



**VNiVERSiDAD
D SALAMANCA**

Valoración de la efectividad del ácido hialurónico en la cicatrización de zonas donantes

DOCTORANDO

María Rosana Hernández Vicente

LICENCIADA EN MEDICINA Y CIRUGIA

DIRECTORES

M^a Lourdes García Martínez

Universidad de Salamanca

Facultad de Medicina

Departamento de Cirugía

M^a José Sánchez Ledesma †

Universidad de Salamanca

Facultad de Medicina

Departamento de Cirugía

2020

Valoración de la efectividad del Ácido Hialurónico en la cicatrización de zonas donantes

María Rosana Hernández Vicente

Tesis de investigación presentada como requisito parcial para optar al título de:

Doctor en Medicina

Directora:

M^a Lourdes García Martínez

Codirectora:

M^a José Sánchez Ledesma†

Universidad de Salamanca

Facultad de Medicina

Salamanca

2020

*A mis padres y a mis hijos Antonio y Rocío
por estar siempre conmigo.*

Agradecimientos

A la Dra. María José Sánchez Ledesma que inició mi andadura, me aconsejó y ayudó siempre. Ha sido una parte esencial en la historia de esta tesis. De manera especial siempre estará en ella.

A la Dra. Lourdes García Martínez, por toda la ayuda prestada, sin ella no hubiera sido posible desarrollar y terminar este proyecto. Gracias por todas las horas que hemos pasado juntas desarrollándola y todas las conversaciones que hemos tenido. Tú fuiste el comienzo y me has acompañado hasta el final.

A todos los pacientes que han hecho posible con su participación que este estudio pudiera salir adelante, porque la investigación es una parte esencial en nuestro trabajo.

Gracias

Resumen

El injerto cutáneo de piel parcial es una de las técnicas más usadas en cirugía plástica. Actualmente no existe un consenso sobre el tratamiento idóneo de las zonas donantes. Esta falta de evidencia obliga a tratamientos empíricos basados en preferencias o costumbres que consumen recursos y retrasan la cicatrización. Nuestro estudio puede ayudar a establecer un procedimiento homogéneo en el abordaje de estas heridas con el fin de acelerar el periodo de curación y disminuir los riesgos de infección y así proporcionar un aumento de la calidad de vida de los pacientes.

El papel del ácido hialurónico en la cicatrización es primordial, permitiendo la reparación de la matriz extracelular y colaborando en procesos de migración, proliferación y diferenciación celular. Al añadirlo a apósitos de plata nanocristalina, que son buenos antimicrobianos y reductores de metaloproteinasas, podrían acelerar el proceso de cicatrización.

Realizamos un estudio prospectivo caso-control con 53 pacientes que requirieron una toma de injerto de piel parcial. Las zonas donantes fueron curadas con apósito de plata nanocristalina en todos los casos, añadiendo a la mitad de esos apósitos, 5 ml de ácido hialurónico al 1% en forma de sal sódica. Valoramos la seguridad y efectividad de la epitelización en los dos escenarios.

Los resultados obtenidos apuntan a que la adicción de ácido hialurónico en apósitos de plata es segura y favorece la epitelización de las zonas donantes. Reflejan una media de epitelización por áreas de 0.95 ± 0.1 en zonas tratadas con ácido

hialurónico frente a $0,88 \pm 0,11$ ($p \leq 0,005$) en las no tratadas. Respecto a los perímetros, encontramos medias de $0,78 \pm 0,83$ en zonas de AH y de $0,58 \pm 0,62$, ($p \leq 0,005$). Además de favorecer un efecto analgésico con los cambio de apósito según la escala analógica visual (EVA) y encontrar un puntaje en la escala de Vancouver medio en áreas hidratadas con AH de $5,69 \pm 2,34$ frente al $4,44 \pm 2,05$ en las no tratadas. La diferencia fue significativa ($p < 0,005$) para todos los subparámetros (flexibilidad, altura, y pigmentación.) excepto en la vascularización.

En conclusión, podemos decir, que el ácido hialurónico añadido a la plata favorecería la cicatrización de las zonas donantes, proporcionando un mejor confort con los cambios de apósito y mejor resultado estético a largo plazo.

Palabras clave: Ácido Hialurónico, zonas donantes, cicatrización, apósito de plata.

Abstract

Partial skin graft is one of the most commonly used techniques in plastic surgery. There is currently no consensus on the proper treatment of donor areas. This lack of evidence forces empirical treatments based on preferences or customs that consume resources and delay healing. Our study can help establish a homogeneous procedure in addressing these wounds in order to speed up the healing period, and reduce the risks of infection and thus provide an increase in the quality of life of patients

The role of hyaluronic acid in healing is paramount, allowing the repair of the extracellular matrix, and collaborating in processes of migration, proliferation and cell differentiation. By adding it to nanocrystalline silver dressings that are good antimicrobials and metalloproteinase reducers could speed up the healing process.

We conducted a prospective case-control study with 52 patients who required partial skin grafting. The donor areas were cured with nanocrystalline silver dressing in all cases, adding to half of these dressings, 5 ml of 1% hyaluronic acid in the form of sodium salt. We value in the safety and effectiveness of epithelialization in both scenarios.

The results are suggested that the addiction of hyaluronic acid in silver dressings is safe and promotes the epithelialization of donor areas. They reflect an average epithelialization by areas of 0.95×0.1 in areas treated with hyaluronic acid versus 0.88×0.11 ($p < 0.005$) in untreated areas. Regarding the perimeters, we found averages of 0.78×0.83 in areas of AH and 0.58×0.62 , ($p < 0.005$) In addition to favoring an analgesic effect with changes in visual analogue scale (EVA) and find a score on the

mid-Vancouver scale in hydrated areas with AH of 5.69 x 2.34 and 4.44 x 2.05 in untreated areas. The difference was significant ($p < 0.005$) for all subparameters (flexibility, height, and pigmentation.) except for vascularization.

In conclusion, we can say, that hyaluronic acid added to silver would accelerate the healing of donor areas, providing better comfort with dressing changes and better long-term aesthetic result.

Keywords: hyaluronic acid, split-thickness skin graft, donor site, wounds healing, silver dressing

Índice

I

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 ANTECEDENTES Y JUSTIFICACIÓN	2
1.2 LA PIEL	4
1.2.1 <i>Funciones y estructura</i>	4
1.3 EPIDERMIS	5
1.4 DERMIS	7
1.4.1 <i>Matriz extracelular</i>	8
1.4.2 <i>Colágeno</i>	9
1.4.3 <i>Elastina</i>	10
1.4.4 <i>Glucosaminoglucanos</i>	11
1.5 HIPODERMIS	13
1.6 PROCESO DE CICATRIZACIÓN	13
1.6.1 <i>Tipos de Cicatrización</i>	14
1.6.2 <i>Fases de cicatrización</i>	15
1.6.3 <i>Fase de coagulación</i>	16
1.6.4 <i>Fase inflamatoria o exudativa</i>	17
1.6.5 <i>Fase proliferativa o de granulación</i>	18
1.6.6 <i>Fase de Remodelación</i>	21
1.7 CICATRIZACIÓN FETAL	22
1.8 ÁCIDO HIALURÓNICO Y CICATRIZACIÓN	25
1.9 PLATA Y CICATRIZACIÓN	31
1.10 ZONAS DONANTES	37
1.11 ÁCIDO HIALURÓNICO	40
1.11.1 <i>Estructura química</i>	42
1.11.2 <i>Funciones del AH</i>	44
1.11.3 <i>Obtención ácido Hialurónico</i>	47
1.11.4 <i>Síntesis y Biotecnología</i>	49

1.11.5	<i>Seguridad del producto</i>	50
2.	HIPÓTESIS	53
2.1	OBJETIVO PRINCIPAL	55
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	55
3.	MATERIAL Y MÉTODO	58
3.1	DISEÑO DEL ESTUDIO	60
3.2	VARIABLES DEL ESTUDIO	60
3.2.1	<i>Selección de sujetos</i>	60
3.2.2	<i>Variable principal</i>	61
3.2.3	<i>Variables secundarias</i>	61
3.3	DIAGRAMA DEL ESTUDIO	63
3.3.1	<i>FASE I:</i>	63
3.3.2	<i>FASE II:</i>	66
3.3.3	<i>FASE III:</i>	67
3.3.4	<i>FASE IV:</i>	68
3.3.5	<i>Autorización y principios éticos</i>	69
3.3.6	<i>Estudio estadístico</i>	70
3.3.7	<i>Gel de Ácido Halurónico. Regenhial®</i>	71
3.3.8	<i>Apósito de plata nanocristalina. Acticoat®</i>	72
4.	RESULTADOS	75
4.1	ANÁLISIS DESCRIPTIVO	77
4.1.1	<i>Población estudiada</i>	77
4.1.2	<i>Edad</i>	77
4.1.3	<i>Sexo</i>	78

4.1.4	<i>Comorbilidades</i>	78
4.1.5	<i>Causas de la cirugía</i>	80
4.1.6	<i>Analítica preoperatoria</i>	80
4.1.7	<i>Zonas donantes</i>	83
4.1.8	<i>Escala de dolor</i>	84
4.1.9	<i>Escala de Vancouver</i>	84
4.1.10	<i>Situación del ácido hialurónico</i>	85
4.2	DIFERENCIAS EN LA CICATRIZACIÓN	85
4.2.1	<i>Comparación de proporciones (área y perímetro)</i>	85
4.3	VALORACIÓN DEL DOLOR	91
4.4	EFFECTOS ADVERSOS Y TASA DE INFECCIÓN	94
4.5	CALIDAD DE LA CICATRIZACIÓN.....	94
4.6	SITUACIÓN DEL ÁCIDO HIALURÓNICO	99
4.7	VALORACIÓN DE OTROS FACTORES.....	101
5.	DISCUSION	109
5.1	CICATRIZACIÓN DE ZONAS DONANTES	111
5.1.1	<i>El papel del ácido hialurónico</i>	111
5.1.2	<i>El ambiente húmedo</i>	116
5.1.3	<i>La citotoxicidad de la Plata</i>	119
5.1.4	<i>Asociación AH y plata</i>	124
5.2	INFECCIÓN Y EFFECTOS ADVERSOS	127
5.3	EFFECTO ANALGÉSICO	131
5.4	VALORACIÓN ESTÉTICA CICATRICIAL.....	133
5.5	ANTIAGREGANTES Y CICATRIZACIÓN	139
5.6	NUEVAS TECNOLOGÍAS PARA INVESTIGAR EL ÁCIDO HIALURÓNICO Y LA PLATA EN LA CURACIÓN DE HERIDAS	140
6.	LIMITACIONES	144
7.	CONCLUSIONES	149
8.	REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	153

9. ANEXOS..... 193

Listado de figuras

Figura 1. Capas de la piel	5
Figura 2. Sección histológica de la epidermis. 5 estratos de superficial a profundo: córneo, lucido, granuloso, espinoso y basal.	6
Figura 3. Representación esquemática ECM (John Wiley and Sons 2008)	9
Figura 4. Composición de los principales glicosaminoglicanos (Modificado de Lamoureux, 2007)	12
Figura 5. Etapas de la cicatrización. Hemostasia, inflamación, proliferación y remodelado.	15
Figura 6. Cicatrización fetal versus cicatrización adulta. A nivel fetal se forma un coagulo de actina que contrae la herida ⁸⁴	24
Figura 7. Citotoxicidad mediada por plata. Fuente: Wilkinson 2011 ¹⁷²	34
Figura 8. Representación esquemática del ácido Hialurónico. (Modificado Jiang 2007) ⁶⁵	43
Figura 9. Representación esquemática del hialuronato de Sodio ³⁶	43
Figura 10. Fragmentos de AH ⁵⁶	46
Figura 11. Síntesis de ácido hialurónico en la membrana celular por la sintasa del ácido hialurónico (Modificado de Escudero 2009).	48
Figura 12. Escala visual analógica	62
Figura 13. Zona donante de injerto de piel parcial	65
Figura 14. Izda curado con Acticoat®, derecha humedecido con Acido Hialurónico	65
Figura 15. Zona donante epitelizada a los 3 meses	68
Figura 16. Software Image J	69
Figura 17. Regenhial ácido hialurónico en forma de sal sódica al 1%	72
Figura 18. Actocoat, apósito de plata nanocristalina	73
Figura 18. Gráfico distribución por sexos	78
Figura 19. Gráfico distribución de comorbilidades por sexo	79
Figura 20. Histograma valores de la analítica preoperatoria	82
Figura 21. Boxplots zonas epitelizadas	86
Figura 22. Diagrama de dispersión que representa la proporción de área cicatrizada según la edad	87
Figura 23. Histograma representa áreas y perímetros de las zonas donantes	88
Figura 24. Histograma de áreas y perímetros que tiene AH frente a las que no lo tienen	89

<i>Figura 25. Histograma áreas y perímetros pendientes de cicatrizar las que llevan AH arriba frente a las que no lo llevan.</i>	<i>89</i>
<i>Figura 26. Histograma representando áreas epitelizadas con AH dependiente de la situación del AH, del sexo y del uso de antiagregantes.....</i>	<i>90</i>
<i>Figura 27. Bloxplots Escala de dolor zonas donantes</i>	<i>91</i>
<i>Figura 28. Diagrama de barras escalas de dolor EVA en zonas con AH y sin distribuidos por sexos.....</i>	<i>92</i>
<i>Figura 29. Gráfico de correlaciones escala EVA con escala Vancouver en las zonas tratadas y no tratadas con AH.</i>	<i>93</i>
<i>Figura 30. Bloxplot . Parámetros valorados en la escala de Vancouver</i>	<i>95</i>
<i>Figura 31. Diagrama de Barras .Parámetros de la escala de Vancouver en zonas no tratadas con AH distribuidos por sexo.</i>	<i>96</i>
<i>Figura 32, Diagrama de barras, parámetros de la escala de Vancouver en zonas no tratadas con AH distribuidos por sexo</i>	<i>97</i>
<i>Figura 33, Diagrama de Barras, Parámetros de la escala de Vancouver en zonas tratadas con AH distribuidos por sexo</i>	<i>98</i>
<i>Figura 34. Bloxplot. Diferencias en el aspecto de la cicatriz según la situación de la zona tratada.....</i>	<i>99</i>
<i>Figura 35. Bloxplot valores de la escala de Vancouver comparando zonas tratadas con AH y zonas no tratadas.....</i>	<i>101</i>
<i>Figura 36. BloxplotAntiagregantes y cicatrización</i>	<i>103</i>
<i>Figura 37. Bloxplot Corticoides y cicatrización.....</i>	<i>104</i>
<i>Figura 38. Bloxplot quemadura y cicatrización.....</i>	<i>104</i>
<i>Figura 39. Bloxplot causa cirugía reconstructiva y cicatrización</i>	<i>105</i>
<i>Figura 40. Bloxplot causa traumatismo y cicatrización</i>	<i>105</i>
<i>Figura 41. Bloxplot causa úlcera crónica y cicatrización.....</i>	<i>106</i>
<i>Figura 42. Gráfico de correlaciones de las principales variables utilizadas en el estudio.....</i>	<i>107</i>

Listado de tablas

<i>Tabla 1. Funciones del AH en la cicatrización. Fuente: Modificado Frenkel 2014⁹⁹</i>	26
<i>Tabla 2. Propiedades apósito ideal²⁰⁷</i>	39
<i>Tabla 3. Ventajas de la cura húmeda I²⁰⁷</i>	40
<i>Tabla 4. Escala de Vancouver</i>	63
<i>Tabla 5. Descriptivos de la variable edad</i>	77
<i>Tabla 6. Comorbilidades, hábitos tóxicos y tratamientos; total y por sexo</i>	79
<i>Tabla 7. Causas de la cobertura cutánea</i>	80
<i>Tabla 8. Variables analítica preoperatoria</i>	81
<i>Tabla 9. Medidas Zonas donantes y epitelización</i>	83
<i>Tabla 10. Datos valoración EVA</i>	84
<i>Tabla 11. Valores escala de Vancouver</i>	84
<i>Tabla 12. Situación del ácido hialurónico en la zona donante</i>	85
<i>Tabla 13. Test de Shapiro- Wilk</i>	85
<i>Tabla 14. Zonas epitelizadas</i>	87
<i>Tabla 15. Valores EVA comparados con VSS</i>	93
<i>Tabla 16. Valores de los parámetros de la escala de Vancouver</i>	94
<i>Tabla 17. Situación del ácido hialurónico según área y perímetro cicatrizado</i>	99
<i>Tabla 18. Relación cicatrización con otros factores</i>	102
<i>Tabla 19. Valores analítica en relación al perímetro y al Area con AH</i>	106

Lista de Símbolos y abreviaturas

AG– Plata

AH – Ácido Hialurónico;

CI – Consentimiento Informado

ECM- Matriz extracelular

EFG- Factor de crecimiento Epidérmico

FDA – Food and Drug administración

GAGs– Glucosaminoglicanos

HA- Acido Hialurónico

HARE- Receptor de endocitosis de ácido hialurónico

HAS – Sintetasa de ácido hialurónico.

HMW- Alto peso molecular

HYAL – hialuronidasa, enzima que degrada el Ácido Hialurónico;

KGF – Factor de crecimiento de queratinocitos

IGF-1 – Factor de crecimiento insulínico tipo 1.

IL – Interleucina

INF γ - Interferón Gamma.

LMW- Bajo peso molecular.

