. Se instaurará siempre tratamiento antibiótico oral tras la toma de una muestra de exudado de la úlcera para cultivo y antibiograma. 5. Como tratamiento empírico se aconseja la amoxicilina con ácido clavulánico (500 mg c/6-8 h.) o el ciprofloxacino (750 mg c/12 h.); si la lesión presenta tejido necrótico o aspecto fétido se asocia a cualquiera de los anteriores la clindamicina (300 mg c/6-8 h.) o el metronidazol (500 mg c/8 h.). 6. Ante una úlcera que no sigue una evolución satisfactoria, se sospecha osteomielitis (hacer siempre radiografías de la zona)
<p>Grado III Úlcera Profunda con Celulitis, Absceso u Osteomielitis</p>	<p>Ante zona de celulitis, absceso, osteomielitis o signos de sepsis, el paciente debe ser hospitalizado de forma urgente para desbridamiento quirúrgico y tratamiento con antibióticos IV.</p>
<p>Grado IV Gangrena de un dedo / dedos del pie</p>	<p>El paciente debe ser hospitalizado para estudiar circulación periférica y valorar tratamiento quirúrgico (by-pass, angioplastia, amputación)</p>
<p>Grado V Gangrena del Pie</p>	<p>El paciente debe ser hospitalizado para amputación</p>

La presencia de úlcera en los pacientes diabéticos ha sido una preocupación a lo largo de la historia de la medicina y ha motivado estudios de muchos investigadores (38). En primer lugar el tratamiento debe estar dirigido a la prevención, si las medidas profilácticas y conservadoras fallan, entonces se deben implementar las diferentes alternativas terapéuticas encaminadas a la curación. Es fundamental el papel que juega el control metabólico (hiperglucemia) en este proceso; las medidas higiénico dietéticas, el control de peso, para disminuir y limitar el daño (39). El uso de sustancias y medicamentos tópicos se ha difundido con gran demanda desde sustancias para desbridamiento enzimático y autolítico, antisépticas, antibióticos, cicatrizantes y otras.

Estudios relativamente recientes han demostrado el uso de oxígeno hiperbarico y la terapia con ozono (ozonoterapia) local producen beneficios al mejorar la oxigenación, erradicar los productos tóxicos generados por el funcionamiento celular, además de efectos bactericidas, virucidas y fungicidas y con estimulación en la regeneración de tejidos favoreciendo la cicatrización de las úlceras (40).

OZONOTERAPIA

El ozono (O_3) es una variedad alotrópica, amorfa e inestable del oxígeno, formado por tres átomos de oxígeno y que puede obtenerse a partir de una descarga eléctrica en equipos diseñados especialmente para ello (40), cuya existencia fue reportada en 1785 por el Químico Holandés M Van Marum, pero no fue hasta 1840 en que el químico Alemán CF. Schonbein lo sintetiza e identifica por primera vez como ozono, quien lo asoció el olor producido por descargas eléctricas atmosféricas con el de un gas que se formaba en la electrólisis del agua, el cual llamo ozono (en griego significa oloroso) (Figura No. 4).

Figura No. 4. **Mecanismo de producción de ozono** (40)



Posee un poder oxidante mayor que el oxígeno, siendo su reacción con los compuestos orgánicos mucho más selectiva. El primer reporte del uso práctico del ozono data del año 1891 cuando fue aprobada la efectividad de este agente como bactericida en la desinfección del agua potable contaminada. Actualmente se usa en la industria y en la medicina. Es reconocido como un agente germicida efectivo, ya que su espectro incluye no solo bacterias sino también virus y protozoos, además sus residuos no tienen efectos adversos tóxicos.

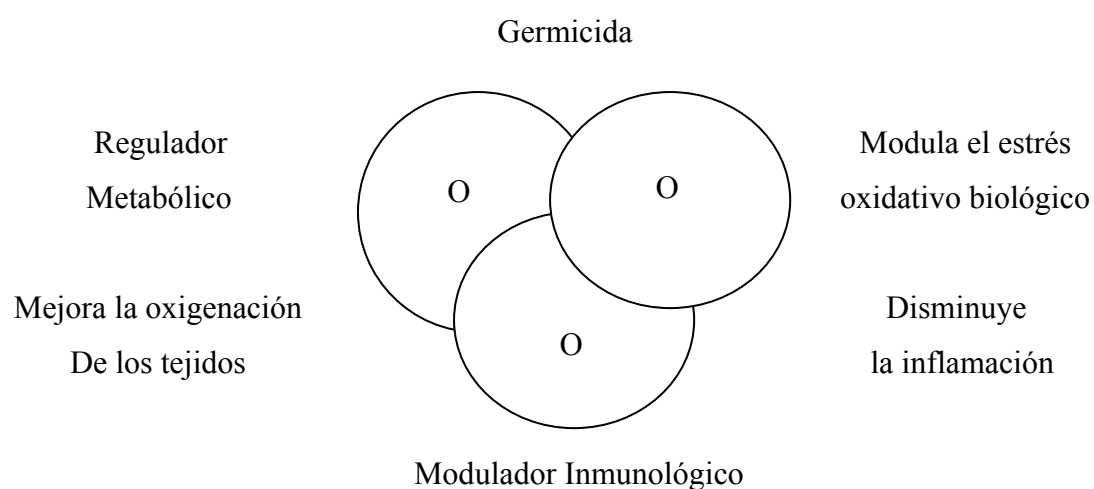
El ozono como estrategia terapéutica se aplica en humanos desde principios de siglo en un gran número de enfermedades aparentemente no relacionadas entre sí. Obteniéndose resultados favorables pero con desconocimiento de los mecanismos exactos de acción y sin la conducción de ensayos clínicos controlados. En los últimos 40 años, el empleo del ozono en medicina se ha difundido en diferentes países, existiendo actualmente sociedades nacionales de ozonoterapia. (40).

La ozonoterapia consiste en la aplicación de una micela de oxígeno (O_2) y Ozono (O_3) (41). El ozono medicinal es una mezcla de 5% ozono como máximo y 95% de oxígeno. La dosis utilizada en el campo de la medicina varía de 1 a 100 mg/L de acuerdo a la vía de administración y la enfermedad.