LYVE-1-lymphatic vessel endotelial hyaluronan receptor 1.

MMP -Metaloproteinasas de matriz

NMF - Factor hidratante natural

NPs- Nanopartículas

RHAMM-Receptor para el ácido hialurónico mediado por motilidad.

ROS – Especies reactivas de oxígeno

SOD – Superóxido dismutasa

TCS- Tejido celular subcutáneo.

TGF β - Factor de crecimiento transformante β

TNF- α – Factor de necrosis tumoral α

UV – Radiación Ultravioleta.

UV- ultravioleta

VEGF – Factor de crecimiento endotelial vascular

VSS- Escala de cicatrices de Vancouver

1. Introducción

1.1 Antecedentes y justificación

Uno de los procedimientos básicos en cirugía plástica para el tratamiento de pérdidas de sustancia, es el injerto cutáneo. Esta técnica, consiste en la realización de un trasplante de piel que se toma de una zona sana del propio paciente¹ lo que denominamos zona donante.

En ocasiones, la zona injertada cicatriza de forma más precoz que la zona donante del injerto². Dicha situación retrasa el alta de los pacientes al prolongar el tiempo de cicatrización^{3,2}, y aumentar el riesgo de infecciones. Conlleva un consumo de recursos y una disminución evidente de la calidad de vida del paciente.

Para el tratamiento de estas zonas se ha utilizado múltiples técnicas, entre ellas, la plata nanocristalina, que ofrece una barrera eficaz a la contaminación microbiana y proporciona un cuidado de la herida de larga duración. La plata nanocristalina se ha utilizado para tratamiento de zonas zonantes tanto aisladamente y en combinación, con diferentes resultados^{4,5}.

El ácido hialurónico (AH) es un polisacárido que se encuentra entre otros, en la piel y en los tejidos blandos. Habiéndose descrito un papel fundamental en la reparación de lesiones cutáneas⁶.

Su mecanismo de acción es a nivel celular e interviene en la migración, proliferación y diferenciación del epitelio mediante la interacción con la matriz extracelular^{7,8}

Sus funciones principales son la hidratación y protección tisular facilitando la movilidad celular ,la difusión molecular y el control de la comunicación intercelular⁹.

El medio acuoso que proporciona, permite la viabilidad y desplazamiento de células de defensa como los neutrófilos y los macrófagos, y la actividad de los enzimas endógenos que intervienen en el desbridamiento autolítico de tejidos inertes^{10,11}.

Con este fin se ha utilizado en tratamiento de heridas crónicas, pie diabético, radiodermatitis y quemaduras con buena respuesta^{12,13,14}, sin embargo, se utilizó en tratamiento de zonas donantes con resultados poco satisfactorio^{15,5} debido a un mal control de la carga bacteriana.

Actualmente no existe consenso respecto a la pauta de curas de las zonas donante^{16,17}. La necesidad de este estudio viene determinada por buscar una pauta de curas que acelere la cicatrización de las zonas donantes, para que el periodo de curación sea similar entre ésta y la zona receptora de dicho injerto.

Nuestra hipótesis es que el AH junto a un antiséptico como la plata nanocristalina mejora la cicatrización de las zonas donantes y disminuye las complicaciones o efectos secundarios asociados.

Las referencias bibliográficas del uso conjunto de estos productos en la zona donante de injertos de piel parcial es muy escasa, sin evidencias científicas claras.

Este hecho, junto, con la ausencia de información fiable en la literatura, creemos que justifican el interés de esta investigación.

1.2 La piel

La piel se considera el órgano más extenso del cuerpo humano, con una superficie promedio de 1.6–2 m² y representa aproximadamente el 15% del peso corporal total. Su función principal es la de proporcionar y ser la barrera fisiológica que permite comunicarnos con el medio externo¹⁸.

Se encuentra dividida en 3 capas: epidermis, dermis e hipodermis, ésta última, compuesta por tejido conjuntivo y adiposo (Fig.1)

Cuando la piel soporta un daño por un agente físico, químico o biológico, es capaz de regenerarse con sus propias células lo que asegura el mantenimiento de la integridad del tejido y su homeostasis por dos vías; la regeneración celular y la sustitución por tejido conjuntivo, que puede derivar en la pérdida de la funcionalidad y formación de tejido cicatricial¹⁹.

1.2.1 Funciones y estructura

La piel desempeña funciones primordiales para la vida y la homeostasis, abarca procesos diversos como:

La protección frente al medio externo (radiación UV, infecciones, traumatismos...), la regulación de la temperatura corporal, la excreción de agua y sales, síntesis de melanina y percepción sensorial²⁰. Está involucrada en mecanismos de inmunización, procesos endocrinos y funciones neurológicas.

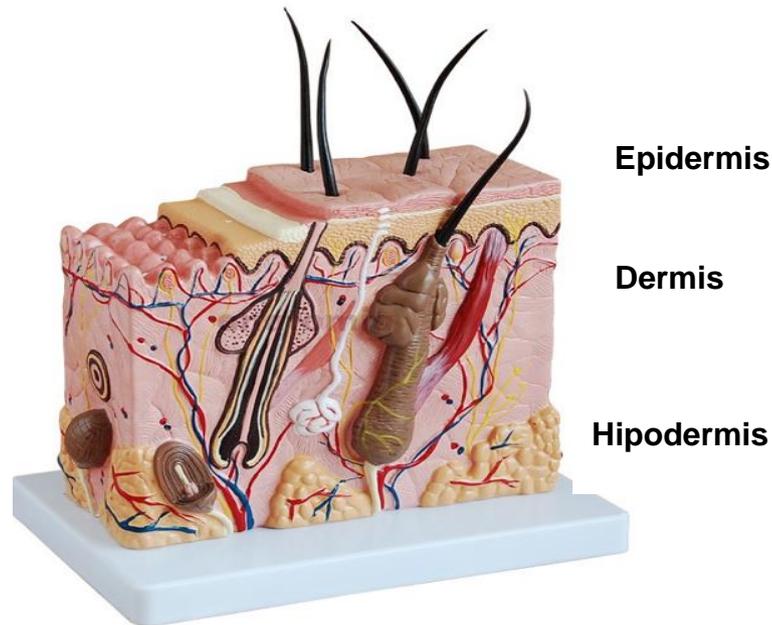


Figura 1. Capas de la piel

Fuente: <http://www.biyolojihocasi.com>

1.3 Epidermis

Forma un epitelio plano pluriestratificado y queratinizado, constituida en un 90% por queratinocitos, alberga melanocitos(células productoras de melanina), células dendríticas de Langerhans (células del sistema inmune), células de Merkel (receptores sensoriales) y fibras nerviosas que han demostrado inervar todas las capas de la epidermis²¹.

Las células nucleadas forman tres capas, que representan los distintos estadios de maduración del queratinocito ; el estrato basal (donde se localizan las células madre), el estrato espinoso, y el estrato granuloso²²(figura 2).

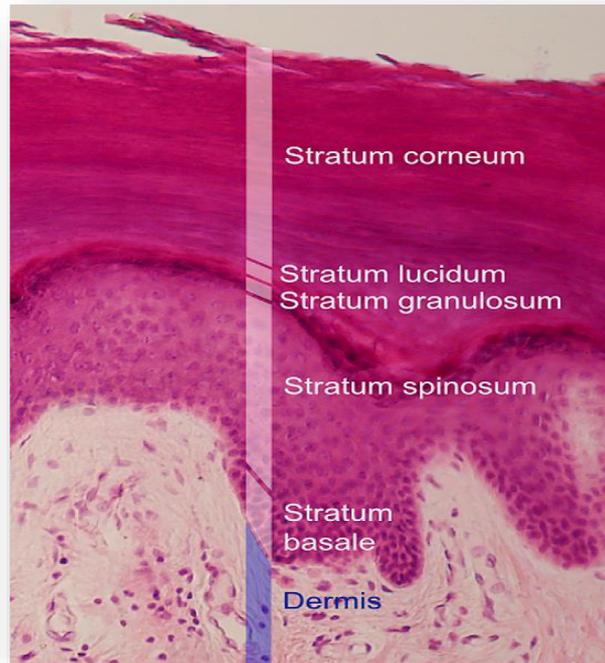


Figura 2. Sección histológica de la epidermis. 5 estratos de superficial a profundo: córneo, lucido, granuloso, espinoso y basal.

Fuente: <https://www.iqb.es/dermatologia/atlas/anatomia/anatomia08.htm>

Los queratinocitos elaboran queratina epidérmica, factores hidratantes (NMF), y los lípidos de la barrera, que se elaboran como cuerpos lamelares epidérmicos que contienen péptidos antimicrobianos, que funcionan como base de permeabilidad y barreras antimicrobiana²³.

No contiene vasos sanguíneos y, por lo tanto, las células obtienen el oxígeno difundido del aire circundante. La capa acelular más externa se conoce como el estrato córneo y está compuesto principalmente por corneocitos, que son queratinocitos, células que se encuentran en su última etapa de diferenciación, normalmente se regenera cada 4 a 6 semanas.

La epidermis libera una gran variedad de quimiocinas y factores de crecimiento, para lograr la comunicación celular dentro de la propia epidermis y con las células dérmicas (fibroblastos, mastocitos). Esta capa también estimula la producción de la matriz dérmica.

La membrana basal que separa la epidermis de la dermis papilar es de 0,5-1 μm , de estructura fibrilar compleja, formada por colágeno tipo VII, y ondulada para permitir que haya una mayor superficie de contacto entre ambas capas²⁴. Estas células tienen capacidad proliferativa y van emigrando hacia capas altas para terminar con la queratinización y apoptosis en la capa córnea.

Las células madre de la epidermis han sido un constante objeto de investigación por más de cuarenta años.^{25,26,27}

1.4 Dermis

La dermis es la segunda capa de la piel, es gruesa, fibrosa y elástica, hecha principalmente de colágeno, elastina y fibrilina. Le da a la piel su flexibilidad y el soporte de estructuras vasculares y linfáticas, además, contiene receptores sensoriales, glándulas sebáceas y sudoríparas y folículos pilosos.

La dermis se divide principalmente en dos capas:

La dermis Papilar o superficial, formada por tejido conectivo laxo con finas fibrillas de colágeno y fibras elásticas delgadas que se estiran perpendicularmente a la unión dermoepidérmica.

La Dermis reticular o profunda, que muestra una densa matriz de tejido conectivo con haces gruesos y orientados regularmente, dando una consistencia

elástica y resistente. Además podemos encontrar fibras musculares lisas que corresponden al *músculo erector pili*²⁴.

La célula esencial de la dermis son fibroblastos, que poseen la capacidad de fabricar las proteínas estructurales extracelulares: el colágeno (95%), la elastina (2%), así como los glicosaminoglicanos, el ácido hialurónico, que son los principales componentes de retención de agua de la dermis. Todos estos compuestos, se conocen como la matriz extracelular (MEC). Forma un depósito de agua, electrolitos y sangre. Posee macrófagos y mastocitos, células trascendentales en la respuesta inmune y alérgica.

Las originarias informaciones sobre la dermis, que la definían simplemente como un asiento estructural, han sido completamente descartadas, y la importancia biológica de la MEC, así como las fibras del tejido conectivo, en la cicatrización de la piel, están plenamente aceptadas hoy en día²⁸.

1.4.1 Matriz extracelular

Podemos definirla como una red macromolecular tridimensional no celular compuesta por colágenos, proteoglicanos / glucosaminoglucanos, elastina, fibronectina, lamininas y varias otras glucoproteínas²⁹. La MEC (figura 3) regula procesos fundamentales como la proliferación celular, adhesión, migración, diferenciación y homeostasis tisular.

Es una red estructural altamente dinámica que se somete continuamente a remodelaciones mediadas por varias enzimas que degradan la matriz durante condiciones normales y patológicas³⁰.

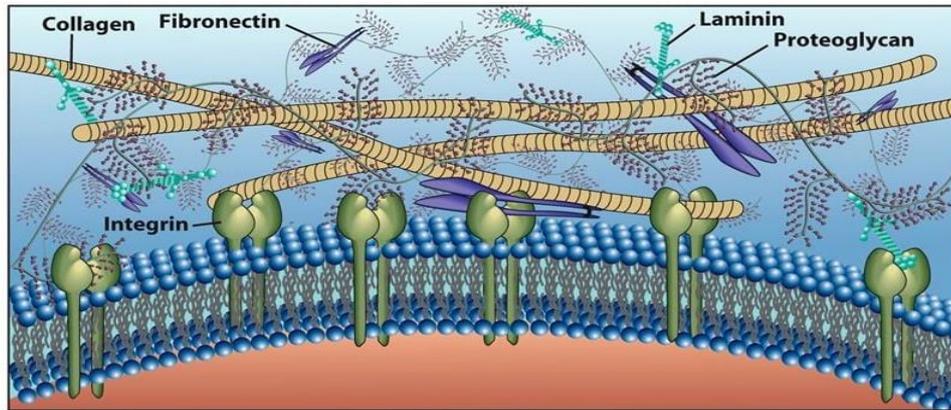


Figura3. Representación esquemática ECM (John Wiley and Sons 2008)

Fuente: <https://anmdecolombia.org.co/matriz-extracelular>

1.4.2 Colágeno

El colágeno es la proteínas más abundantes en los mamíferos aproximadamente un 30% de la masa proteica total. Es el principal componente de la matriz extracelular.

Participan en las interacciones célula-matriz a través de varias familias de receptores .Son ligandos de integrinas, receptores de adhesión celular que carecen de actividades de quinasas intrínseca, inmunoglobulinas o las anexinas..

El colágeno es sintetizado principalmente por fibroblastos, miofibroblastos, osteoblastos y condrocitos. Ciertas moléculas de colágeno pueden ser igualmente sintetizadas por distintos tipos celulares tales como las células epiteliales.

Décadas de investigación han descubierto 28 tipos diferentes de colágeno, el más frecuente es el tipo I, que abunda en huesos, cartílago y piel, y que corresponde al 90 % de todo el colágeno corporal. El tipo II, se localiza en el cartílago hialino, el III predomina en la piel y en los vasos sanguíneos y el tipo IV que lo encontramos en las membranas basales.

En las moléculas de colágeno abunda el aminoácido glicina, y otros menos comunes como la prolina e hidroxiprolina y pueden organizarse estableciendo fibras, mallas o especializarse en formar uniones entre moléculas obedeciendo a la composición química de sus subunidades α y de los tipos de subunidades que lo forman.

El colágeno es degradado por las metaloproteinasas de matriz (MMP) que son endopeptidasas dependientes de zinc que participan en procesos fisiológicos de desarrollo y de reparación de tejidos o patológicos como la tumorigénesis³¹.

1.4.3 Elastina

Aparece como un elemento de las denominadas fibras elásticas, las cuales podemos definir las como agregados insolubles de proteínas.

Se presentan unidas entre sí, mediante enlaces covalentes entre los aminoácidos de lisina, formando α -hélices, que son los puntos donde ocurre el ensamblaje de dos moléculas de elastina contiguas. Además de la elastina, que representa el 90 %, las fibras elásticas, están formadas por microfibrillas de fibrilina y por otras glucoproteínas en menor proporción.

Su función es aportar sostén a los tejidos y regular la actividad la actividad de los factores de crecimiento TGF- β mediado por la fibrilina.

1.4.4 Glucosaminoglucanos

Los glicosaminoglucanos (GAG), también llamados mucopolisacáridos, desempeñan papeles clave en prácticamente todas las respuestas biológicas a través de su interacción con las proteínas. Un desafío importante para comprender estos roles, es su enorme complejidad estructural. Son biopolímeros no ramificados, compuestos por repeticiones de parejas de monosacáridos, donde uno de los azúcares posee un grupo amino (N-acetilgalactosamina o N-acetilglucosamina) y el otro es habitualmente la galactosa o el ácido glucurónico. Estos azúcares poseen grupos carboxilo (COO⁻) y grupos sulfatos (SO₃⁻), cuya densidad de carga negativas admite una fuerte y cuantiosa asociación con moléculas de agua, contribuyendo a una gran hidratación de la matriz extracelular³². Esto va a permitir que los tejidos resistan fuertes presiones mecánicas y favorece una alta tasa de difusión de sustancias entre las células³³.

Los tipos más comunes de glucosaminoglucanos son el ácido hialurónico (AH) y los glucosaminoglucanos sulfatados: condroitín sulfato, dermatán sulfato, queratán sulfato y heparán sulfato. (figura 4).

Los encontramos formando parte de los tejidos conectivos animales donde atraen y retienen agua e iones que posean cargas positivas.