La vida media del ozono es de 40 minutos a temperatura de 20° C (42). Trabajos recientes en estudios de laboratorio, han confirmado que luego de una breve exposición de sangre al ozono se produce la activación de monocitos y linfocitos, probablemente debido a la oxidación de los componentes de la membrana de estas células mononucleares, y conlleva a la producción de citocinas reguladoras, tales como: interferones, factor de crecimiento tumoral, interleucinas (1,2,6,10,11 entre otras), factor de crecimiento (TGB), factor estimulador de colonias granulocitos-macrófagos (GM-CSF) y muchas otras funciones del sistema inmune.(43,44,45). Otros mecanismos terapéuticos que ejerce el ozono son; mejorar la oxigenación del organismo, ayuda a erradicar los productos tóxicos que se generan en el funcionamiento celular y regular los mecanismos de defensa inmunológicos del organismo.

Actúa como inmunomodulador en enfermedades auto-inmunes, tiene propiedades bactericidas, fungicidas, virucidas así como la de estimular la regeneración de tejidos y favorecer la cicatrización de heridas y lesiones en la piel (40,46). Se ha demostrado que tiene un poder analgésico, antiinflamatorio, mejora el estado anímico y mejora la circulación sanguínea (49). (Figura No. 5).

Figura No. 5. **Propiedades del oxígeno-ozono** (49).



Las vías de administración se pueden dividir en locales y sistémicas, en las primeras se encuentran los aceites y las cremas ozonizadas, las bolsas plásticas flexibles de vacío insufladas con este gas e inyecciones intraarticulares y paravertebrales. Por vía sistémica el ozono puede administrarse por inyección intramuscular, intravenosa y subcutánea, intradérmica, insuflación anal y vaginal, así como auto-hemoterapia. Se ha utilizado en úlceras flebostáticas, en neuropatía periférica comparado con los tratamientos convencionales (49).

JUSTIFICACIÓN

El pie diabético es una patología con alta incidencia y prevalencia, por su cronicidad y su evolución natural, comúnmente presenta complicaciones que obligan a efectuar tratamientos radicales (amputación de la extremidad), causando en el paciente una limitación física, un trastorno emocional con repercusiones en su vida y su entorno, además de pérdidas económicas por su prolongada estancia hospitalaria e incapacidad laboral.

Aunque las medidas de tratamiento están encaminadas en primer lugar hacia la prevención, cuando estas fallan se plantean diferentes alternativas de manejo para su curación y reintegrar la salud del paciente, mejorar su calidad de vida, disminuir los costos de atención, por lo que cualquier alternativa posible esta plenamente justificada.

El pie diabético se presenta por lo general en personas mayores de 40 años, estos problemas se incrementan con la edad (50), alrededor del 15% de las personas con diabetes desarrollan problemas del pie, de estos 15-20% requieren amputación de la extremidad, y del 70-80% de todas las amputaciones relacionadas con diabetes son precedidas de úlceras crónicas (51,52).

La incidencia de pie diabético en el HGZ/MF No. 1 en el 2003 fue de 67 casos, que ameritaron hospitalización y amputaciones en diferentes niveles, por lo que causa un gran impacto social y económico, tanto Institucional como en los derechohabientes, siendo de vital importancia el estudio de nuevas alternativas terapéuticas que favorezcan la curación o remisión de esta enfermedad y mejorar la calidad de vida. La aplicación de ozono no ha sido estudiada en nuestro país, en el extranjero existen estudios que demuestran su utilidad en úlceras flebostáticas por lo que resulta atractivo para su investigación en el paciente diabético y la Institución a la que pertenecemos.

El presente estudio pretende evaluar si el ozono local, favorece el control de la infección y la cicatrización de las úlceras en los pies diabéticos con lesiones tipo I y II de Wagner. Existen estudios previos realizados en pacientes con úlceras por insuficiencia venosa crónica (59, 63, 64, 65) comparando este método de tratamiento con el convencional, reportando mejoría del 20 por ciento comparado con el grupo convencional (ozono en úlceras flebostáticas).

HIPÓTESIS GENERAL

El uso de ozono local asociado al tratamiento convencional reduce la infección y favorece la cicatrización de úlceras en pacientes con pie diabético con lesión grado I y II de Wagner.

Hi:

El uso del ozono local asociado al tratamiento convencional es más efectivo en la eliminación de la infección y mejora la cicatrización de úlceras en pacientes con pie diabético con lesión grado I y II de Wagner, comparado con el tratamiento convencional solo.

Ho:

El uso del ozono local asociado al tratamiento convencional es igual de efectivo en la eliminación de la infección y mejorando la cicatrización de úlceras en pacientes con pie diabético con lesión grado I y II de Wagner, comparado con el tratamiento convencional solo.

OBJETIVOS

OBJETIVO GENERAL

Evaluar el control de la infección y el grado de cicatrización con la aplicación de ozono local asociado a tratamiento convencional contra el oxígeno (como placebo) asociado a tratamiento convencional. (Desbridación radical, control metabólico, uso de antibióticos, reposo) y en el paciente con pie diabético con lesión grado I y II de Wagner.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- 1) Determinar si el ozono local elimina los microorganismos presentes en el pie diabético con lesión grado I y II de Wagner.
- 2) Determinar si el ozono local favorece la cicatrización de las úlceras presentes en el pie diabético con lesión grado I y II de Wagner.
- 3) Comparar el porcentaje de cicatrización al aplicar ozono local asociado a medidas convencionales contra el tratamiento convencional.
- 4) Comparar el porcentaje de eliminación de la infección al aplicar ozono local asociado a medidas convencionales contra el tratamiento convencional.

MATERIAL Y MÉTODOS

DISEÑO:

Ensayo clínico, ciego simple. (Al investigador), no se modifican los resultados según el paciente (el uso de ozono u oxígeno en forma alternativa).

UNIVERSO DE TRABAJO:

Pacientes derechohabientes al IMSS con diagnóstico de diabetes Mellitus tipo 2 portadores de pie diabético con lesión grado I y II de Wagner.

TAMAÑO DE MUESTRA.

Se realizó bajo la fórmula de dos proporciones (inicial):

$$N = \frac{(p_1 q_1 + p_2 q_2) (K)}{(p_1 - p_2)^2}$$

p_1 = Pacientes que mejoran con el tratamiento convencional (TX 1)

q_1 = Pacientes que no mejoran con el Tratamiento convencional (TX 1)

p_2 = Pacientes que mejoran con el Tratamiento convencional + ozonoterapia (TX 2)

q_2 = Pacientes que no mejoran con el tratamiento convencional + oxígeno (TX 2)

$K = (Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 = 6.2$ para un α del 0.05 (1.64) confianza 95%

Beta del 0.20 (20%) poder del 80%

$$N = \frac{0.7(0.3) + 0.3(0.7)(6.2)}{(0.2)^2 = 0.04} = \frac{0.21 + 0.21}{0.04} = \frac{0.42}{0.04} \times 6.2 = \frac{2.604}{0.04} = 65.1$$

Calculando el 10-15% de pérdidas por abandono o salida del estudio ($65 \times 0.15 = 10$ pacientes), con un resultado de $65 + 10 = 77$ pacientes para cada grupo estimado.

CRITERIOS DE INCLUSIÓN.

- Pacientes con diabetes mellitus tipo 2.
- Derechohabientes del Instituto Mexicano del Seguro Social
- Diagnóstico de pie diabético con lesión grado I y II de Wagner.

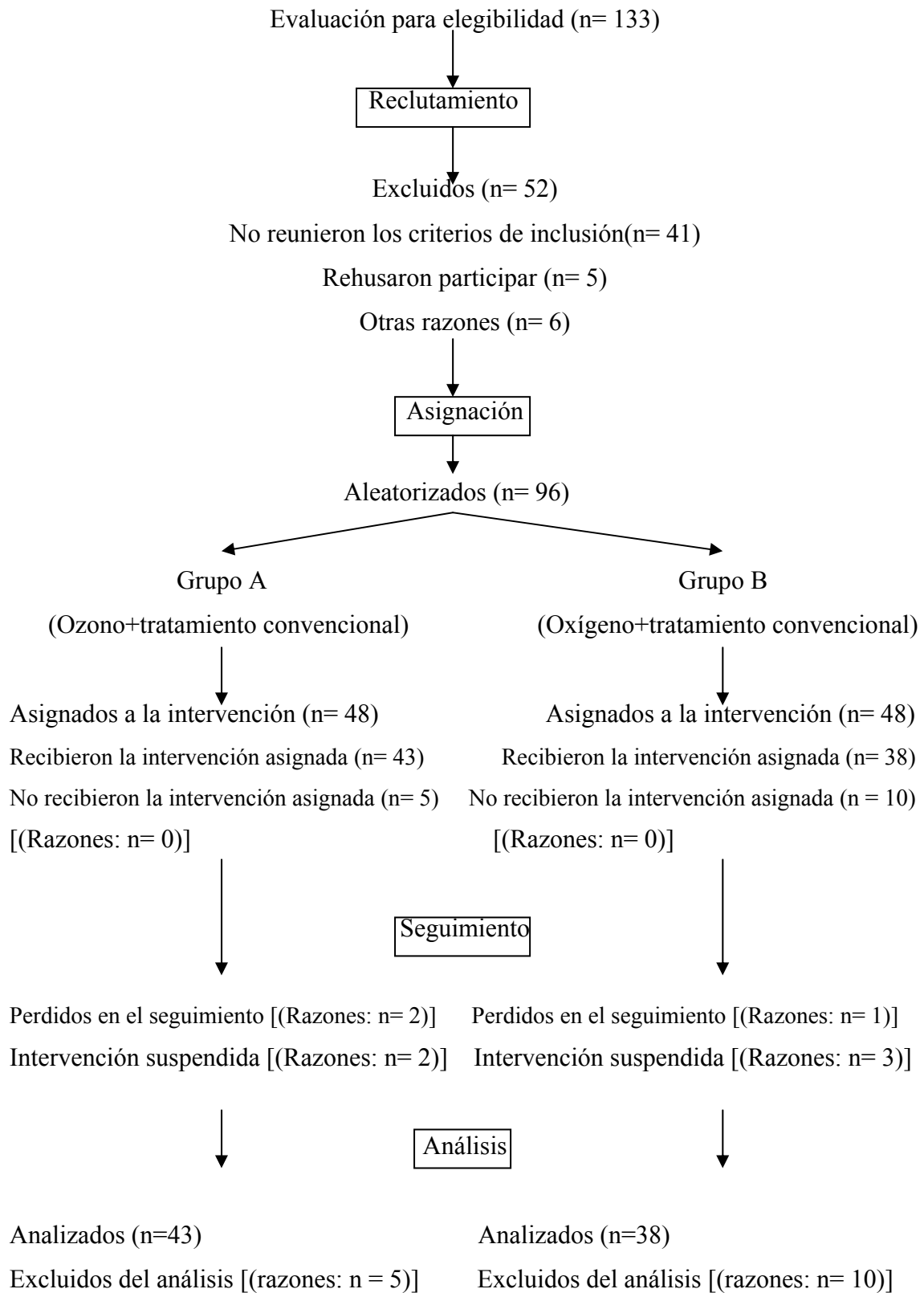
CRITERIOS DE EXCLUSIÓN.

- Pacientes con úlceras asociadas a lesiones traumáticas.
- Pacientes con úlceras puras por insuficiencia venosa.
- Pacientes con insuficiencia renal, cardíaca
- Pacientes hospitalizados.

CRITERIOS DE ELIMINACIÓN.

- Pacientes que no acepten el estudio o que lo abandonen.
- Pacientes embarazadas.
- Pacientes con cáncer
- Pacientes en quimioterapia o radioterapia.
- Pacientes con uso actual de drogas o alcohol.

CONSORT (Diagrama de flujo del progreso de los sujetos a través de las fases)



OPERACIONALIZACIÓN DE LAS VARIABLES

Ozonoterapia

Definición conceptual:

Aplicación de ozono medicinal (O₂-O₃) al organismo por cualquier vía.

Definición Operacional:

Aplicación de ozono medicinal (O₂-O₃) al pie afectado, mediante bolsa plástica con extracción de vacío.

Interacción	Variable Independiente
Naturaleza	Cualitativa,
Nivel de Medición	Nominal, dicotómica
Indicador	1 Se aplica, 2 No se aplica

Cicatrización

Definición Conceptual: Interrelación compleja y armónica de varios mediadores químicos y celulares (migración celular en la herida y epitelización) que permiten la regeneración de tejido para el cierre en una herida.

Definición Operativa: cierre de la herida en forma secundaria, dividida en mala y buena de acuerdo al porcentaje de disminución del tamaño o al cierre de la ulcera al término de las 6 semanas, utilizando el equipo de medición VISITRAK digital (Smith & Nephew), y determinación del diámetro en cms² y porcentaje de cicatrización (53, 54,55).

Interacción	Variable Dependiente
Naturaleza	cuantitativa
Nivel de Medición	continúa
Indicador	Mala disminución 0 -33%
	Buena disminución 34 -100%

Eliminación de Infección.

Definición Conceptual:

Proceso dinámico que implica la eliminación de microorganismos patógenos de los tejidos.