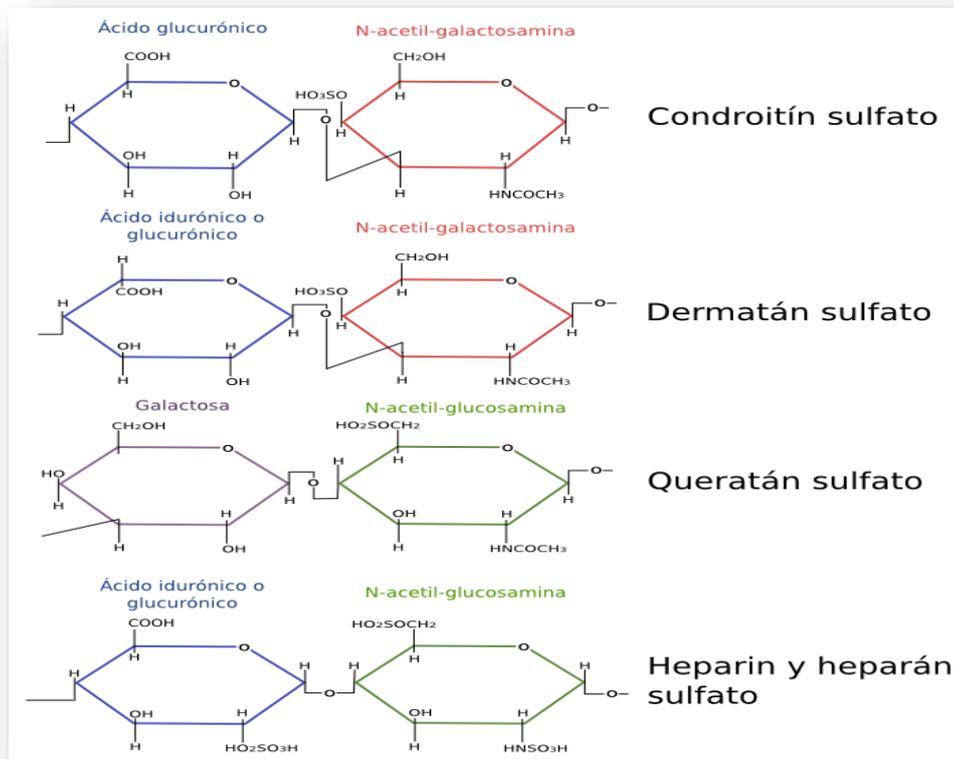


Figura 4. Composición de los principales glicosaminoglicanos (Modificado de Lamoureux, 2007)

Fuente: <http://biologiadelmaestriaenbe.blogspot.com/>

El **ácido hialurónico** o **hialuronano** es un tipo especial de glicosaminoglicano no proteico, que no forma enlaces covalentes con otras moléculas de la matriz extracelular. Es sintetizado por unas enzimas localizadas en la membrana plasmática de fibroblastos, sinoviocitos o condrocitos y no posee grupos sulfatos.

Está compuesto por el ácido D-glucurónico y la N-acetil-D-glucosamina, que pueden llegar hasta las 20.000 repeticiones de parejas.

Lo encontramos asociado con las moléculas de colágeno o a proteoglicanos, concediendo a la matriz extracelular, elasticidad, resistencia y lubricación. Su función es muy importante durante la embriogénesis o en lugares del organismo donde se produce una fuerte proliferación, puesto que facilita el desplazamiento celular. Es una molécula grande , poco flexible, que encontramos en aquellos lugares donde se produce una fuerte fricción como en el cartílago de las articulaciones³⁴.

1.5 Hipodermis

La hipodermis o tejido celular subcutáneo (TCS) es la capa más profunda de la piel, se compone principalmente de tejido conjuntivo adiposo. Es responsable del aislamiento térmico (termorregulación), la reserva nutritiva, y de dar soporte a las estructuras superiores³⁵.

1.6 Proceso de Cicatrización

Las heridas se definen como una solución de continuidad de la piel o tejidos adyacentes, originados a partir de daño físico, químico o térmico³⁶. El manejo clínico de estas heridas consiste en un desafío, sobre todo en lesiones crónicas como , úlceras, lesiones profundas o extensas³⁷.

La cicatrización se trata un proceso dinámico, un evento fisiológico iniciado por una señalización de factores bioquímicos y mediadores inflamatorios que se desencadenan por una solución de continuidad³⁸. Trata de conseguir la

sustitución del tejido dañado, por un tejido estructuralmente semejante, con una restitución arquitectónica del mismo³⁹o, cuando no es posible, da lugar a una sustitución por tejido de relleno (fibrosis), que no tiene las mismas características funcionales del que se ha suplantado. En algunos casos solo válido para reducir la extensión del área necrótica o dañada⁴⁰.

Implica cuatro etapas interrelacionadas y superpuestas, cuyo objetivo final es el mantenimiento de la integridad celular⁴¹. Cuando se desarrolla de una forma ordenada, la interacción entre los factores contribuye a la determinación de la calidad del proceso de cicatrización⁴². En esta atmósfera, la matriz extracelular, forma una guía en la reparación, regulando el comportamiento celular en el área deteriorada para promover la reconstrucción del tejido⁴³.

1.6.1 Tipos de Cicatrización

Cicatrización primaria o de primera intención, cuando las heridas no presentan pérdida de tejido, los bordes son aproximados quirúrgicamente y la restauración se desarrolla dentro del tiempo fisiológico esperado⁴⁴.

Cicatrización por segunda intención, se da en las heridas que presenta una pérdida de tejido que hace que los bordes no contacten. En este caso, se origina un fenómeno de contracción y epitelización. Varios factores contribuyen a retrasar la cicatrización, pudiendo presentar inflamación, edema, contracciones, cicatrices hipertróficas y compromiso estético y funcional⁴⁵.

Cicatrización por tercera intención es la que precisa de una intervención quirúrgica, que tiene por objeto el control o prevención de infección o mejorar el resultado estético y / o funcional de la herida⁴⁶.

Son muchas las variables, tanto intrínsecas como extrínsecas, las que van a modificar e influenciar el proceso de la cicatrización.

1.6.2 Fases de cicatrización

La reparación de las heridas se divide en cuatro fases (figura 5): Coagulación, Inflamación, fase proliferativa y la fase remodelativa⁴⁷. Las etapas son comunes a todos los tipos de heridas, pero la diferencia radica en la duración de cada fase según las distintas etiologías.

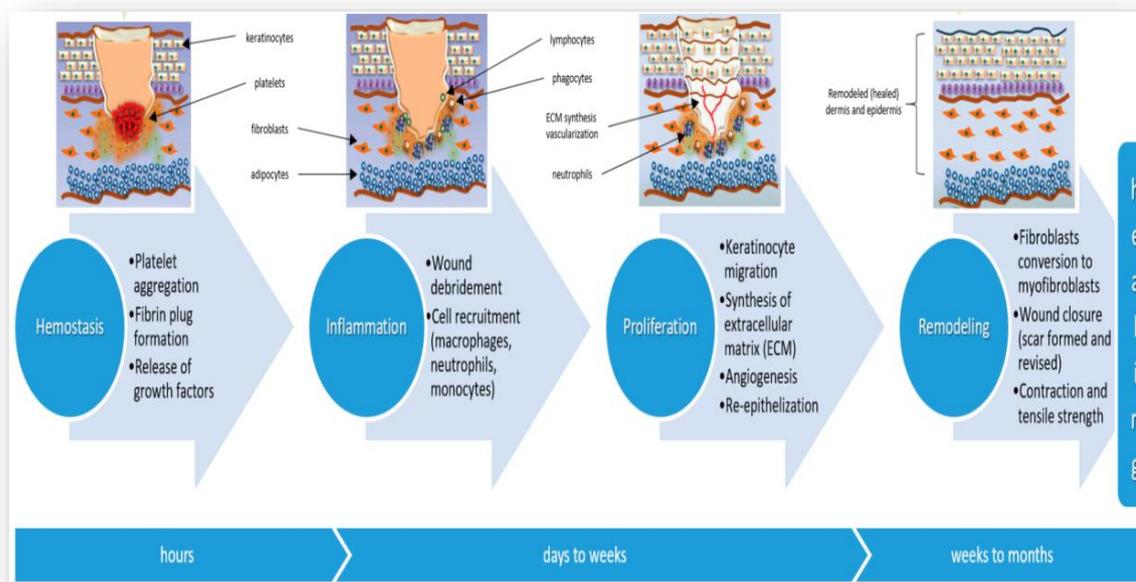


Figura 5. Etapas de la cicatrización. Hemostasia, inflamación, proliferación y remodelado.

Fuente: <https://www.mdpi.com/1420-3049/22/10/1743/htm>

1.6.3 Fase de coagulación

La hemostasia ocurre en segundos a minutos desde la lesión. La hemorragia expone a las plaquetas al subendotelio trombogénico de los vasos y éstas, interactúan con el receptor de GpIIb-IIIa sobre el colágeno para activarse y formar un coágulo inicial que facilita la cascada de coagulación, controla el sangrado y proporciona una protección provisional⁴⁸. Las plaquetas sintetizan distintos factores de crecimiento como PDGF (*Factor de crecimiento derivado de las plaquetas*) y TGFβ (*Factor de crecimiento transformante beta*), implicados en la quimiotaxis de macrófagos y fibroblastos⁴⁹.

Otras sustancias activas como las catecolaminas y la serotonina ejercen su acción en receptores del endotelio para promover la vasoconstricción inicial.

Las plaquetas activadas liberan sus gránulos que contienen altas cantidades de AH en su citoplasma, lo que resultan en un aumento de las concentraciones de éste, en el lecho de la herida⁵⁰ para construir una matriz primaria que permite la migración de fibroblastos, células endoteliales y queratinocitos. Conjuntamente almacenan citocinas y factores de crecimiento que serán utilizados en las fases de inflamación y ayudaran en el proceso de granulación⁵¹.

Cuando se alcanza la hemostasia y se confirma una respuesta inmune adecuada, la herida aguda evoluciona hacia la reparación del tejido⁵².

1.6.4 Fase inflamatoria o exudativa

La respuesta inflamatoria está directamente relacionada con la intensidad de la agresión que sufre el organismo, así como de la profundidad y el lugar de la herida.

Este proceso se inicia inmediatamente después de la lesión y dura hasta cuatro días, siendo fundamental para la etapa subsiguiente de granulación⁵³. Esta fase se distingue por unos signos locales típicos como dolor, calor, rubor y tumefacción, todos ellos mediados por el aumento de la permeabilidad vascular, la acumulación de líquido plasmático y la migración celular de leucocitos, linfocitos y eritrocitos hacia el lecho de la herida.

Como respuesta a la agresión del tejido, ocurre la liberación local de histamina, serotonina y bradicinina que causan una importante vasodilatación con un aumento del flujo sanguíneo local⁴⁶.

Los neutrófilos son las primeras células en aparecer y comienzan la lisis de la matriz por medio de proteasas, hidrolasas y lisozimas, favorecen la fagocitosis de microorganismos y cuerpos extraños y activan a los fibroblastos y los queratinocitos por medio de diferentes citocinas.

Entre 48 y 96 horas después, atraídos por los subproductos de la apoptosis de PMN, los macrófagos, migran al lugar de la herida para desempeñar funciones vitales en la cicatrización como es el desbridamiento del tejido desvitalizado y la fagocitosis bacteriana, al tiempo que secretan nuevas citocinas y factores de crecimiento, además de estimular la formación de los vasos, la fibroplasia y la síntesis de MEC⁵⁴.

El factor de crecimiento derivado de plaquetas es liberado por los macrófagos que estimula la quimiotaxis y proliferación de fibroblastos y células musculares lisas. Linfocitos T que migran hacia la herida secretan un factor de crecimiento epidérmico de unión a heparina y un factor de crecimiento básico de fibroblastos, que interactúan con los procesos y promueven la curación de heridas.

Tras la ruptura del epitelio, los fragmentos de AH de alto peso molecular son sintetizados a partir de las plaquetas⁵⁵. Estos fragmentos se vinculan con el proceso del fibrinógeno para iniciar la cascada de coagulación extrínseca⁵⁶. Las propiedades hidrófilas del AH causan hinchazón del tejido perilesional y se crea una estructura porosa que permite la migración celular hacia el lugar de la lesión^{55,57}.

En esta fase, el AH desempeña diversas funciones tales como: el suministro de una red estructural, por medio de la interacción con el coágulo de fibrina, que modula la infiltración de células inflamatorias y formación de MEC⁵⁸, lo que estimula la migración de macrófagos y granulocitos a los tejidos dañados, con un impacto significativo en la fagocitosis⁵⁹.

1.6.5 Fase proliferativa o de granulación

La fase de proliferación se desarrolla durante los siguientes 3-5 días después de la lesión y puede durar hasta 3 semanas. Se compone de cuatro etapas específicas: angiogénesis, formación de tejido de granulación, fibrogénesis y repitelización de la herida⁶⁰.

Las consecuencias de la fase proliferativa son vitales para la cicatrización, por establecer la estructura necesaria para mantener y reconstruir el tejido

dañado⁶¹. El microambiente formado por citocinas, factores de crecimiento junto a la isquemia local, juega un papel fundamental en el comportamiento celular, ya que este área pericelular desempeña una acción importante en la regulación de la concentración de factores de crecimiento, aporte de nutrientes y comunicación celular ⁶¹ que sirven para modificar la matriz extracelular "provisional" sobre la cual se formará el tejido de granulación⁶².

Como respuesta a la hipoxia⁶³ y al aumento de las demandas metabólicas celulares, ocurre la formación de nuevos vasos sanguíneos en el interior del tejido de granulación ⁶⁴.

La angiogénesis es un procedimiento dinámico, regulado por la MEC y otros factores como son el VEGF (*Factor de crecimiento vascular endotelial*) y la angiopoyetina. Los oligosacáridos del AH, producidos por la hialuronidasa, pueden inducir la angiogénesis^{65,10}. Al cabo de 1 ó 2 días después del cese de los estímulos angiopoyéticos, los capilares sufren una regresión y destrucción por los macrófagos.

Podemos definir a esta fase por la formación de tejido de granulación consistente en una combinación de elementos celulares, fibroblastos y células inflamatorias, que es rico en vasos incrustados en una MEC de colágeno, fibronectina y ácido hialurónico.

En las fases de granulación y epitelización el AH está involucrado en la proliferación y migración de las células endoteliales, en la creación de la matriz para el tejido de granulación y en la síntesis de colágeno, haciendo que se complete la organización de ese tejido ⁶⁶.

El AH estimula el metabolismo con un aumento posterior de fibras de colágeno y deposición de sustancia ⁶⁷. Lo que favorece la formación de tejidos blandos con buena elasticidad y una mayor densidad microvascular⁶⁸. Establece una estructura temporal que facilita la difusión de nutrientes y suministros, lo que ayuda a depurar de la herida de residuos de productos del metabolismo celular y la fagocitosis ⁶⁹.

En la etapa de fibrogénesis , los fibroblastos son quimioatraídos por PDGF liberado durante la fase inflamatoria, migran hacia la herida y se diferencian formando colágeno y sustancia fundamental (fibrina y fibronectina)⁷⁰ . No hay síntesis de elastina, a diferencia de la piel sana., con lo cual carece de elasticidad. Además, participan en la síntesis de los componentes de la matriz extracelular permitiendo y promoviendo la formación del tejido de granulación, la epitelización y mantenimiento de la integridad del tejido conectivo⁷¹.

Los fibroblastos se van transformar en miofibroblastos que se caracterizan por poseer músculo liso que va a contribuir a la contracción de la herida. Esta fase tiene más relevancia en heridas que cicatrizan por segunda intención.

Durante la epitelización tiene lugar la proliferación y migración de queratinocitos desde los bordes de la herida, bulbos de folículos pilosos y glándulas apocrinas. Este fenómeno está regulado por IGF-1, KGF, TGF-B y metaloproteinasas que facilitan la migración. La división de las células periféricas se produce entre 48 y 72 h, lo que resulta en una delgada capa de células epiteliales que une la herida. Un ambiente húmedo es muy importante durante esta etapa, ya que acelera este proceso; las células epiteliales finalmente se diferencian hasta que

formen una capa continua de la epidermis. Se inhiben por contacto con otros queratinocitos.

Determina la recuperación de las funciones de protección y mecánica de la epidermis: regulación de la temperatura local, defensa contra microorganismos y barrera hídrica que se comprometieron en la vigencia de la lesión²³.

1.6.6 Fase de Remodelación

La fase de remodelación y maduración dura entre 2 semanas y un año, el principal evento fisiológico es la reepitelización y el aumento de la fuerza tensil.

El depósito de colágeno en los tejidos consiste en un balance entre la colagenogénesis y la colagenolisis y tiene por objeto restaurar y sustituir la estructura del tejido dañado con formación de tejido cicatricial ⁷². La síntesis de colágeno está regulada por factores como IFN- γ , TNF- α y TGF β y el propio colágeno. Y en la degradación y reorientación influyen enzimas como las metaloproteasas y la hialuronidasa.. Los fibroblastos son esenciales para la remodelación de la cicatriz, ya que contiene colágeno, proteoglicanos y fiibronectina⁷³.

El proceso de apoptosis de células fibroblásticas, macrófagos y células endoteliales, lleva a la formación de tejido de cicatrización relativamente acelular cuya fuerza elástica es compatible con la piel. Este último proceso se denomina fibroplasia, siendo necesaria la ocurrencia simultánea de la angiogénesis para que la sustitución del tejido sea efectiva⁷⁴.

La remodelación es un proceso dinámico, donde ocurre la degradación progresiva del colágeno tipo III, un suave colágeno gelatinoso, que se transforma

en colágeno tipo I, para que ocurra la reestructuración de las fibras⁷⁵. Esta fase influye en el desenlace clínico de la herida y factores como la nutrición, la oxigenación y las comorbilidades del paciente pueden interferir en el proceso⁷⁶.

Este es un proceso imperfecto y el colágeno de la cicatriz nunca alcanza el patrón de organización normal, por lo que la fuerza tensil nunca es igual a la piel indemne. El colágeno se estabiliza a los 21 días con un 20% de fuerza tensil, llegando a alcanzar el 80% aproximadamente al año.