Definición Operativa:

Eliminación de la colonización por microorganismos patógenos en las heridas, demostradas mediante cultivos.

Interacción	Variable Dependiente
Naturaleza	Cualitativa
Nivel de Medición	Nominal
Medición	dicotómica
Indicador:	0 sin infección, 1 con infección.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Estadística Descriptiva: medidas de frecuencia, porcentajes, desviación estándar, media.

Estadística Inferencial:

χ^2 para mostrar la diferencia en la eliminación de la infección con la aplicación de ozono local y el tratamiento convencional tradicional con el tratamiento convencional.

U de Mann Whitney para evaluar el área de reducción al final de tratamiento entre los grupos.

Asociación con OR e intervalos de confianza entre cicatrización con tratamiento convencional más ozonoterapia

Asociación con OR e intervalos de confianza entre eliminación de infección con tratamiento convencional más ozonoterapia.

Reducción relativa de riesgo (RRR), Reducción absoluta de riesgo (RAR) y número necesario de paciente a tratar para reducir un evento (NNT).

Se consideró como significativo cuando la diferencia sea menor de 0.05

DESCRIPCIÓN GENERAL DEL ESTUDIO

1. Fueron identificados pacientes portadores de diabetes mellitus tipo 2, de sexo indistinto y edad indistinta en los servicios de consulta externa de Medicina Familiar, Especialidad, urgencias y programa de ADEC considerando únicamente el diagnóstico de Pie diabético con lesión única o bilateral grado I y II de Wagner, del primero de agosto del 2005 al 30 de octubre del 2006.
2. Fueron invitados a participar en el estudio (hoja de consentimiento informado).
3. Los pacientes que aceptaron, se les realizó evaluación clínica y estadificación de las lesiones, toma de radiografías del pie para descartar compromiso óseo u otro grado de lesión. Se determinó el tamaño de la úlcera en centímetros cuadrados con el equipo VISITRAK digital (Smith & Nephew), la presencia de infección mediante cultivo de la úlcera enviándola al laboratorio del IMSS y fotografía en forma inicial, en ambos grupos.
4. Se aleatorizaron y estratificaron, donde fueron asignados en forma ciega al azar, de acuerdo a su presentación al servicio de curaciones para la integración respectiva de cada grupo y saber a qué grupo perteneció, al de terapia con Ozono local y tratamiento convencional (Grupo A) o al grupo de tratamiento convencional más oxígeno (Grupo B).
5. En ambos grupos, se les explicó el procedimiento a seguir. A todos se les realizó una curación diaria. Ambos grupos introdujeron el miembro afectado portador de la úlcera en una bolsa plástica de nylon, la cual se selló en su extremo superior, se extrajo el aire de la misma, mediante aplicación de vacío.
6. Al grupo A; se insufló ozono a la concentración de 80 mg/L durante 10 minutos y se suspendió, posteriormente quedó la lesión en contacto directo con el gas durante 10 minutos más, al término, se cubrió la úlcera con apósitos estériles y se colocó vendaje manteniéndose de esta forma hasta la siguiente sesión (diaria), por 6 semanas siguiendo su tratamiento convencional.
7. Al Grupo B; se insufló oxígeno a 4 lts por minuto como placebo durante 10 minutos y se suspendió, posteriormente quedó la lesión en contacto directo con el gas durante 10 minutos más, al término se aplicó el tratamiento administrado

Por su médico tratante, se cubrió la úlcera con apósitos estériles colocando vendaje manteniéndose de esta forma hasta la próxima sesión (diaria), por 6 semanas siguiendo el tratamiento convencional.

8. Al final del estudio en ambos grupos se midió la herida (cm²) con el equipo VISITRAK digital (Smith & Nephew), tomó cultivo y fotografías.
9. Todos los pacientes siguieron el manejo convencional del paciente diabético con pie infectado (medidas generales que consistieron en: desbridación radical, curaciones, control metabólico, uso de antibióticos, medidas anti-edema, medidas para disminuir la humedad, reposo y ejercicios para favorecer el retorno venoso (en caso necesario).
10. Fueron excluidos aquellos pacientes con úlceras asociadas a lesiones traumáticas, úlceras puras por insuficiencia venosa, pacientes con insuficiencia renal, cardíaca y pacientes graves, fueron eliminados pacientes que no aceptaron el estudio o lo abandonaron, embarazadas, con cáncer, en quimioterapia o radioterapia y pacientes con uso actual de drogas o alcohol. Formando dos grupos, uno de 43 pacientes en el grupo de estudio y otro de 38 pacientes en el grupo control, tanto al inicio como al final del tratamiento.
11. Las variables a estudiar fueron la aplicación de ozono, la cicatrización y la presencia de infección.

CONSIDERACIONES ÉTICAS

El presente proyecto fue sometido a evaluación ante el Comité de Ética e Investigación del Hospital General de Zona y Medicina Familiar No. 1. El estudio se realizó de acuerdo a las normas y reglamentos de la Ley General de Salud de la República Mexicana y la Declaración de Helsinki (1964) enmendada en octubre 2000. Solicitando al paciente el consentimiento informado y firmado para ser incluido en el estudio. De acuerdo al artículo 17. Se considera un estudio de riesgo mínimo, en base a que el ozono en ninguno de los estudios realizados previamente ha mostrado tener efectos secundarios a las dosis indicadas.

RESULTADOS

Se realizó un ensayo clínico, ciego simple donde fueron estudiados un total de 81 pacientes, 43 para el grupo de estudio; ozono y tratamiento convencional (grupo A) y 38 para el grupo control; tratamiento convencional más oxígeno (grupo B). El estudio fue secuencial e individual para ambos grupos (entrada y salida de sujetos al terminar el tratamiento), con cortes periódicos para determinar el efecto, terminando el mismo al establecer significancia estadística. No hubo diferencia estadísticamente significativa entre los grupos en cuanto a la edad, género, evolución de la lesión, área de la lesión e infección al inicio del estudio. (Tabla 1). Encontrando diferencia en el tiempo de evolución de la diabetes mellitus. El género fue en el grupo A, 18 masculinos y 25 femeninos y en el grupo B, 20 masculinos y 18 femeninos, con un valor de $p = 0.3$. La edad en años, en el grupo A fue de 62.7 ± 11.2 y el grupo B 61 ± 13 con una $p = 0.5$ (Prueba exacta de Fisher). La evolución de la diabetes en años en el grupo A fue de 11.8 ± 5.6 y del grupo B 15.6 ± 8.2 , con una $p = 0.02$ (U de Mann-Whitney). La evolución de la lesión en meses fue del grupo A 34.5 ± 50.3 y del grupo B 20.1 ± 39.7 , con una $p = 0.1$ (U de Mann-Whitney). El tamaño de la lesión en centímetros del grupo A fue de 4.6 ± 3.6 y del grupo B 5.6 ± 4.8 con una $p = 0.3$ (U de Mann-Whitney). La infección estuvo presente en 40 pacientes del grupo de estudio y en 38 pacientes del grupo control $p = 0.5$. El área de reducción del tamaño de la herida expresado en centímetros al final del tratamiento fue en el grupo de estudio 1.7 ± 2.1 y el grupo control 0.6 ± 0.6 con un valor de $p = 0.001$ analizados con U de Mann-Whitney. (Tabla 2)

En cuanto al manejo de la infección al final de tratamiento; en el grupo de estudio de 43 pacientes en 18 se eliminó la infección y 25 continuaron con presencia de ella y en el grupo control de 38 pacientes; en 6 se eliminó la infección y 32 continuaron con ella con un valor de $p = 0.01$ (Tabla 3).

Tabla 3. Evolución de la infección			
	Tratamiento c/ozono y convencional n= 43	Tratamiento convencional n= 38	Valor de p
Eliminación de Infección	18	6	0.01
Continuación de Infección	25	32	
P = Chi Cuadrada			

Realizando una comparación de ambos grupos antes y después del tratamiento obtenemos los siguientes datos (Tabla 4):

Tabla 4. Comparación de los resultados inicial y final entre grupos

Grupo A (O ₃ + Tratamiento Convencional)		
	Inicial	Final
Cicatrización	43	23 cicatrizaron (53.4%)
Infección	40	18 sin Infección (45%)

Grupo B (Tratamiento Convencional)		
	Inicial	Final
Cicatrización	38	9 cicatrizaron (23.6%)
Infección	36	6 sin Infección (16.6%)

Los resultados del número necesario de pacientes a tratar para reducir un evento se expresan de la siguiente manera, respectivamente (tabla 5).

Tabla 5. RR, RRR, RAR, NNT

Cicatrización

Expuestos	No expuestos	RR	RRR	RAR	NNT
32	49	1.7	70	30	3.33

Infección

Expuestos	No expuestos	RR	RRR	RAR	NNT
24	57	1.7	74	26	3.8

DISCUSIÓN:

Al observar los resultados del estudio no se puede perder de vista la importancia de identificar en forma temprana el pie del diabético en riesgo, la neuropatía, la macroangiopatía y la infección son una combinación de factores fisiopatológicos propios de esta patología, otros factores se encuentran asociados como los individuales y en ocasiones del servicio de atención, que restan al problema la importancia necesaria (60), cuando las lesiones están presentes y son del tipo I y II de la clasificación de Wagner, es posible obtener efectos reversibles de estas lesiones con la terapia de ozono local asociado al tratamiento convencional, tal como se a observado en estudios previos en pacientes con úlceras flebostáticas (61).

El efecto bactericida del ozono ha sido comprobado por diferentes autores cuyo mecanismo de acción se produce ante la reacción del gas con los ácidos grasos insaturados de la capa fosfolípida presente en las membranas celulares, para dar lugar a una serie de peróxidos de cadena corta y de carácter hidrófilo, la célula infectada produce como defensa peróxido de hidrógeno, de tal forma que no soporta a los peróxidos formados por lo cual se destruye o produce un efecto sinérgico por ozonolisis (62, 63). En el presente estudio el ozono demostró ser efectivo contra los microorganismos presentes en los pacientes con lesiones grado II de Wagner, los resultados obtenidos al lograr cultivos negativos son similares al de estudios realizados en pacientes con úlceras por insuficiencia venosa crónica con similar número de sesiones (64).

Los efectos tróficos celulares del ozono que se muestran en el presente estudio de acuerdo a las sesiones aplicadas para obtener cicatrización o disminución del tamaño de la úlcera con formación de tejido de granulación satisfactorio, son similares de acuerdo a lo reportado en la literatura (65), ya que el 43% de los pacientes del grupo de estudio presentaron resultados satisfactorios, mientras que en el grupo control los cambios se mostraron en menor porcentaje comparativamente, a pesar de que en ambos grupos se llevo en forma completa el tratamiento convencional siendo este, el uso de antibióticos, la desbridación y las curaciones.

Es importante realizar una evaluación integral y completa de los pacientes que serán sometidos a terapia con ozono para poder establecer las posibilidades de curación de las lesiones que pueden ser reversibles a tratar de acuerdo con lo reportado en la literatura.

Es fundamental un buen control metabólico, el apego a las medidas de tratamiento de los pacientes diabéticos y portadores de úlceras para obtener bajo condiciones de reversibilidad oportuna los efectos del ozono.

El uso del ozono local no sustituye o elimina ninguna de las medias aplicadas y entendidas para el tratamiento de estos pacientes sino por el contrario, es una herramienta más en el manejo de estos pacientes, es necesario realizar estudios adicionales para confirmar dichos hallazgos al respecto, a pesar de los resultados obtenidos en el número necesario de pacientes a tratar dirigidos específicamente por más tiempo.

El paso a seguir es determinar en los pacientes diabéticos con lesiones grado I y II de la clasificación de Wagner el estado circulatorio suficientemente aceptable para obtener la respuesta de la lesión al tratamiento con ozono, así como la edad y el género, dado que quizás los resultados obtenidos pudieran estar influenciados en algunos pacientes por un estado más avanzado de macroangiopatía, de igual manera, continuar con las terapias de ozono para determinar el tiempo en el cual se logra cerrar la lesión según la clasificación de Wagner, ya que en este estudio no se continuó con dicha terapia.

CONCLUSIONES:

De acuerdo a los objetivos planteados y a los resultados encontrados en este estudio se obtuvieron las siguientes conclusiones:

1. La aplicación de ozono local asociado a tratamiento convencional en pacientes diabéticos tipo 2 con lesión grado I y II de la clasificación de Wagner de este estudio, sí elimina los microorganismos presentes en estas lesiones en un 45%.
2. La aplicación de ozono local asociado a tratamiento convencional en pacientes diabéticos tipo 2 con lesión grado I y II de la clasificación de Wagner de este estudio, sí favorece la cicatrización de úlceras en un 53.4%.

INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL
DELEGACIÓN ESTATAL EN COLIMA
 HOSPITAL GENERAL DE ZONA Y MEDICINA FAMILIAR No. 1
CONSENTIMIENTO INFORMADO

Yo _____ acepto que me han proporcionado información amplia y precisa sobre el estudio que se realizara ha los pacientes que presentan pie diabético con úlceras infectadas y que ingresan a los servicios de Medicina Familiar, urgencias, Medicina Interna, Cirugía General, Angiología, Ortopedia y Traumatología , programa ADEC y curaciones, entiendo y declaro lo siguiente:

Se me informó ampliamente, antes de aplicarme cualquier tratamiento, que se realizara un estudio a los pacientes con pie diabético y úlcera para saber si la aplicación de ozono local es una alternativa más de tratamiento para esta enfermedad. Se me dio a conocer que los estudios que me realizaran son; cultivo de la úlcera, medición y fotografía del pie afectado. La aplicación de ozono local consiste en poner el pie afectado en contacto con ozono u oxígeno, debiendo introducir el pie una bolsa nylon, la cual se sella en su extremo superior, extrayéndole el aire, con vacío, se insufla ozono u oxígeno a concentración de 80 mg/L durante 10 minutos u oxígeno a 4 litros por minuto, quedando la lesión en contacto directo con el gas durante ese tiempo y 10 minutos más de permanencia, se repetirán sesiones diarias por 6 semanas, se realizaran curaciones y se cubrirá la úlcera con gasas y vendaje hasta la próxima sesión. Se pretende saber si este método ya estudiado en otros países e Instituciones ayudan a eliminar la infección y mejora la cicatrización de las úlceras, además, usted seguirá con el tratamiento y manejo convencional que el Instituto proporciona para este tipo de problemas. Si esta de acuerdo, una vez que estuvieran los resultados obtenidos del estudio se pueden anexar en el estudio para, posteriormente, comunicarlos al área médica en publicaciones y saber más sobre los tratamientos que ayuden a sanar mas rápidamente el pie diabético. De ser necesario para mi conveniencia podré abandonar el estudio en el momento que yo lo decida libre de coerción. Puedo pertenecer a cualquiera de los 2 grupos, al azar, el grupo de ozono o de oxígeno.

Por lo anterior es mi decisión libre, consciente e informada aceptar que se me tomen los estudios necesarios y que se aplique el tratamiento mencionado y que los resultados de mis estudios puedan ser publicados.

Firmo este CONSENTIMIENTO por mi libre voluntad, en presencia de dos testigos y sin haber estado sujeto (a) a ningún tipo de presión o coerción.

Acepto (nombre y firma)	Lugar y Fecha	
Nombre y firma (huella)	No. de Afiliación	U. Médica de Adscripción
Testigo	Personal que tomó el consentimiento	Testigo
Nombre y firma	Nombre, firma y matrícula	Nombre y firma

NOMBRE _____ EDAD _____ SEXO (M) (F)
 AFILIACION _____

ANTECEDENTES FAMILIARES:

Padre: Cardiopatía __ Diabetes __ Hipertensión __ Dislipidemias __ Obesidad __ Cáncer __

Madre: Cardiopatía __ Diabetes __ Hipertensión __ Dislipidemias __ Obesidad __ Cáncer __

Hermanos: Cardiopatía __ Diabetes __ Hipertensión __ Dislipidemias __ Obesidad __
 Cáncer __

Tíos Maternos: Cardiopatía __ Diabetes __ Hipertensión __ Dislipidemias __ Obesidad __
 Cáncer __

Tíos Paternos: Cardiopatía __ Diabetes __ Hipertensión __ Dislipidemias __ Obesidad __
 Cáncer __

ANTECEDENTES PERSONALES NO PATOLOGICOS:

Tabaquismo SI () NO () Cantidad/Día 3-5() 6-8() 8 - + () Talla _____ Peso _____

ANTECEDENTES PERSONALES PATOLOGICOS:

Hipertensión: Si () No () Tiempo _____ años. Tratamiento _____

Tiempo de diabetes: 3 - 5 años () 6 – 8 años () 9 - 11 años () 12 – 14 años ()

Tratamiento: Oral _____ INSULINA _____

PARTICIPA EN EL PROGRAMA DE CONTROL DEL DIABETICO Si ___ No ___

Niveles de glicemia (últimos 3 registros) _____

HEMOGLOBINA GLUCOCILADA SI ___ NO ___ Resultado _____

TIEMPO DE EVOLUCION CON LA LESION EN SU PIE (meses):

1 ___ 2 ___ 3 ___ 4 ___ 5 ___ 6 ___ 7 ___ 8 ___ 9 ___ + DE 10 ___

Localización: _____ Contralateral _____

TIPO DE TRATAMIENTO (para la lesión)

Ambulatorio () Hospitalizado ():

Local _____ Sistémico _____

Cultivo de inicio (Si) (No) resultado _____

PROTOCOLO:

Cultivo de inicio _____

Resultado _____

Cultivo final _____

Resultado _____

CONTROL (TX A) (SI) (NO) CASO (TX B) (SI) (NO)

FECHAS:

- | | | |
|-------------------------|-------------------------|-------------------------|
| 1.- ____ / ____ / ____ | 8.- ____ / ____ / ____ | 15.- ____ / ____ / ____ |
| 2.- ____ / ____ / ____ | 9.- ____ / ____ / ____ | 16.- ____ / ____ / ____ |
| 3.- ____ / ____ / ____ | 10.- ____ / ____ / ____ | 17.- ____ / ____ / ____ |
| 4.- ____ / ____ / ____ | 11.- ____ / ____ / ____ | 18.- ____ / ____ / ____ |
| 5.- ____ / ____ / ____ | 12.- ____ / ____ / ____ | 19.- ____ / ____ / ____ |
| 6.- ____ / ____ / ____ | 13.- ____ / ____ / ____ | 20.- ____ / ____ / ____ |
| 7.- ____ / ____ / ____ | 14.- ____ / ____ / ____ | 21.- ____ / ____ / ____ |
| 22.- ____ / ____ / ____ | 29.- ____ / ____ / ____ | 36.- ____ / ____ / ____ |
| 23.- ____ / ____ / ____ | 30.- ____ / ____ / ____ | 37.- ____ / ____ / ____ |
| 24.- ____ / ____ / ____ | 31.- ____ / ____ / ____ | 38.- ____ / ____ / ____ |
| 25.- ____ / ____ / ____ | 32.- ____ / ____ / ____ | 39.- ____ / ____ / ____ |
| 26.- ____ / ____ / ____ | 33.- ____ / ____ / ____ | 40.- ____ / ____ / ____ |
| 27.- ____ / ____ / ____ | 34.- ____ / ____ / ____ | 41.- ____ / ____ / ____ |
| 28.- ____ / ____ / ____ | 35.- ____ / ____ / ____ | 42.- ____ / ____ / ____ |

Efectos Secundarios.