La diferenciación del colágeno es un proceso dinámico y aunque tiene lugar predominantemente durante la fase de maduración, puede continuar siendo remodelado indefinidamente. El tejido se realinea a lo largo de las líneas de tensión cutánea.

El exceso de fibrosis en esta etapa, da una cicatrización hipertrófica (con la cicatriz limitada al área de la herida) o formación de queloides (con la cicatriz extendiéndose más allá del borde de la herida). La dificultad en tratamiento de ambas entidades ha gastado millones de dólares de investigación sobre la prevención de cicatrices⁷⁷.

1.7 Cicatrización fetal

Esta ampliamente demostrado que el feto se cura sin formación de cicatrices y con una reepitelización más rápida que el adulto. Actualmente existe una extensa literatura que describe este fenómeno^{78,79} que reportó por primera vez Rowlatt⁸⁰ en 1979. Esta cicatrización de heridas sin fibrosis se mantiene hasta finales del

segundo trimestre, momento en el cual la cicatrización de heridas se vuelve como la de un adulto.

El líquido amniótico y los tejidos embrionarios son ricos en AH. En muchos sentidos, los pasos progresivos de la cicatrización de heridas recapitulan el desarrollo embriogénico. Las altas concentraciones de AH en las primeras fases de la reparación de heridas son paralelas al medio de desarrollo fetal rico en AH. Esto limita la deposición de la MEC y del colágeno en particular. El AH retrasa la diferenciación de tejidos durante la embriogénesis, evitando así la fibrosis y la formación de cicatrices en el feto y en las primeras fases de la cicatrización de heridas. La aplicación de líquido amniótico en heridas experimentales en animales facilita el cierre temprano de la herida y disminuye los niveles de cicatrización⁸¹.

Un ensayo recientemente desarrollado para determinar los niveles de ácido hialurónico en el líquido de la herida fetal y adulta demostró que en la herida en adultos tuvo un rápido aumento en el ácido hialurónico, que alcanzó su punto máximo a los 3 días y disminuyó a 0 en 7 días. En contraste, los niveles de ácido hialurónico en el fluido de la herida fetal aumentaron rápidamente y permanecieron significativamente elevados durante 3 semanas. Esta presencia prolongada de ácido hialurónico en la matriz de heridas fetales crea un ambiente de herida 'permissivo' que promueve el movimiento y la proliferación de fibroblastos fetales e inhibe la citodiferenciación. Tal entorno de matriz promueve la curación por regeneración en lugar de cicatrización⁸².

West et al demostraron que la ausencia de hialuronano en el proceso de curación de heridas conllevaba a una fibrosis de la misma⁸².

El AH inhibe la agregación plaquetaria y la liberación de citocinas, produciendo una mínima respuesta inflamatoria, con menor proporción de monocitos y macrófagos.

Los fibroblastos fetales tienen mayor densidad de receptores celulares de superficie para AH. Además se ha estudiado que valores de TGF- β 3, son prominentes durante la embriogénesis y el desarrollo temprano, también está regulado por HA y ayudan a una menor fibrosis cicatricial.

La presencia de colágeno tipo III temprano en la etapa fibrótica de la cicatrización de heridas, se asemeja al perfil de colágeno del feto. La presencia de AH y la persistencia del tipo III en el entorno fetal pueden explicar la cicatrización sin cicatrices que se desarrolla allí⁸³.

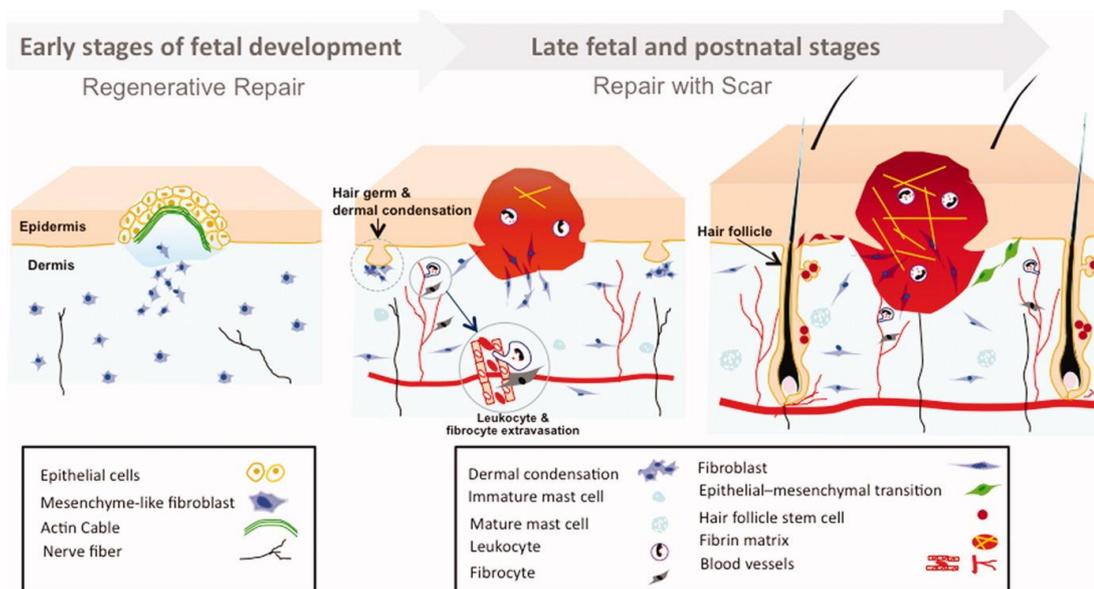


Figura 6. Cicatrización fetal versus cicatrización adulta. A nivel fetal se forma un coagulo de actina que contrae la herida⁸⁴.

1.8 Ácido hialurónico y cicatrización

El AH desempeña un papel clave en cada fase de la cicatrización, además de regular la organización y el metabolismo de la matriz extracelular⁸⁵.

Actúa en diversas funciones hidrodinámicas tisulares, tales como: la migración celular⁸, la proliferación de fibroblastos y la maduración de las fibras⁸⁶, diferenciación y conexión celular durante el proceso de reparación de heridas^{87,88}, morfogénesis celular y modulación de la angiogénesis^{89,90}. En la respuesta inflamatoria estimula la quimiotaxis^{91,92} y actúa como antioxidante⁹³. Muchos de estos procesos son esenciales para la cicatrización⁹⁴.

Esa regeneración de tejido requiere de un microambiente adecuado, para reponer las características originales de la estructura celular y obtener la mejor calidad cicatricial del tejido⁹⁵.

En la fase de coagulación, el AH aumenta su síntesis y disminuye su degradación, acumulándose un AH de cadena larga, elaborado por las plaquetas⁹⁶, con capacidad de ligarse al fibrinógeno y así favorecer la formación del coágulo inicial⁹⁷. (Tabla 1)

Este AH de cadena larga crea edema para permitir la infiltración celular y abre espacios tisulares, facilitando la llegada de los PMN a la herida, para la eliminación de microorganismos y de restos tisulares.

Posee un efecto inflamatorio inicial, al elevar las IL-1, IL-8, y el TNF α por medio de un mecanismo mediado por el receptor CD44 de macrófagos. Facilita la adhesión primaria de los linfocitos activados con citocinas al endotelio⁹⁸.

Paradójicamente también participa como moderador de la respuesta inflamatoria, estabilizando la matriz del tejido de granulación.

FASE INFLAMATORIA
Se une al fibrinógeno para iniciar la cascada de coagulación
Crea edema para permitir la infiltración celular
Favorece la migración de células inflamatorias
Induce producción de citocinas proinflamatorias
Efecto protector frente a los radicales libres de oxígeno
Moderador de la respuesta inflamatoria a través de las proteasas
Efecto Bacteriostático y antiadherente bacteriano
FASE PROLIFERATIVA
Quimiotaxis de fibroblastos al sitio de la herida
Rellena las lagunas de la MEC recién formada, creando amortiguación y organización estructural del tejido de granulación
Estimula la angiogénesis
Promueve la migración y proliferación de los queratinocitos
FASE DE REMODELACIÓN
Contribuye a la cicatrización normal.
Previene el acúmulo de colágeno patológico

Tabla 1. Funciones del AH en la cicatrización. Fuente: Modificado Frenkel 2014⁹⁹

Debido a sus características físico-químicas de largas cadenas de polímeros polianiónicos, preserva al tejido de granulación frente al daño de los radicales libres de oxígeno¹⁰⁰. Estudios clínicos, han demostrado su acción antioxidante al aumentar la protección de la piel en relación a la exposición a los rayos ultravioleta y potenciar la capacidad de reparación del tejido¹⁰¹.

Se ha observado que posee además un mecanismo modulador de la respuesta inflamatoria, mediante la unión del HA a la proteína TSG-6 (Tehyaladherin TNF-stimulated gene-6) secretada por fibroblastos, formando un complejo estable con el inhibidor de las proteinasas, tendría un efecto sinérgico en la cascada de las metaloproteinas¹⁰², por lo tanto, se trata de una proteína compleja que trabaja como un circuito de retroalimentación negativa para moderar la inflamación mediante la prevención de degradación de las proteínas de la matriz extracelular¹⁰¹ y así, estabilizar el tejido de granulación para avanzar en la cicatrización.

Estudios en ratones con exceso de IL-1 proinflamatoria, se ha visto que la administración de TSG-6 reduce la inflamación, comparable con corticoides como la dexametasona¹⁰². También, se ha estudiado su papel antiinflamatorio en estudios experimentales en patologías como la cistitis intersticial¹⁰³. ICAM-1 funciona como un receptor de superficie celular principal de HA, que podría explicar mejor los efectos biológicos del ácido hialurónico. ICAM-1 es de gran importancia para la respuesta inmune, la inflamación y la cicatrización de heridas. El nivel de ICAM-1 es bajo, pero se observa un aumento en muchas condiciones patológicas. La expresión de ICAM-1 es inducida por citoquinas, como IL-1 y TNF- α ¹⁰⁴. El HA se une a las células endoteliales que expresan ICAM-1 e inhibe la adherencia de los complejos

inmunes a las células polimorfonucleares, la migración de leucocitos y la agregación^{104,105}. e inhibe a los macrófagos¹⁰⁶

El AH muestra un efecto analgésico y antiinflamatorio ya que cubre la superficie de los receptores del dolor bloqueando los canales de sodio y actúa sobre los radicales libres de oxígeno que pueden aparecer por desequilibrios metabólicos como los observados en el envejecimiento o en enfermedades degenerativas articulares^{107,108}

El tejido de granulación temprano, es rico en AH, facilitando la migración celular dentro de esta matriz provisional, por medio de receptores de superficie incluyendo CD44, I-CAM-1, RHAMM, este último es un receptor proteincinasa asociado a aparato de locomoción^{109,110}. El HA es sintetizado en la membrana plasmática y liberado directamente al espacio extracelular proporcionando un ambiente hidratado para la síntesis y desprendimiento de los fibroblastos y favorecer su proliferación⁹⁹.

Respecto a su papel en la angiogénesis se ha visto, que el AH de alto peso molecular podría inhibirla a nivel de la matriz extracelular^{111,112,113}, mientras que el AH de bajo peso molecular promueve la angiogénesis en modelos experimentales^{114,115,116} y mejorara la producción de colágeno por las células endoteliales uniéndose al receptor I-CAM1¹¹⁷.

En vivo, coincide la angiogénesis con un aumento de la hialuronidasa y la degradación de la matriz de hialuronato¹¹¹ al igual que ocurre en la vida fetal que además conduce a la fibroplasia, coincidiendo con la hipótesis de que oligosacáridos de HA favorecen la angiogénesis¹¹⁴.

El AH tiene funciones importantes en la epitelización¹¹⁸, en la epidermis forma parte integrante de la MEC, se encuentra en una alta concentración a nivel de la membrana basal, donde se encuentran los proqueratinocitos. El AH es capaz de estimular su proliferación mediante el receptor CD44, además de mantener un espacio extravascular que hidrata y facilita el paso de nutrientes y por ende, la migración de éstos¹¹⁹. Se va visto que existe una sobreexpresión del receptor CD44 a nivel de los bordes de la herida y en la matriz del tejido conectivo¹²⁰.

Estudios experimentales donde los queratinocitos no expresaban receptor CD44, se observaron acumulo de HA defectuoso en la dermis, con una proliferación anormal de queratinocitos, alteración en la reepitelización y una disminución de la elasticidad cutánea ¹²¹.

Otra función que desempeña, es la preservación del agua intracelular, las heridas cicatrizan mejor en ambiente húmedo¹²². Este ambiente impide la apoptosis por deshidratación tisular, beneficia la angiogénesis, la epitelización y la granulación, favorece la remoción de tejido necrótico o desvitalizado, reduce la ocurrencia de infecciones, controla la pérdida excesiva de líquidos, y minimiza los traumatismos locales causados por el procedimiento de sustitución cutánea⁵⁴. Este entorno de la matriz promueve la cura por regeneración y no por la formación de cicatrices ^{123,79}.

Debido a sus propiedades higroscópicas, reológicas y viscoelásticas, el AH interfiere en el comportamiento celular, que afectan al macro y microambiente alrededor de las células, a través de interacciones con las mismas y otros componentes de la matriz extracelular, repercutiendo positivamente en la cicatrización ^{10,125}.

En la fase de remodelación, el AH reduce el depósito de colágeno y contribuye a una cicatrización normal, evitando la formación de cicatrices patológicas^{126,127,128}.

Se ha visto que el AH de alto peso molecular tiene propiedades antifibróticas y antiangiogénicas¹⁰⁶. El tratamiento de heridas agudas con AH tópico, disminuye el número de monocitos y macrófagos en la fase inflamatoria temprana de la cicatrización, semejante a lo que ocurre en la vida fetal, que conllevaría reducción en la proliferación crónica fibrótica^{129,130}.

En las lesiones, se observa que, cuanto menor sea el tiempo en que transcurre la cicatrización, mayor es la probabilidad de reducción de la ocurrencia de cicatrices hipertróficas y, por consiguiente, la obtención de un mejor resultado estético y funcional, especialmente en el tejido facial o piel de regiones móviles como manos y articulaciones^{131,132,133}.

Frente a todo lo anterior, las formulaciones que contienen AH son empleadas para promover la cicatrización de lesiones agudas o crónicas¹³⁴ de diversas etiologías como: úlcera venosa^{13,135,136,9}, úlcera por presión¹³⁷, pie-diabético^{138,14,139}, dermatitis postradioterapia^{140,141}, quemaduras de de espesor parcial^{142,143}, y lesiones traumáticas¹⁴⁴ entre otras.

Estudios que evaluaron formulaciones tópicas que contenían AH demostraron que el producto favorece la cicatrización de las mismas en comparación con los tratamientos convencionales¹⁴⁵.

La aplicación tópica de AH reduce significativamente el tiempo de epitelización^{146,118,147} debido a la mayor producción de tejido de granulación,

deposición de colágeno y proliferación de fibroblastos, además del aumento de los vasos sanguíneos y linfáticos^{148,114}.

Debido a su excelente biocompatibilidad y biodegradabilidad, se trata de una sustancia fisiológicamente compatible¹⁴⁹, que se utiliza en forma de crema, gel, por medio de gasa impregnada, o en forma de matrices de dermis artificial¹⁵⁰.; para favorecer la cicatrización de la piel y mucosas¹⁵¹.

1.9 Plata y cicatrización

Los apósitos que contienen iones de plata son ampliamente utilizados para prevenir o tratar la infección en una gran variedad de heridas. Aunque se han manejado con mucha frecuencia en nuestra práctica clínica diaria, actualmente, algunas revisiones^{152,153} y estudios científicos¹⁵⁴ concluyen que no hay datos suficientes para demostrar que los apósitos de plata favorezcan aceleren la cicatrización, sobre todo en heridas agudas, no así en el uso de heridas crónicas.

Los bajos niveles de iones de plata son ineficaces y los altos niveles son citotóxico para las células, por lo tanto, la liberación de iones está optimizada para que sea efectiva como agente antibacteriano, pero no citotóxico para las células en proliferación.

La plata, es un antimicrobiano tópico, usado a lo largo de los años para el tratamiento las heridas¹⁵⁵. Difiere de los antibióticos, en que actúa, a bajas concentraciones, en múltiples niveles celulares, por lo que tiene un bajo riesgo de resistencia bacteriana¹⁵⁶ y no presenta resistencia cruzada con los antibióticos. El

objetivo del tratamiento con plata es reducir la carga microbiana, tratar la infección local y evitar una diseminación sistémica.

En los últimos años se ha experimentado un gran crecimiento en el desarrollo de apósitos que contienen plata elemental o un compuesto que libera plata, y nos aportan una disponibilidad continua que hace que la tasa de recambio de dichos apósitos sea menor y aporte una mayor calidad en el tratamiento de heridas a los pacientes. Además se ha mejorado el control del exudado, proporcionando un ambiente húmedo, que favoreciera el desbridamiento autolítico¹⁵⁷. En ocasiones, los apósitos de plata producen un efecto cosmético adverso con una tinción local o coloración de la piel que es inocua y habitualmente reversible^{158,159}.

En dos revisiones Cochrane y en un ensayo clínico aleatorizado y controlado se llegó a la conclusión de que estos apósitos de plata no mejoraban la velocidad de cicatrización^{153,154}. Sin embargo, no se siguieron rotundamente las indicaciones de uso o fueron usados durante tiempo prolongado. La experiencia clínica de muchos profesionales sanitarios y otras revisiones sistemáticas más recientes, han confirmado los efectos positivos de los apósitos de plata cuando se utilizan correctamente^{160,161}. Sobretodo destacando su uso en el tratamiento de heridas crónicas y frenando la inflamación crónica subyacente en ellas.

Estos apósitos están formados por iones de plata con carga positiva unidos a iones o moléculas con carga negativa. Cuando entran en contacto con el exudado de la herida o con otros medios acuosos, algunos de los iones de plata se separan del compuesto y actúan en múltiples lugares de las células microbianas, provocando finalmente su destrucción. Son activos frente a bacterias, virus y hongos¹⁶², incluidas muchas bacterias resistentes a los antibióticos, como *Staphylococcus*

Aureus resistente a meticilina (SARM) y los Enterococos resistentes a vancomicina (ERV)¹⁶³ y algunos anaerobios ^{164,165}. En las bacterias se unen a las membranas celulares provocando una lisis de la pared. Transportados al interior, alteran la función celular al unirse a proteínas e interfieren en la producción de ATP, la función enzimática y la replicación celular ^{166,167}.

Estudios en modelos experimentales han sugerido que la plata reduce la adherencia bacteriana, desestabiliza la matriz de las biofilms^{168,162}, y favorece la sensibilidad de las bacterias a los antibióticos¹⁶⁹.

Algunos estudios in vitro, han indicado que determinados apósitos de plata son citotóxicos para queratinocitos y fibroblastos, y retrasan la epitelización en modelos de heridas animales ¹⁷⁰. Se cree que es principalmente a través de daño a los grupos tioles (-SH) de proteínas y mediante la producción de ROS (radicales libres de oxígeno). Puede causar daño oxidativo al ADN, membranas celulares y proteínas, siendo el efecto neto la muerte celular por apoptosis o necrosis.¹⁷¹, pero el cuerpo humano es capaz mediante mecanismos biológicos defensivos de frenar este proceso, con lo cual no está plenamente aceptado su mecanismo en seres vivos.

Los efectos celulares de las nanopartículas de plata se producen como resultado de la liberación extracelular de Ag⁺ en la superficie celular, dando lugar a daño oxidativo a la membrana celular como muestra la (Fig. 7).

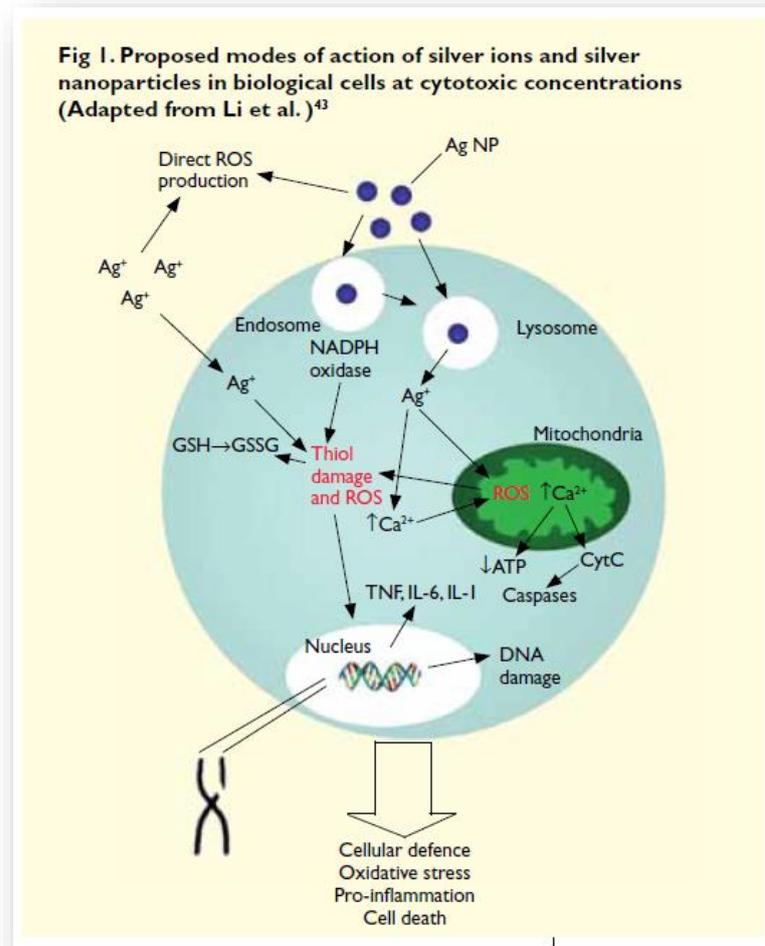


Figura 7. Citotoxicidad mediada por plata. Fuente: Wilkinson 2011¹⁷²

Penetran mediante mecanismos de pinocitosis o endocitosis y, una vez libre en el citoplasma, tienen el potencial de iniciar el estrés oxidativo a través de una serie de vías¹⁷². Puede dar como resultado la producción de radicales hidroxilo (OH), por interacción con peróxido de hidrógeno, interactuar directamente con NADPH oxidasa o interrumpir la producción de ATP mitocondrial, lo que resulta en la producción de ROS¹⁷³. El daño mitocondrial es seguido por liberación tanto de Ca^{2+} como de Citocromo C que activan la vía de las caspasas produciendo muerte celular por apoptosis.

No todas las formulaciones de plata poseen la misma toxicidad, el nitrato de plata reduce el 90% de la viabilidad celular tras 48h postexposición, a dosis de 10ng/ml, mientras que las nanopartículas de plata a concentraciones de 100 ng/ml no son citotóxicas, ya que no forman microgramos de iones y son partículas más estables¹⁷⁴. Actualmente se están desarrollando modificaciones en las formulaciones de plata, que hagan que este mismo material sea más biocompatible.

En cambio, otros autores han indicado que algunos preparados de plata no son citotóxicos y que la plata tiene acciones que facilitan la cicatrización ^{170,175} por mecanismos distintos al del control de la contaminación microbiana. Por ejemplo, se ha comprobado que el nitrato y la plata nanocristalina, ejercen efectos antiinflamatorios y favorecen la formación de vasos sanguíneos. ^{174,176,177}.

La plata actúa contra las bacterias absorbidas en el exudado, dentro del apósito, pero también es probable que se difunda en la herida¹⁷⁸ por interacción con iones cloruro y proteínas. Por lo tanto, la cantidad de plata liberada en una herida no guarda relación con la cantidad de plata contenida en el apósito¹⁷⁹. Experimentos de laboratorio han demostrado que concentraciones muy bajas en torno a una parte por millón (1 ppm) de iones de plata o menos, son eficaces contra las bacterias^{166,180} pero aun no está claro cómo el contenido y la disponibilidad de plata, se relacionan con el rendimiento clínico¹⁸¹.

Los apósitos de plata son especialmente adecuados en heridas con inflamación local, debido a los efectos antiinflamatorios observados en estudios experimentales¹⁸², en particular, en el efecto que tiene la plata de romper el ciclo de metaloproteínas que se presentan en muchas heridas crónicas. Algunos artículos han revelado que los apósitos de plata ejercen efectos positivos en los parámetros

de cicatrización de las heridas^{183,184,185}, mientras que otros no han detectado diferencias significativas con los fármacos de comparación¹⁸⁶.

Los apósitos antimicrobianos, pueden emplearse como barrera frente a las bacterias en heridas con alto riesgo de infección o reinfección¹⁶⁶, tanto agudas, como crónicas. Son ejemplos de tales heridas, las quemaduras, heridas quirúrgicas, úlceras por presión, zonas con hueso expuesto o heridas en pacientes diabéticos, inmunosuprimidos, isquémicos o con neoplasias¹⁷⁸.

Diversos estudios han revelado que los apósitos de plata se asocian a factores beneficiosos en lo que respecta al coste-efectividad, por ejemplo; en la reducción del tiempo transcurrido hasta la cicatrización de la herida^{187,188}, reducción de la estancia hospitalaria^{189,190}, disminución de la frecuencia de cambios de apósito^{183,191}, una menor necesidad de analgésicos durante el cambio del apósito¹⁹¹ o una menor tasa de bacteriemias por SARM¹⁹².

Apósitos de plata usados en heridas de zonas donantes, reflejan disparidad de resultados, mientras que en unos no se observaron diferencias significativas entre los dos grupos (plata, frente apósito de gasa) en el tiempo hasta la cicatrización, la tasa de infecciones o los resultados estéticos¹⁹³. En otros estudios el tiempo medio hasta una epitelización completa fue significativamente mayor¹⁹⁴.

Las nanopartículas de plata (Ag NPs) son utilizadas actualmente en diversos campos de la medicina¹⁹⁵, debido a sus propiedades fisicoquímicas, ópticas y de conductividad. Se han estudiado sus actividades biológicas, debido a que su principal factor limitante ha sido su toxicidad y la estabilidad química indeseable causada por su susceptibilidad a la oxidación.

Estudios previos han demostrado la síntesis de Ag NPs con diversos materiales de revestimiento, que alteran químicamente su superficie, como citrato, poli (N-vinilpirrolidona), poli (ácido acrílico) y colágeno ^{196,197} influyen fuertemente tanto la toxicidad como en las interacciones con los sistemas biológicos ^{198,199}.

Un ligando prometedor para la plata, es el AH, que es un glicosaminoglicano, componente de la matriz extracelular con excelente biocompatibilidad²⁰⁰. Posee un gran número de grupos carboxilo cargados negativamente, que interaccionan fuertemente con iones Ag + permitiendo así la formación de complejos Ag NP estables²⁰¹. Estas características hacen que AH sea un buen recubrimiento de nanopartículas de plata para lograr una baja citotoxicidad y estabilidad prolongada, incluso en altas concentraciones de plata. En conjunto, estos resultados indican que el revestimiento biológico de AH juega un papel prominente en la disminución de la citotoxicidad de la plata¹⁷¹.

Otros estudios donde se asocia AH y plata en cicatrización de heridas, demuestran que esta combinación reduce la toxicidad local de la plata, al mantener el AH una hidratación adecuada que evitaría que aumentaran las dosis tóxicas de la plata, ya que aumentan con la desecación del apósito y además favorecería la granulación y la epitelización al mantener la cura húmeda.

1.10 Zonas donantes

Los cirujanos reconstructivos usan con frecuencia el injerto de piel parcial para defectos cutáneos tras traumatismos, úlceras o quemaduras profundas^{202,203}.

Las zonas donantes son heridas quirúrgicas, realizadas con dermatomos manuales o eléctricos que dejan una herida superficial cutánea con conservación de la raíz de los folículos pilosos, es decir heridas de espesor parcial, afectando a la epidermis y parte de la dermis. (Que no afectan a todas las capas de la piel,) Son heridas consideradas limpias, puesto que se realizan en un quirófano bajo condiciones de asepsia y esterilidad. Pueden ser una carga considerable para los pacientes durante y después del proceso de cicatrización. Causan picazón, dolor, infección y molestias estéticas^{204,205} .

El tratamiento local de las zonas donantes debe tener como objetivo crear un ambiente que permita una re-epitelización rápida y sin complicaciones, con un mínimo de dolor, malestar y estancia hospitalaria^{205,206,3}

El manejo de las zonas donantes de injertos de piel, sigue siendo controvertido y hay una variación considerable de tratamiento entre diferentes profesionales sanitarios.

La cura ideal para la zona donante debería promover la cicatrización, prevenir la infección, resultar en una mínima cicatrización, sin dolor, con bajo costo y fácil de usar. Un apósito que posea todas estas cualidades aún no se han desarrollado, pero actualmente muchos cumplen con algunos de estos requisitos , en diferentes grados.(tabla 2).

En una extensa revisión de artículos de zonas donante²⁰²concluyó que los apósitos que proporcionar un ambiente de curación húmedo como películas transparentes o hidrocoloides presentaban los tiempos de curación más rápidos. Además de disminuir el dolor del sitio donante. Así, basándose en la literatura

publicada en los últimos 30 años, parecería que los apósitos transparentes y los hidrocoloides se aproximan más a criterios de curación rápida y estable.

PROPIEDADES DEL APÓSITO IDEAL

Crear un ambiente húmedo

Promover la cicatrización de la herida

No adherirse a la herida

Poder renovarse sin producir trauma ni dolor

Capacidad de absorber el exudado excesivo

Mantener cambio gaseoso

Impermeabilidad a los microorganismos

Aceptabilidad por parte del paciente

Coste aceptable

Tabla 2. Propiedades apósito ideal²⁰⁷

Se ha demostrado que los vendajes que promueven ese entorno de heridas húmedas, mejoran la reepitelización, aumentan la síntesis de colágeno y, en última instancia, mejoran las tasas de curación^{208,209}. El tiempo de cicatrización más corto de los sitios donantes usando apósitos que promueven la cicatrización húmeda de las heridas ya había sido sugerido por pruebas agregadas anteriores^{202,206,210} (tabla 3).

Asentado en la evidencia disponible, varios apósitos son adecuados para este propósito, que van desde gasas clásicas a los apósitos de silicona modernos, alginatos, películas e hidrofibras^{211,212,213}. Sin embargo, los regímenes de tratamiento varían considerablemente entre los centros y los especialistas

quirúrgicos^{214,215} Todas las revisiones sistemáticas llegaron a la conclusión de que se necesitan pruebas más convincentes²¹⁶.

VENTAJAS DE LA CURA HÚMEDA

Aumento del aporte de oxígeno y nutrientes vía endógena a través de la angiogénesis

Acidificación del medio

Facilidad para la migración celular

Control de exudado

Mantener la temperatura adecuada, estimulando la fibrinólisis

Disminución del dolor

Protección de las heridas frente a infecciones

Reducción del tiempo de cicatrización

Disminución de las curas locales

Tabla 3. Ventajas de la cura húmeda¹²⁰⁷

1.11 Ácido Hialurónico

El ácido hialurónico (AH) es un polisacárido lineal, una molécula natural que pertenece a la clase de los glucosaminoglicanos no sulfatados²¹⁷. Fue descubierto en 1934 por Meyer et al. John Palmer, científicos de la Universidad de Columbia, Nueva York, que aislaron una sustancia química de la gelatina vítrea de los ojos de la vaca²¹⁸²¹⁹.

El ácido hialurónico es el más abundante de todos los glicosaminoglicanos que existe naturalmente en los organismos vivos y es un componente universal de los espacios extracelulares de los tejidos corporales.

La estructura idéntica del ácido hialurónico en todas las especies²²⁰ y tejidos hace de este polisacárido una sustancia ideal para su uso como biomaterial en la salud y la medicina.

Se encuentra disperso por todo el organismo humano, siendo especialmente abundante en el tejido conectivo, en el humor vítreo, en el líquido sinovial de las articulaciones, en el cordón umbilical, y la mayoría del ácido hialurónico (alrededor del 56%) se encuentra en la piel, siendo responsable del mantenimiento de la homeostasis tisular. Se estima que la cantidad total de AH en el organismo rondaría los 12 gramos, y en la piel aproximadamente 7 g^{221,219}.

El AH aparece principalmente en matrices extracelulares y pericelulares, aunque también se ha demostrado que aparece también de manera intracelular, donde es catabolizado y desarrolla importantes funciones. Es sintetizado en la membrana plasmática de los fibroblastos y otras células (sinoviales, endoteliales, musculares...) y liberado, inmediatamente en el espacio extracelular²²². Un estudio realizado en 2007 demostró que también existe ácido hialurónico en la epidermis, lo que resulta interesante en el mantenimiento de la estructura cutánea¹¹⁹.

El AH aparece asociado a proteínas en los tejidos, como la matriz del cartílago articular y se presenta unido al agregán, proteoglicano formado por colágeno, condroitín sulfato y keratán sulfato.

Hoy en día se conoce que el AH juega un papel fundamental en la transducción de las señales celulares y en su motilidad además de participar en procesos inflamatorios, tumorales, y cicatriciales^{223,224}. Durante años, se ha venido utilizando en diferentes campos de la medicina como son la oftalmología,

traumatología, reumatología, neurología, dermatología etc. Así como en el campo de la medicina estética, por su eficacia, facilidad de administración y perfil de seguridad.

1.11.1 Estructura química

Su unidad estructural fue definida por Weissman y Meyer en 1954 . El ácido hialurónico es un polisacárido lineal compuesto por unidades repetidas de disacáridos de ácido D-glucurónico y N-acetil-D-glucosamina, unidas en una estructura dimérica formada por enlaces β -(1→3) y β -(1→4) (Fig.8).

Mediante estudios de resonancia magnética nuclear (RMN), se sabe que el AH posee una estructura primaria, secundaria y terciaria descrita por Scott y Heatley en 1999. La estructura secundaria, estaría formada por las uniones intramoleculares mediante puentes de hidrógeno, produciendo que la cadena lineal se rote y forme una doble hélice. La estructura terciaria sería la que interaccionaría mediante uniones con grupos hidrófobos (Nagorski y col, 1995). Este fenómeno estructural, explicaría las propiedades asociadas a este polisacárido como son: gran poder hidratante, su viscoelasticidad, así como la capacidad de formación de una barrera que dificultaría la difusión de los gérmenes, reconocida como la propiedad bacteriostática que posee.