CULTIVO INICIAL

CULTIVO FINAL

Tamaño de la úlcera (centímetros cuadrados)

Ingreso (Inicial): total _____ ancho _____ largo _____ % _____

Egreso (Final): total _____ ancho _____ largo _____ % _____

FOTOGRAFIAS:

BIBLIOGRAFIA

- 1.- López Antuñano S, López Antuñano F. “Diabetes mellitus y lesiones del pie” Salud Publica de México 1998; 40(3); 1-19.
- 2.- Secretaria de Salud .Encuesta Nacional de Enfermedades Crónicas. México: Secretaria de Salud. 2000.
- 3.- Díaz Flores M, Balza-Glutman LU, Ibañez Hernández MA, Dascoe-Lira D, Guzmán Greenfel AM, Kumate Rodríguez J. “Aspectos Moleculares del daño tisular inducido por la hiperglucemia crónica. Gac. Med. Méx.2004; 140 :(4); 437-447.
- 4.- Méndez JD, Balderas FG, Corona de la Peña N, Morales ME, Palomar MM, De Haro HR. La investigación en Diabetes Mellitus y Ateroesclerosis. Efecto de la L-arginina y las poliaminas. En Aguirre GH (ed): Actualidades medico quirúrgicas vol. II. Editorial Prado, S.A. de CV. México DF. 2000 pp. 277-298. ISBN- 968-6899-34-0
- 5.- Secretaria de Salud, Boletín Estadístico Anual. Distrito Federal, México Secretaria de Salud 2002.
- 6.- Instituto Mexicano del Seguro Social, Boletín Estadístico de Mortalidad 1996 de México Sub- Dirección General Médica 1996.
- 7.- Instituto Mexicano del Seguro Social, Boletín Epidemiológico Anual 1986-1996 de México, Coordinación de salud Comunitaria, Dirección de prestaciones Médicas 1997.
- 8.- Mendiola-Segura, Martínez de Jesús FP, Morbilidad y mortalidad Hospitalaria en la atención integral del Diabético. Rev. Med. IMSS 1996; 36(4)305-308.
- 9.- Diabetes and hormone e center of the pacific. 1329 lusitana street # 304 Honolulu, HI 96813-2411 1996 Bauldfitz-Patrick MD.
- 10.- Lee Raf, Ramírez OJ, Flores BH, Estudio sobre egresos Hospitalarios de la diabetes mellitus durante 7 años a nivel Nacional en el IMSS. 1980-1986.
- 11.- Metha SS, Suzuki S, Glick HA, Schulman KA. Determining an episode of care using claims data: diabetic foot ulcer. Diabetes Care. 1999; 22(17):1110-1115.
- 12.- Levin ME. Preventing amputation in the patient with diabetes. Diabetes Care 1995; 18(10):1383-1394.

13. - Martínez JFR, Mendiola SI, Trujillo M y Col. Diagnostico situacional de la Diabetes Mellitus II en el paciente ambulatorio, hospitalizado y Pensionado. Rev. Med. IMSS (Mex.) 1996; 32:27-31.
14. - Rith Najarian S., Branchaud C., Beauveu O, Gohdes D., Reducing louver Extremity amputations due to Diabetes. Application of the staged diabetes management approach in primary care setting. J. Fam. Pract. 1998(2):127-132.
15. - Mason J. O'Keeffe C., Macintosh A., Hutchinson A., Booth as Young RJ, Asistemic review of foot ulcer in patients with types 2 Diabetes Mellitus. Diabet Med. 1999; 16(10):801-812.
16. - Boulton AK., Connor H., the Diabetic Foot. Diabt Med. 1998; 5:796-798.
17. - Kaplan R., Report of he Expert committee on the diagnosis and classification of Diabetes Mellitus. Diabetes care 1997:20; 1183-1193.
18. - Lebouitz HE, Type 2 Diabetes; and overview. Clin Chem 1999:45(8 pt 2); 1339-1345.
19. - Reiber GE, Bokyo EJ, Smith DG. Lower extremity foot ulcers and amputations in diabetes. In Harris M.I., cowie C.C. Stem, M.P. et al (Eds); Diabetes in America, Ed. (DHSS Publication No. 95-1468). Washington, DC, US Government Printing Office, 1995, pp 409-428.
20. - Browniee M., Biochemistry and molecular cel. Biolog. Of diabetic complications nature 2001; 414(6854); 813-820.
21. - Thurnally PJ, Jahan I, NSR. Suppression of the accumulation of human red blood cells. During hyperglycemia by thiamine in vitro. J. Blochem 2001; 129:543-549.
22. - Boyko EJ, Lipsky BA. Infection and diabetes mellitus. En: Harris MI, editor. Diabetes in América. 2nd ed. Diabetes data compiled 1995. Bethesda: National Institutes of Health. NIH publication 1995; p. 95-1468 y 485-99
- 23.- Cuidados preventivos de los pies. Carlos Alberto Alcocer Abarca, Escobar Padilla B. Cuidados preventivos de los pies Rev. Med. IMSS 2001; 36(4); 311-317.
- 24.- American Academy of Ortopedia American surgeons. http://orthoinfo.aaos.org/Fac./thr_report.Cfm?Thread_ID=369&topcategory=Spanish&all=allF. Javier Aragón Sánchez, Pedro Pablo, Ortiz Remacha. Pie Diabético. Editorial Masson edición 2002 Pág. 11-22 83-97.

25. - SEACV Consenso sobre pie diabético 1997.
<http://www.ulceras.net/complica.htm#Diag>
- 26.- Blanes JI., Lluch I., Morillas C., Nogueira JM., Hernández A. Etiopatogenia del pie diabético. Tratado de pie diabético, Edit Masson. 2002 ISBN 84-458-1027-; 33-41
27. - Lavery, Lawrence A. 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. Volume 26(5) May 2003 pp 1435-1438.
28. - Mc Neely MJ, Bokyo EJ, Ahroni JH. The independent contributions of diabetic neuropathy and vasculopathy in foot ulceration: How great are the risks? Diabetes Care 1995; 18:216-219.
29. - Armstrong DG, Lavery LA, Vela SA, Quebedeaux TL, Fleischli JG. Choosing a practical screening instrument to identify patients at risk for diabetic foot ulceration. Arch Intern Med, 1998; 158(3):289.292.
30. - Lehto S, Niskanen L, Suhonen M, Ronnema T, Laakso M. Medial artery calcification: A neglected harbinger of cardiovascular complications in non-insulin-dependent diabetes mellitus. Arterioscler thromb boil 1996; 16(8):978-983.
31. - O'Meara SM, Cullum NA, Majid M, Sheldon TA. Sistematic review of antimicrobial agents used for chronic wounds. Bj J Surg 2001; 88; 4-21.
32. - Okitansky, Clinical Considerations and Biochemistay of Ozone Therapy Hospitals 1982. Quiñones M, Menéndez S, G Gómez M. Ozonoterapia en el tratamiento de las úlceras de miembros inferiores causadas por insuficiencia venosa crónica. Rev CNIC Biol 1989; 201(1-3):76-8
33. - Lipsky BA, Osteomyelitis of the foot in diabetic patients. Clin Infect Dis 1997; 25:1318-6.
34. - Lipsky BA, Evidence-based antibiotic therapy of diabetic foot infections. FEMS Immunol Med Microbiol 1999; 26:267-76.
35. - Karchmer AW, Gibbons GW. Foot infections in diabetes: evaluation and management. Curr Clin Topics inf Dis 1994; 14:1-22
36. -La Ozonoterapia en Cuba Centro de Investigación del Ozono, Cuba
<http://www.Ozono/Cuba Web.CU>

37. - Warner FW Jr. Classification and treatment program for diabetic, neurophatic, and dyvascular foot problems. Ins Instruccional Course lectures. St- Louis, CV Mosby, American Academy of Orthopáedic Surgeons, 1979, pp 143-165.
38. - Duplaa RG, Planas GN. La ozonoterapia en el tratamiento de las ulceras crónicas de las extremidades inferiores. *Angiología* 1991; 43:47.
39. - Jiménez JA. Epidemiología de las enfermedades vasculares periféricas. *Angiología* 1993; 2:2-4)
40. - Relling S: H Proceedings Off The eleventh Ozone World Congress. Ozone In Medicine, San Francisco September 1993.
41. - Llanes CC. Ozono: Diversidad terapéutica. *Avan Med* 1995; 3:30.
42. - Bocci V, Panleau, L., Studies on the biological effects of ozone. L. Introduction of Interferón gamma on human leukocytes. *Hamatología*. 1990;75; 510-5.
43. - Velasco M, Méndez S. Montequin JF. Valor de la ozonoterapia en el tratamiento del pie Diabético neuroinfeccioso. *Rev. CNIC Biol*. 1989; 20(1-3):64-9
44. - Panleau L, Luzzi E., Bocci V. Studies on the biological effects of ozone.2. Induction of tumor necrosis factor (TNF-y) on human leukocytes. *Lymphokine and Cytosine Research* 10 (5):209-412, 1991
45. - Bocci V Ozonization of blood for the therapy of viral diseases and inmunodeficiencias A hypothesis. *Medical Hypothesis Longman Group U.K.*, 1992; 39: 30-34.
46. - Dr. Matthew John Young Reino Unido.1993 Foro Wound Care
- 49.- Jiménez JA. Epidemiología de las enfermedades vasculares periféricas. *Angiología* 1993; 22-4.
50. - Blies JC. Una solución para exposiciones óseas post-traumáticas, asociación de Injerto de epiplón mayor con ozonoterapia. *Rev Cubana Invest Biomed* 1996; 15(2):102-11.
51. - Levin ME. Preventing amputation in the patient with diabetes. *Diabetes Care* 1995; 18(10):1383-1394.
52. - Ollendorf DA, Kotsanos J, James G, Wishner WJ, Friedman M, Cooper T, Bittoni M, Ester G. Potential economic benefits of lower-extremity amputation strategies in diabetes. *Diabetes Care* 1998; 21(8):1240-1245.

53. - Reiber GE, Bokyo EJ, Smith DG, Lower extremity foot ulcers and amputations in diabetes. In Harris M.I., Cowie G.C. Stem, M.P. et al (eds.): Diabetes in America, ed (DHHS Publication No. 95-1468). Washington DC, US Government Printing Office, 1995, 409-428.
54. - Flanagan M. Wound measurement: can it help us to monitor progression to healing? *J Wound Care* 2003; 12(5):189-194.
55. - Data on file. Smith & Nephew.
- 56.- Quiñónes M, Menéndez S, Gómez M. Ozonoterapia en el tratamiento de las úlceras de miembros inferiores causadas por insuficiencia venosa crónica. *Rev. CNIC Biol.* 1989; 20(1-3):76-8
- 57.- Rilling S. The possibilities of indicial ozone application in the Light of the historial development of ozone therapy. *Ozone Nachrichten* 1983; 2:27-42.
- 58.- Doroszkiewiaz W, Sikorsica J, Jankowskis P. Studies on the influence of ozone on complement mediated killing of bacteria. *Clin Immunol Med Microbiol* 1994; 9(4):281-5
- 59.- Díaz O, Castellanos R. Ozono en ulceras flebostaticas. *Rev. Cubana Cir.* 2001; 40(2):123-9.
- 60.- Instituto Mexicano del Seguro Social. Manual de procedimientos para la atención integral a derechohabientes con factor de riesgo asociado a Diabetes Mellitus o con Diabetes Mellitus. México, IMSS, Coordinación de Salud Comunitaria 2000.
- 61.- Armstrong DG, Lavery LA. Diabetic foot ulcers: prevention, diagnosis and classification. *Am Fam Physician* 1998; 57(6): 1325-32.
- 62.- Rilling S. The possibilities of indicial ozone application in the Light of the historial development of ozone therapy. *Ozone Nachrichten* 1983; 2:27-42.
- 63.- Doroszkiewiaz W, Sikorsica J, Jankowskis P. Studies on the influence of ozone on complement mediated killing of bacteria. *Clin Immunol Med Microbiol* 1994; 9(4):281-5
- 64.- Velasco M, Méndez S. Montequin JF. Valor de la ozonoterapia en el tratamiento del pie Diabético neuroinfeccioso. *Rev. CNIC Biol.* 1989; 20(1-3):64-9.
- 65.- Quiñónes M, Menéndez S, Gómez M. Ozonoterapia en el tratamiento de las úlceras de miembros inferiores causadas por insuficiencia venosa crónica. *Rev. CNIC Biol.* 1989; 20(1-3):76-8