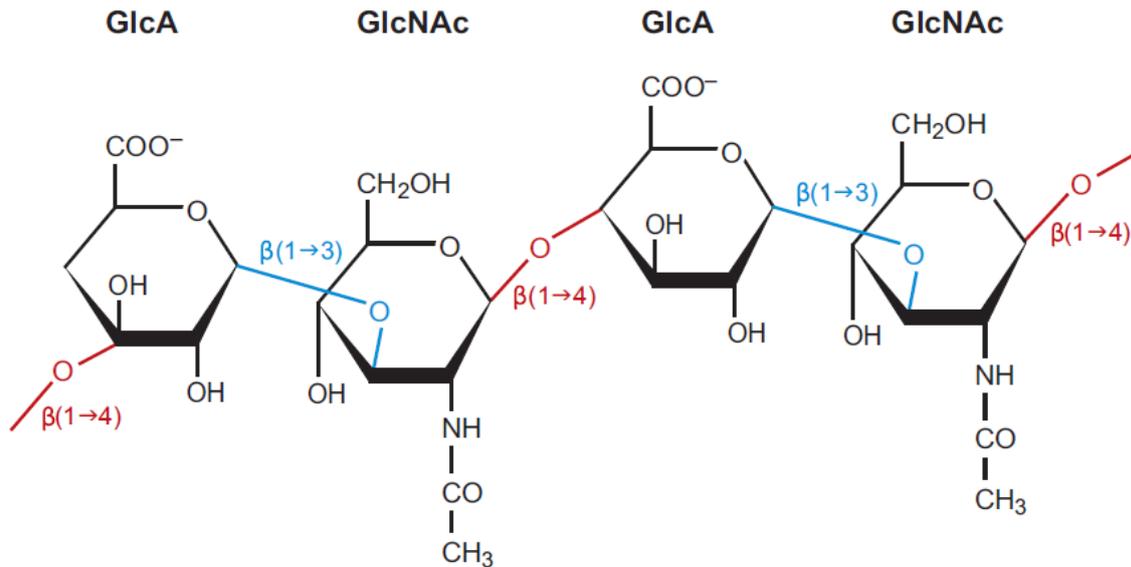


Figura 8. Representación esquemática del ácido Hialurónico. (Modificado Jiang 2007)⁶⁵

Normalmente, el grupo (-COOH) del ácido D-glucorónico forma una sal sódica, por lo que la forma más común del AH es el hialuronato de sodio. (Fig.9)

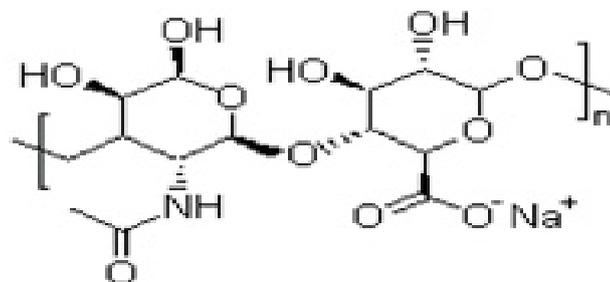


Figura 9. Representación esquemática del hialuronato de Sodio³⁶

La masa molar del AH, oscila de $5,0 \times 10^5$ hasta $8,0 \times 10^6$ g.mol⁻¹ y en algunos casos puede llegar a $1,3 \times 10^7$ g.mol. Esta masa molar, puede influir en su acción cicatrizante. Algunos autores refieren que en las fracciones de masas molares $\leq 5 \times 10^5$ g.mol⁻¹ presentan una acción cicatrizante superior²²⁵,

Debido a las cargas negativas de su estructura molecular, presenta una gran capacidad para unir agua, cuando se hidrata, puede contener cerca de mil veces su tamaño en moléculas de agua para aportar una gran resistencia a los traumatismos, pero también regular el balance hídrico de los tejidos y su osmolaridad.

1.11.2 Funciones del AH

En las últimas décadas, son varias las funciones y propiedades del AH que se vienen demostrando en continuos estudios, de forma que, actualmente, este biopolímero está reconocido como un compuesto de elevado valor biológico. Se ha demostrado que contribuye al funcionamiento y fisiología celular como: crecimiento, división, diferenciación, motilidad, remodelación del tejido, inflamación y procesos tumorales.

Muchas células, incluidas, células estromales como fibroblastos, células de musculo liso, células epiteliales y del sistema inmune como neutrófilos macrófagos y linfocitos, expresan CD44 ²²⁶. La interacción HA-CD44 juega un papel importante en el desarrollo, inflamación, reclutamiento y activación de linfocitos T ²²⁷.

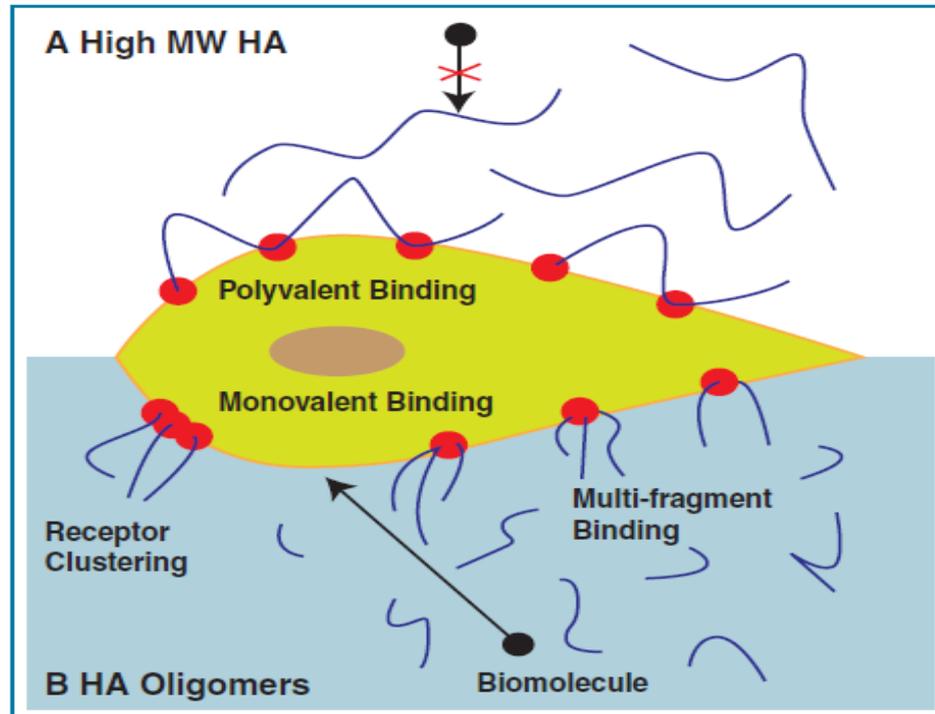
Las células tienen receptores específicos para el ácido hialurónico, el receptor RMMAH, (para la motilidad mediada por hialuronato, el cual juega un papel importante en la motilidad de las células malignas) así como la molécula de adhesión intercelular (ICAM-1). Hialoadherina. TSG6, (implicado en la inflamación) y LYVE-1²²⁸(lymphatic vessel endotelial hyaluronan receptor-1) encontrado en los vasos linfáticos.^{229, 230,231,232,233,234,235,}

Sus funciones biológicas dependen de su peso molecular. Se observó que los oligosacáridos de AH poseían diferentes funciones⁶⁶ respecto a los fragmentos de alto peso AH⁶⁶. Como resumen podemos decir, que AH de bajo peso molecular, de 8 a 10 oligómeros, se uniría a CD 44, receptor de hialurónico mediador de la movilidad (RHAMM) y la molécula de adhesión intercelular 1 (hialoadherina). Y originan la proliferación de fibroblastos, pero la presencia de altas concentraciones de AH de elevado peso molecular inhibe la unión del AH de bajo peso molecular a CD 44, inhibiéndose la fibrosis.

Lo mismo ocurre con la angiogénesis, oligómeros de ácido hialurónico (O-HA) se unen con el receptor CD 44 y el RHAMM la favorecerían, junto a activación de factores inflamatorios derivados de los macrófagos. Pero ácido hialurónico de elevado peso molecular inhibe la unión del O-HA con el receptor CD 44 y el RHAMM con lo que inhibe la reacción inflamatoria y el proceso neovascular y fibrótico^{98,54,55}, (figura 10).

Una alta concentración de AH en la matriz extracelular permite la estabilidad celular e integridad tisular, mientras que su degradación favorece procesos de remodelación tisular permitiendo la motilidad celular, indicio de madurez del tejido.

Su presencia es importante en los nichos de células madre, donde estimula y favorece la migración, así durante el proceso embrionario participa en la morfogénesis⁵⁷.



Funciones del AH dependientes de su peso molecular: AH alto peso: mantiene la arquitectura del tejido, favoreciendo el medio peicelular. Oligómeros de AH a unen a Rc CD44 de superficie para mandar señales intercelulares

Figura 10. Fragmentos de AH⁵⁶

En los cultivos celulares se observa un halo alrededor de las células de ácido hialurónico, secretado por ellas mismas, esto parece favorecer la movilidad de la propia célula y además la protege de virus y bacterias ya que no pueden atravesarlo. Debido a su comportamiento polianiónico tampoco favorecería la adhesión celular ni proteica.

La extensa aplicabilidad del AH se debe a sus excelentes características higroscópicas, reológicas y sus propiedades visco-elásticas.^{23,37,40} Es una buena herramienta en medicina, sobre todo en los procesos de reparación

tisular, y actualmente se usa como armazón “scaffold” en múltiples cultivos tisulares.

1.11.3 Obtención ácido Hialurónico

Se sintetiza en la membrana plasmática de fibroblastos, células endoteliales, células sinoviales, ovocitos, y fibras musculares, en vez de sintetizarse en el aparato de Golgi, como hacen el resto de los glicosaminoglicanos.

Lo llevan a cabo unas enzimas denominadas sintasas del ácido hialurónico, de las que conocemos tres tipos diferentes en los animales vertebrados (HSA1, HAS2, HAS3) y que además se presentan en diferentes concentraciones en los distintos tejidos del cuerpo humano²³⁶.

La síntesis se lleva a cabo en la cara citosólica donde se van ensamblando los monosacáridos, y a medida que se va sintetizando la cadena de ácido hialurónico va siendo transferida al espacio extracelular. (Figura 11). Aunque las tres enzimas sintetizan ácido hialurónico, la HAS2 es la que parece sintetizar AH con alto peso molecular²¹⁹; y la HAS3, AH de bajo peso molecular.²³⁷ Actualmente estudios sugieren que las tres enzimas HAS participan en las biosíntesis y liberación AH de alto peso molecular (1×10^6 Da)²³⁸

El Factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), la linfotoxina (TNF β) y el interferon estimulan la producción de AH e incrementan la actividad celular de HAS en los fibroblastos pulmonares ²³⁹. Una autorregulación positiva de HAS la encontramos en los tejidos que han sido traumatizados^{240,241,242,243}, congruente con los elevados niveles de AH que se observan durante las lesiones repetidas.

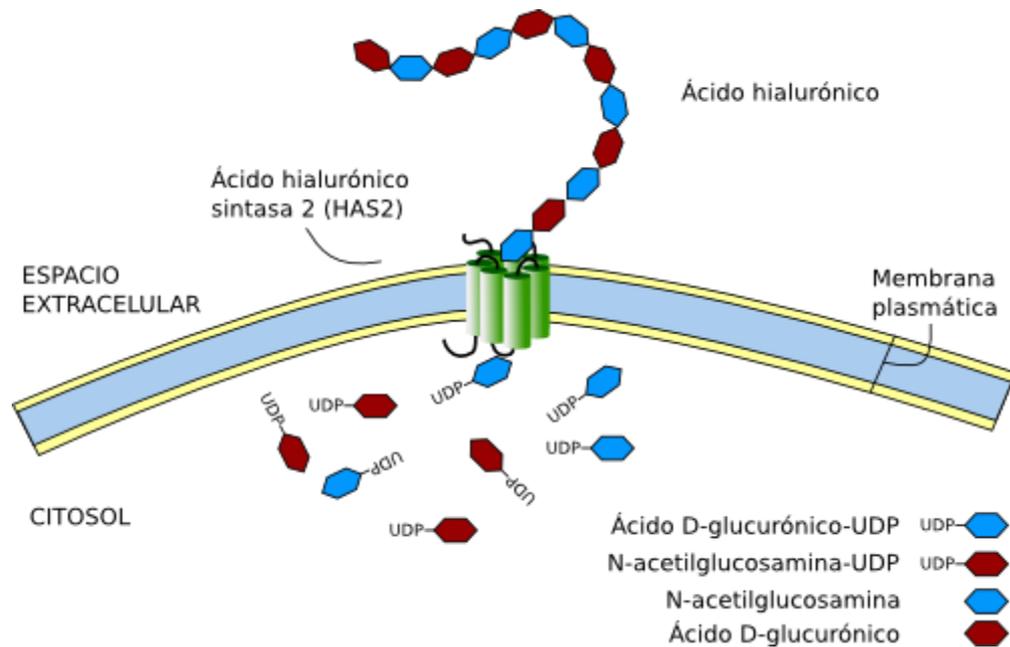


Figura 11. Síntesis de ácido hialurónico en la membrana celular por la sintasa del ácido hialurónico (Modificado de Escudero 2009).

Fuente : <https://mmegias.webs.uvigo.es/5-celulas/ampliaciones/2-hialuronico.php>

El metabolismo del ácido hialurónico es muy dinámico. Su vida media es muy variable, los condrocitos del cartílago sintetizan y catabolizan AH a lo largo de la vida del tejido, manteniendo una concentración estable¹²⁰, su vida media es de 2 a 3 semanas sin embargo en los queratinocitos de la epidermis, su vida media es de poco más que un 1 día²⁴⁴. Aproximadamente un tercio de este ácido hialurónico se reemplaza cada día. En los procesos inflamatorios vamos a observar un aumento de su catabolismo.

Se degrada por varios tipos de enzimas: hialuronidasa, beta-D glucoronidasa, beta-D-N-acetil-hexosaminidasa. Las más importantes son las hialuronidasas (hyaluronoglucosaminidasas, o HYALs). Hidrolizan el enlace

hexosaminídico B (1 → 4) entre N-acetil-glucosamina y residuos de ácido D-glucurónico. Estas enzimas también hidrolizan enlaces β (1 → 4) glicosídicos entre la N-acetilgalactosamina o el sulfato de N-acetilgalactosamina y el ácido glucurónico en la condroitina, los sulfatos de condroitina 4 y 6 y el dermatano.

Algunas bacterias, como *Staphylococcus aureus*, *S. pyogenes* y *Clostridium perfringens*, producen hialuronidasas para facilitar una mayor movilidad bacteriana a través de los tejidos del cuerpo y actuar como un disfraz antigénico que impide el reconocimiento de las bacterias por los fagocitos²⁴⁵. En humanos, se han identificado seis hialuronidasas que están influenciadas por factores térmicos, enzimáticos y por la presencia de radicales libres de oxígeno²⁴⁶. Con lo que hacen, que la degradación sea muy variable entre una y otras personas.

En aquellos tejidos drenados por vasos linfáticos se elimina el ácido hialurónico en la linfa, pasa a la sangre y es degradado por las células endoteliales de los capilares sinusoidales del hígado. Aproximadamente el 30 % del AH eliminado, lo hace por vía hepática pero también una parte se elimina en los propios nódulos linfáticos o es excretado por vía renal. (1 %)

1.11.4 Síntesis y Biotecnología

El AH comenzó a ser extraído a partir de tejidos de origen animal, como la cresta de gallo y el cordón umbilical^{247,225}, estos se tratan de AH de cadena larga. Actualmente, se produce por procesos biotecnológicos a través de la fermentación microbiana, esencialmente de dos especies de bacterias: *Streptococcus* spp como *S. equi* y *Enterococcus*^{248, 126} como *E. coli* y se tratan de AH de cadena corta o fragmentados que se usan habitualmente en la industria cosmética. También se

pueden obtener de origen vegetal, extraídos a partir de biosíntesis de cereales o de celulosa que se conocen como NASHA (*Non animal Stabilized Hyaluronic Acid*).

Los diferentes laboratorios han tratado de buscar la forma de disminuir su tendencia natural a degradarse rápidamente, y actualmente pueden alcanzar muchos meses de duración y su peso molecular es muy variado.

El estudio de sus propiedades físicas²⁴⁹, demuestra que las modificaciones pueden hacer que su comportamiento, estabilidad, durabilidad y volumen aportado, sean muy diferentes. Una de estas modificaciones es la llamada reticulación²⁵⁰ o entrecruzamiento que consiste en la unión de varias moléculas de ácido, generando enlaces difíciles de desligar por las hialuronidasas, aumentando así su vida media en los tejidos.

1.11.5 Seguridad del producto

La estructura molecular del AH es similar entre las distintas especies, lo que lo hace no inmunogénico, de lo que resultan también sus características biodegradables^{251,252}. Los primeros estudios a finales de la década de los 90, recomendaban su utilización y sus resultados satisfactorios respecto a efectos adversos y seguridad^{253,250,254}. Pronto a principios del 2000 comienza a aparecer en la literatura médica las primeras reseñas de efectos adversos, destacándose eritema e induración y reacciones de hipersensibilidad con ácido hialurónico^{255,256}.

Embolizaciones y reacciones a cuerpo extraño se observaron en usos de rellenos faciales, no es su uso tópico, debido todo ello al poco refinamiento de la

molécula y con tendencia a mejorar la purificación de restos proteicos y eliminar las endotoxinas bacterianas.

La prevalencia de estos efectos adversos se cifra según algunos estudios, por debajo del 1%^{257,258,259}

El proceso de reticulación aumenta su diferencia respecto al AH nativo, y por tanto aumenta su capacidad de actuación como cuerpo extraño, Además de existir un aumento de la toxicidad por el agente reticulante. Otro parámetro a considerar es la concentración del AH, porcentaje de soluto dividido entre disolvente, a una mayor concentración, mayor es su durabilidad, aunque en su duración influyen además el peso molecular, el grado de entrecruzamiento etc.

2. Hipótesis

El propósito de nuestro estudio está en la comparación de dos regímenes de curación, uno basado en plata nanocristalina y otro asociando esa misma plata con ácido hialurónico en forma de gel. Diversos estudios en la literatura han comparado la cura en ambiente húmedo en la cicatrización de zonas donantes, demostrando en muchos, que la reepitelización se mejora con éste.

A partir de las consideraciones anteriores, se establecen los siguientes objetivos:

2.1 Objetivo principal

Valorar la eficacia del AH en forma de sal sódica al 1% asociado con apósito de plata nanocristalina en el tratamiento de las zonas donantes de injertos cutáneos de espesor parcial.

2.2 Objetivos Específicos

1. Valorar la superficie de cicatrización comparando las áreas y los perímetros expuestos al AH frente a los no expuestos, en las zonas donantes de injertos de piel parcial manejados en la clínica asistencial.
2. Evaluar la aparición de infecciones con ambos regímenes de tratamiento y de efectos adversos producidos por el uso de AH tópico y de plata nanocristalina.

3. Cuantificar el grado de dolor experimentado por los pacientes con el cambio de apósito en las curas.

4. Medir la calidad cicatricial y sus características estéticas a largo plazo en las zonas donantes tratadas con plata y a las que se añadió AH en forma de gel.

3. Material y Método

3.1 Diseño del estudio:

Realizamos un estudio prospectivo de caso-control en 53 pacientes, intervenidos quirúrgicamente por distintas patologías plásticas y cuyo tratamiento necesite la realización de un injerto cutáneo. Un mismo paciente actuaría como caso (área de zona donante curada con apósito de plata nanocristalina y gel de AH al 1 % y como control (área de zona donante curada solamente con apósito de plata nanocristalina).

3.2 Variables del estudio

3.2.1 Selección de sujetos

Criterios de inclusión: Son susceptibles de ser incluidos en el estudio pacientes de ambos de sexos, a partir de 18 años, que requieran una cirugía de cobertura con injerto cutáneo de piel parcial.

Criterios de exclusión: Excluimos pacientes inmunosuprimidos o inmunodeprimidos, embarazadas, menores de 18 años, pacientes con enfermedad psiquiátrica grave, pacientes con patología sistémica grave concomitante no bien tratada y los que no hayan firmado el consentimiento informado.

Se informa al paciente del estudio clínico y sólo será incluido en él si firma voluntariamente el CI., y siguiendo las consideraciones éticas según el decreto de Ginebra de tratar en caso de complicación infecciosa grave.

Motivos de salida del estudio: que no lo acepte el paciente, que renuncie al tratamiento, que exista infección sistémica grave, reacción alérgica grave con riesgo vital, o según criterio del investigador cualquier situación que pudiera poner en riesgo al paciente.

3.2.2 Variable principal

Superficie de epitelización de las zonas donantes tratadas con apósito de plata solo y añadiendo AH en la primera visita postoperatoria a consultas externas de cirugía plástica. La unidad de medida empleada fue: en área (cm²) y perímetro (cm). Realizando foto estandarizada de la zona donante con una unidad de medida lateral.

3.2.3 Variables secundarias

Signos de infección local, medidos por el observador, mediante signos clínicos macroscópicos como calor, rubor, dolor , exudado purulento y mal olor. Se realiza un cultivo de la misma y si confirmación microbiológica de infección, se instaura tratamiento antibacteriano.

Reacciones adversas o toxicidad local: Valoración por el observador de signos locales o sistémicos, medida por características clínicas que son: sensación pruriginosa, formación de vesículas y eritema perilesional.

Evaluación del grado de dolor: Valorado por el paciente en los distintos cambios de apósito de la zona donante con una escala verbal del dolor. Siendo 0 : no dolor con el cambio de apósito y 10: el máximo dolor. (Figura 12)

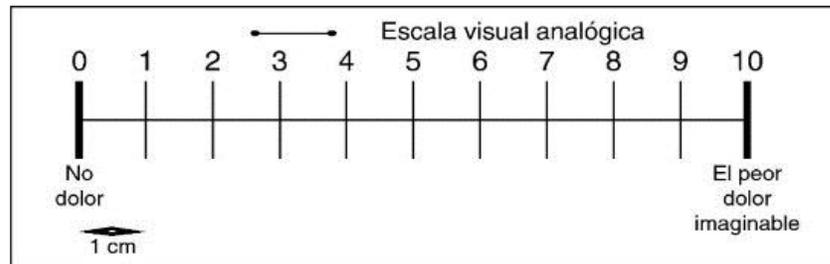


Figura 12. *Escala visual analógica*

Calidad estética cicatricial: Valorado de manera observacional por el mismo cirujano, para medir la calidad de la cicatriz y sus características estéticas;

- Pliabilidad / flexibilidad: medida mediante la técnica del pellizco cutáneo.
- Altura cicatricial, usando una regla milimetrada de manera vertical en el borde la herida.
- Vascularización, observando la coloración que aportan los capilares cutáneos.
- Pigmentación, valorando las distintas tonalidades cicatriciales.

Siguiendo los criterios de la escala de Vancouver VSS (Tabla 4). La puntuación máxima correspondería a 14 puntos y la mínima a 0.

1. Vascularización	
Normal	0
Rosa	1
Roja	2
Violeta	3
2. Pigmentación	
Normal	0
Hipopigmentación	1
Mixta	2
Hiperpigmentación	3
3. Flexibilidad	
Normal	0
Flexibilidad moderada	1
Flexibilidad ligera	2
Firme	2
Cuerda cicatricial	4
Contractura	5
4. Espesor	
Plano	0
<2 mm	1
2-5 mm	2
>5 mm	3

Tabla 4. Escala de Vancouver.

3.3 Diagrama del estudio

3.3.1 FASE I:

Historia clínica completa de los pacientes a estudio mediante la realización de un cuaderno de registro donde anotamos comorbilidades, medicación habitual y parámetros analíticos previos. Se obtiene una analítica completa preoperatoria con hemograma, bioquímica y coagulación.

La toma de injertos se realiza en quirófano, con el paciente anestesiado con A. General o mediante bloqueo regional y no se utilizará en ningún caso anestesia local para no interferir en los tratamientos testados.

La obtención se desarrolla mediante un dermatomo eléctrico o neumático (modelo Zimmer®), regulando la apertura del mismo a 0,2 mm. El ancho de la zona donante fue siempre el ancho de la protección del dermatomo y la longitud fue variable.

Todas las zonas donantes fueron tomadas de extremidades inferiores en la zona de la raíz del muslo de los pacientes.

Se realizó el primer registro fotográfico a una distancia de 40 cm con una regla milimetrada en el margen de la zona donante. (fig.13) A continuación se realiza un segundo registro fotográfico con los dos regímenes de tratamiento aplicados (caso-control), medido a la misma distancia y con el mismo equipo para evitar sesgos (figura 14)

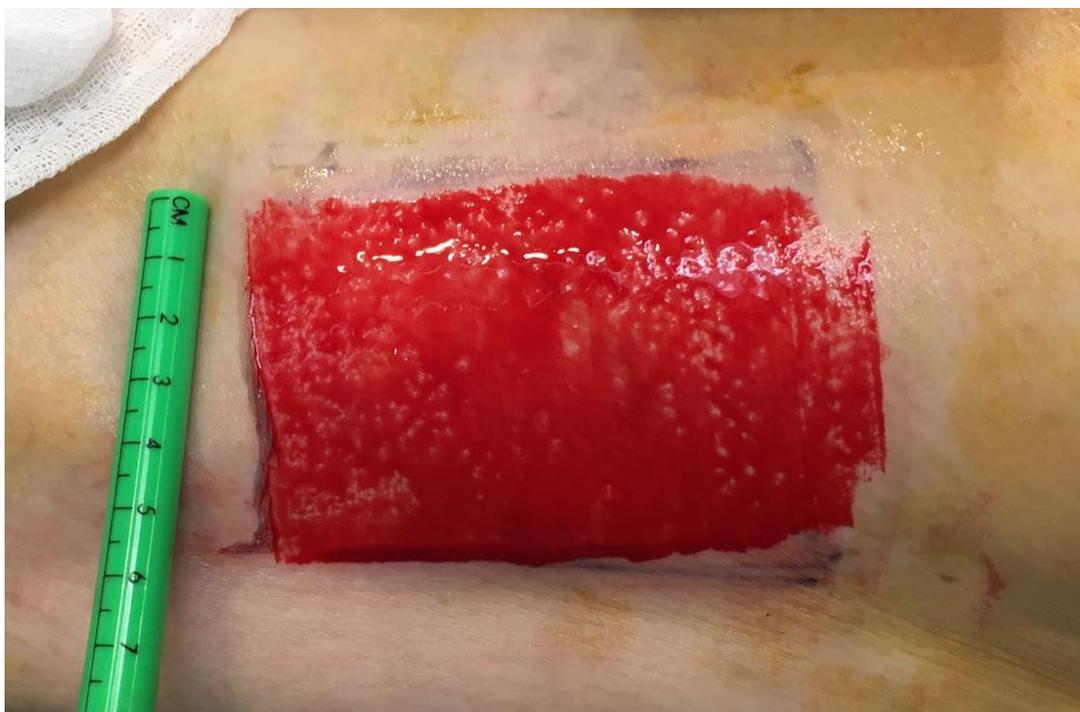


Figura 13. Zona donante de injerto de piel parcial



Figura 14. Izda curado con Acticoat®, derecha humedecido con Acido Hialurónico

Las intervenciones se llevan a cabo por el mismo cirujano, donde se incluye una aleatorización de la zona a tratar, de tal manera que en unos casos el AH será colocado en la zona superior y en otros en la zona inferior para minimizar sesgos de la zona anatómica donante y los producidos al obtener el injerto cada cirujano (como en la presión, la forma etc.).

La zona cruenta será inmediatamente cubierta con apósito de plata nanocrystalina (*Acticoat®*) que dividiremos en dos partes iguales. Una de ellas será humedecida con 5ml de ácido hialurónico en forma de sal sódica al 1% (*Regenia®*). Toda la zona donante será cubierta por compresas estériles y asegurado por un vendaje de crepé. Dicha cura no se levantará hasta la primera consulta externa.

3.3.2 FASE II:

Se realiza el primer seguimiento en consultas externas de cirugía plástica a los 12 días. Se tomaron fotografías digitales estandarizadas de cada sitio en el momento de la inspección de la herida, con escala milimetrada en el borde. Se procede a valorar los siguientes parámetros:

Dolor: por el paciente, a la retirada del apósito en las distintas zonas, medido mediante Escala Analógica Verbal (figura 9)

Evaluación de la epitelización: Un cirujano plástico experto observó todas las heridas, apreciando si la queratinización es estable o no, si aun presenta tejido granulación o esfacelos viendo lecho, fondo y borde comparativamente.

Si la zona no se encuentra epitelizada completamente se vuelve a repetir la misma pauta de tratamiento, hasta conseguir la epitelización completa.

Si la zona se encuentra completamente epitelizada se procede a la hidratación de la misma. En la zona donde lleva AH se le aplica el mismo producto y la misma cantidad de 5 ml, en la zona tratada solamente con apósito de plata se le añade vaselina estéril.

Valoración de signos de infección local: mediante signos clínicos como calor, rubor, dolor, exudado purulento y mal olor. Si resulta positivo, se realiza un cultivo de la misma mediante toma de exudado con hisopo.

3.3.3 FASE III:

Valoración de la cicatriz: Seguimiento a los 3 meses en consultas externas, por parte del mismo cirujano, para valorar la calidad de la cicatriz de las zonas donantes (fig. 15) y sus características estéticas; flexibilidad, altura, vascularización y pigmentación, siguiendo los criterios de la escala de Vancouver VSS (Tabla 4)



Figura 15. Zona donante epitelizada a los 3 meses

3.3.4 FASE IV:

Registro de datos: Se procedió a importar todas las imágenes con el programa software *ImageJ*®. Para su posterior digitalización y medidas de áreas y perímetros no epitelizadas.

ImageJ® es un programa de procesamiento de imagen digital de dominio público programado en Java desarrollado en el *National Institutes of Health*.

Delimitación y cuantificación del área no epitelizada

Para ello se utilizó un modelo, que permitiera estandarizar su escala, cada imagen fue calibrada través de la herramienta "*Analizar / Establecer escala*", que permitió ajustar la medición en píxeles / cm promedio de la regla de la zona donante.

Después, se seleccionó el complemento "polígono" para marcar el borde de la herida con el ratón (figura 16).

El software calculó automáticamente el área en cm^2 y el perímetro en cm con el comando «CTRL + M». Y así sucesivamente sumando las distintas áreas no epitelizadas.

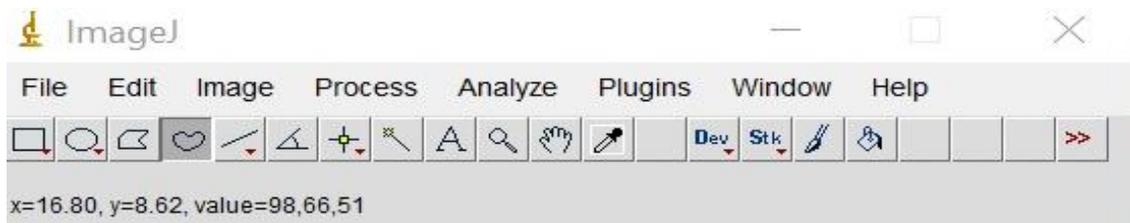


Figura 16. Software Image J

3.3.5 Autorización y principios éticos

Este estudio se ha llevado a cabo cumpliendo los criterios sobre principios éticos según la Declaración de Helsinki y sus posteriores actualizaciones. Se respetó la

privacidad según la Ley Orgánica 15/1999, de 13 de diciembre, de Protección de Datos de Carácter Personal y la normativa vigente sobre ensayos clínicos Real Decreto 1090/2015, de 4 de diciembre, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos, los Comités de Ética de la Investigación con medicamentos y el Registro Español de Estudios Clínicos.

El estudio clínico ha sido revisado y aprobado por el comité de ética del complejo asistencial universitario de Salamanca. Todos los participantes han sido informados y han firmado libre y voluntariamente el consentimiento informado (anexo 1 y 2).

3.3.6 Estudio estadístico

Para alcanzar un nivel de significación del 5% asumiendo una potencia del 80% y un tamaño del efecto del 0.5 se necesitó un tamaño muestral mínimo 34 pacientes. En nuestro estudio se incluyeron un total de 53.

Los datos se han resumido mediante media, mediana, desviación estándar, rango intercuartílico, coeficientes de asimetría y curtosis en el caso de variables continuas y mediante frecuencias relativas y absolutas en el caso de variables cualitativas.

Se han realizado pruebas de normalidad mediante el test de Shapiro-Wilk y al dar significativas se utilizó el test de Wilcoxon para analizar la asociación entre la superficie de cicatrización y el tratamiento utilizado. También se utilizó dicho test para estudiar la asociación entre la superficie de cicatrización y el valor de VSS y el valor de

EVA. Para visualizar los resultados se utilizaron boxplot, histogramas, diagramas de barras y gráficos de correlación.

Todo el tratamiento estadístico y los gráficos se han obtenido con el software R (versión 4.0.0) y los paquetes psych (versión 1.9.12.31), ggplot2 (versión 3.3.0), grid Extra (versión 2.3 y corrplot (versión 0.84). Se consideró como nivel de significación el 0,05.

3.3.7 Gel de Ácido Hialurónico. *Regenhial*®

Un Gel es un sistema coloidal donde la fase continua es sólida y la dispersa es líquida., es un sistema difásico constituido por una red tridimensional de polímeros de sólidos dentro del cual un líquido está atrapado.

Presentan un comportamiento reológico plástico, cuando se aplican sobre la piel, se funden con la temperatura corporal y con la fuerza de aplicación. Consisten en excipientes acuosos que contienen uno o más medicamentos disueltos y preparados.

Un gel ideal, no debe producir irritación o sensibilización en la piel, ni retrasar su cicatrización²⁶⁰ Cuanto mayor sea el contenido de agua, la formulación es más estable debido a las propiedades higroscópicas de AH²⁶¹.

Regenhial® (laboratorios LaviGor) es un gel tópico formado por AH en forma de sal sódica al 1% (hialuronato sódico), agua, polysorbato 20, hyaluronato sódico, fenoxietanol, yetilexilglicerina, con una elevada capacidad hidrofílica, que facilita el transporte de nutrientes e iones. Estable a pH 5-8 °C, a T° 80 °C 1 hora. (Fig.17)



Figura 17. Regenhal ácido hialurónico en forma de sal sódica al 1%

3.3.8 Apósito de plata nanocrystalina. *Acticoat*®

Acticoat® (Westaim Biomedical Inc., Fort Saskatchewan, Alberta, Canadá) es un apósito no adherente recubierto de plata nanocrystalina, con cristales de 15 nm de tamaño y concentración de 70 a 100 ppm. Estructuralmente está formado por tres capas de gasa consistentes en un núcleo de rayón absorbente y poliéster recubierto en cada lado con malla de polietileno en la que se ha agregado plata por deposición física

de vapor²⁶². *Acticoat*® proporciona una dosis controlada, sostenida y antimicrobiana de 50-100 mg/l de iones de plata a la herida, además de crear un ambiente húmedo²⁶³.

Posee una concentración inhibitoria bactericida menor que el nitrato de plata, el acetato de mafenide y la sulfadiazina argéntica.

Estas propiedades apuntan a que podría ser un buen apósito para curar zonas donantes. Sin embargo, no existen estudios amplios en la literatura, además hay algunos artículos científicos que sugieren que la plata debida a su toxicidad directa in vitro sobre los fibroblastos y queratinocitos, podría retrasar la cicatrización sobretodo en heridas agudas.



Figura 18. Acticoat, apósito de plata nanocrystalina

4. Resultados

4.1 Análisis descriptivo

4.1.1 Población estudiada

Se han reunido un total de 56 pacientes sometidos a intervención quirúrgica por el Servicio de Cirugía Plástica del Hospital Clínico Universitario de Salamanca desde julio de 2013 hasta septiembre de 2019, donde requirieran cirugía de cobertura con injerto cutáneo de piel parcial.

De los 56 pacientes se excluyeron 2 por no cumplir el seguimiento y 1 por éxitus durante el periodo de estudio. Analizándose, por tanto, 53 pacientes en total. A continuación, se describen las características de la muestra. En la tabla se presentan las principales medidas de síntesis de las variables estudiadas.

4.1.2 Edad.

En primer lugar se presentan los descriptivos para la variable edad. Se puede ver que la edad media de los pacientes es de más de 59 años y el rango va de 20 a 93 años.

	Media	Mediana	Rango	Desviación estándar	Rango intercuartílico	Asimetría	Curtosis	Normalidad
Edad	59.67	61	20-93	17.35	24	-0.32	-0.28	0.41

Tabla 5. Descriptivos de la variable edad

4.1.3 Sexo

A continuación se presenta el porcentaje de la variable sexo en un diagrama de barras donde se puede observar que hay más pacientes de sexo masculino que femenino.

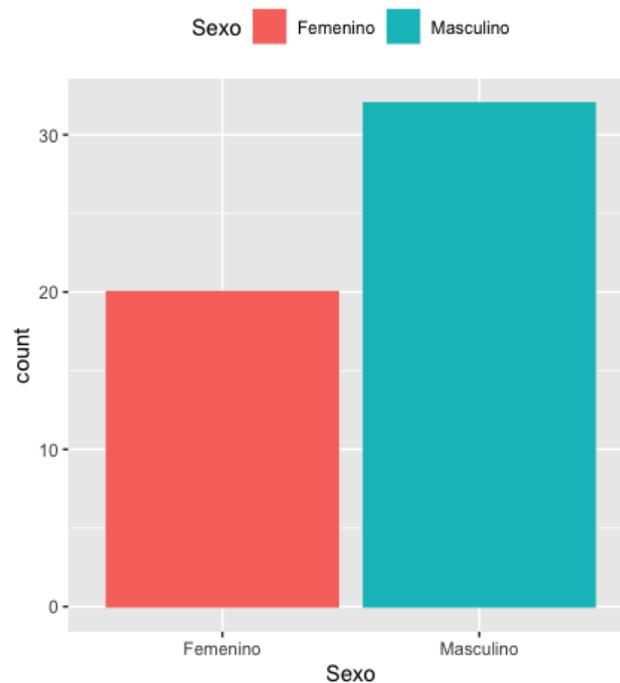


Figura 19. Gráfico distribución por sexos

4.1.4 Comorbilidades

Se describen las siguientes patologías previas: hipertensión, diabetes, insuficiencia vascular periférica así como hábitos tóxicos: fumador, bebedor y tratamientos concomitantes: corticoides y antiagregantes. En la siguiente tabla y figura se presentan los totales de dichas variables así como segregadas por sexo.

	Total n	Total %	Hombre (n)	Hombre %	Mujer (n)	Mujer %
HTA	27	51.92	16	30.77	11	21.15
DM	11	21.15	8	15.38	3	5.77
I.Vascular	20	38.46	14	26.92	6	11.54
Bebedor	8	15.38	8	15.38	0	0.00
Fumador	22	42.31	21	40.38	1	1.92
Corticoides	7	13.46	2	3.85	5	9.62
Antiagregantes	29	55.77	18	34.62	11	21.15

Tabla 6. Comorbilidades, hábitos tóxicos y tratamientos; total y por sexo

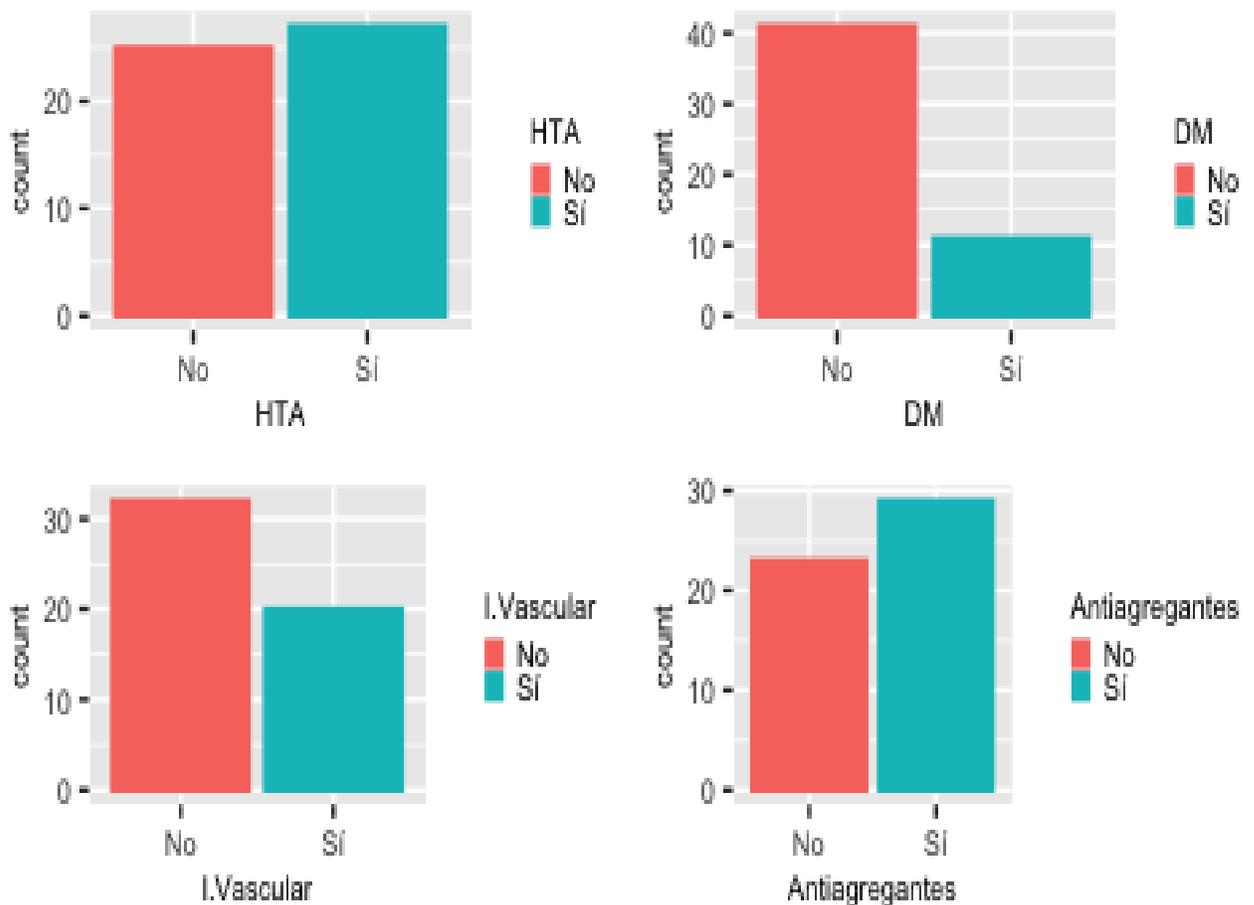


Figura 20. Gráfico distribución de comorbilidades por sexo

4.1.5 Causas de la cirugía

En la tabla se indican los porcentajes de las causas de las cirugías: quemaduras, cirugía reconstructiva, traumatismos y úlceras crónicas. Las dos siguientes columnas corresponden a los porcentajes separados por la variable sexo. Las causas más frecuentes en los hombres son los traumatismos y en las mujeres las quemaduras.

	Total (n)	Total %	Hombre (n)	Hombre %	Mujer (n)	Mujer %
Quemaduras	14	26.92	8	15.38	6	11.54
Reconstructiva	14	26.92	9	17.31	5	9.62
Trauma	15	28.85	11	21.15	4	7.69
Úlcera Crónica	8	15.38	4	7.69	4	7.69

Tabla 7. Causas de la cobertura cutánea

4.1.6 Analítica preoperatoria

Se realizan estudios de bioquímica, hemograma y coagulación a todos los pacientes sometidos a intervención quirúrgica en el periodo preoperatorio, reflejamos los datos en la siguiente tabla. También se representan dichas variables mediante histogramas.

	Media	Mediana	Rango	Desviación estándar	Rango intercuartílico	Asimetría	Curtosis	Normalidad
Leucocitos	8.31	7.6	4.98-19.8	2.83	2.25	1.82	4.23	0
Hemoglobina	12.53	12.18	8.5-18.8	2.51	4.12	0.38	-0.71	0.18
Hematocrito	36.14	36.2	24.9-48.5	6.92	11.25	-0.01	-1.27	0.04
Neutrofilos	5.72	5.34	2.58-18.6	2.64	2.44	2.63	10.06	0
Plaquetas	256.59	231	128-484	95.15	120	0.84	-0.1	0
Creatinina	1.1	0.9	0.2-6.9	0.99	0.37	4.6	23.91	0
Albumina	3.98	4	3-5.3	0.5	0.6	0.01	-0.31	0.53
Proteinas	6.99	7.05	5.6-8.3	0.75	0.85	-0.15	-0.79	0.06
Glucosa	109.79	105.5	69-180	25.96	30.25	1.04	0.7	0

Tabla 8. Variables analítica preoperatoria.

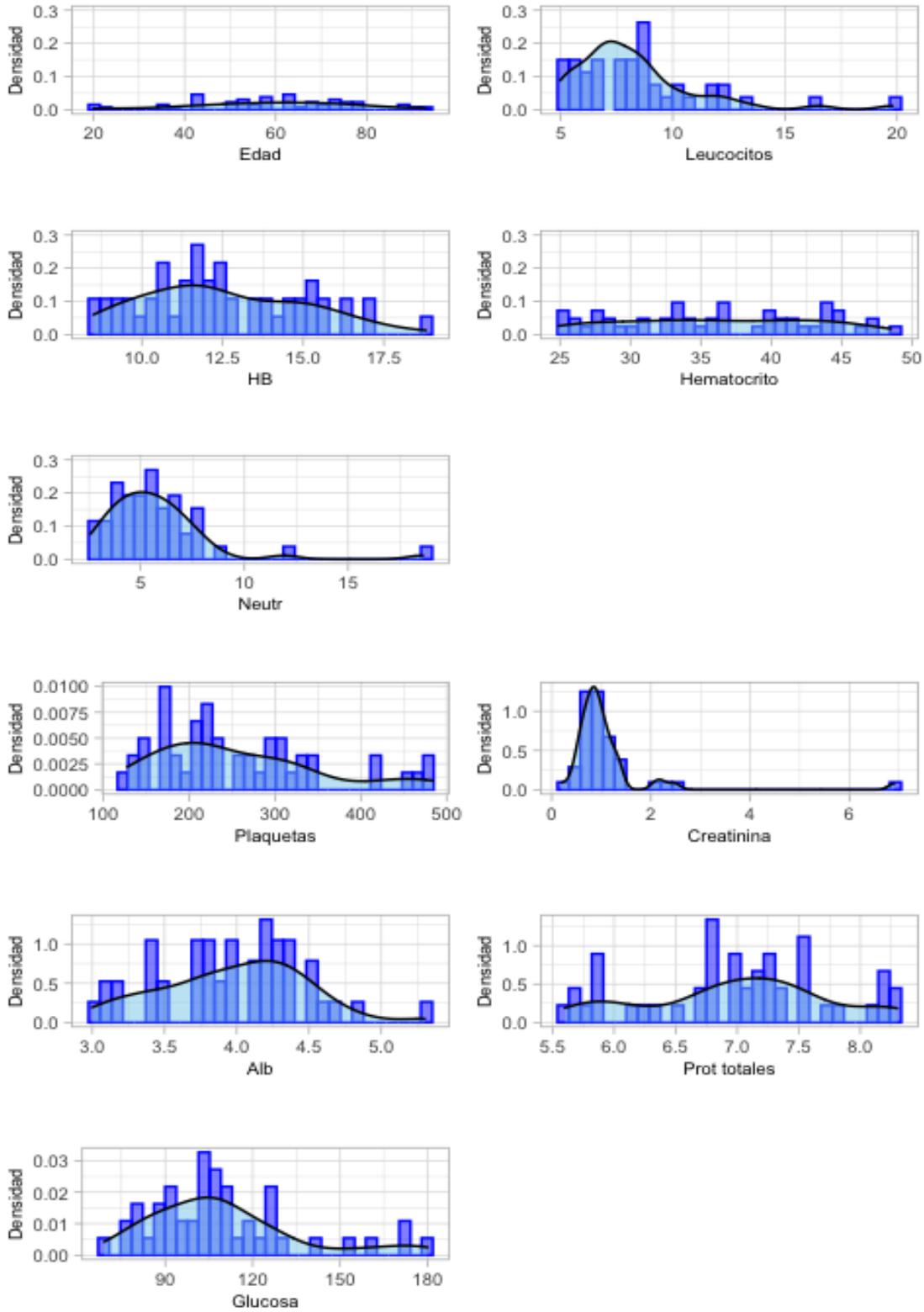


Figura 21. Histograma valores de la analítica preoperatoria

4.1.7 Zonas donantes

A partir de las zonas donantes obtenidas, se calculó el área en cm² y el perímetro total en cm y posteriormente las áreas tratadas con AH y plata y solamente las tratadas con plata. Posteriormente se realizó la valoración de la epitelización en cada una de ellas.

	Media	Mediana	Rango	Desviación estándar	Rango intercuartílico	Asimetría	Curtosis	Normalidad
Area total	82.68	66.8	22.08-404.49	66.4	44.93	2.78	9.51	0
Perimetro	41.69	37.66	21.59-107.46	17.45	13.82	1.88	3.87	0

	Media	Mediana	Rango	Desviación estándar	Rango intercuartílico	Asimetría	Curtosis	Normalidad
Area AH	40.46	34.4	10.79-197.91	32.75	24.31	2.7	8.91	0
Perimetro_Ah	25.12	21.92	10.38-61.4	10.6	9.92	1.49	2.12	0
Area_no_Ah	42.13	33.08	8.52-206.58	35.06	23.71	2.78	9.14	0
Perimetro_no_AH	25.29	22.14	6.96-64.09	11.6	12.25	1.24	1.6	0
Area_pendiente_Ah	2.7	0.58	0-69.14	9.62	1.65	6.34	40.79	0
Perimetro_pendiente_ah	5.7	3.28	0-33.24	6.52	6.37	1.86	4.48	0
Area_pendiente_no_ah	5.1	2.94	0.15-32.16	6.58	5.67	2.46	6.27	0
Perimetro_pendiente_no_ah	13.09	10.57	1.64-48.8	9.99	15.24	1.11	1.34	0

Tabla 9. Medidas Zonas donantes y epitelización.

4.1.8 Escala de dolor

En la siguiente tabla se pueden observar las medidas de resumen de la escala EVA para la zona tratada con AH y zona sin tratar en los cambios de apósito.

	Media	Mediana	Rango	Desviación estándar	Rango intercuartílico	Asimetría	Curtosis	Normalidad
EVA Ah	5.19	5	0-9	1.78	2.25	-0.35	0.02	0.13
EVA no Ah	6.96	7	0-10	1.88	2	-1.09	2.04	0

Tabla 10. Datos valoración EVA

4.1.9 Escala de Vancouver

A continuación se calcularon las principales medidas de síntesis de la valoración de la calidad estética cicatricial de las zonas donantes, teniendo en cuenta 4 parámetros fundamentales, la flexibilidad/pliabilidad, la altura cicatricial, la pigmentación y la vascularización.

	Media	Mediana	Rango	Desviación estándar	Rango intercuartílico	Asimetría	Curtosis	Normalidad
Pliabilidad No AH	1.31	1	0-3	0.83	1	0	-0.74	0
Alturas No Ah	1.37	1	1-3	0.66	1	1.51	0.89	0
Vascularización no Ah	1.52	1	1-3	0.7	1	0.94	-0.44	0
Pigmentación No AH	1.58	2	0-3	0.61	1	-0.03	-0.47	0
Total No AH	5.69	5	0-12	2.34	3	0.59	0.44	0.01
Pliabilidad no Ah	0.88	1	0-3	0.76	1	0.45	-0.42	0
Altura_Ah	1.06	1	0-3	0.67	0	0.32	0.2	0
Vascularización Ah	1.4	1	0-3	0.66	1	0.15	-0.25	0
Pigmentación Ah	1.06	1	0-2	0.57	0	0.01	-0.06	0
Total_Ah	4.44	4	1-9	2.05	2	0.65	-0.25	0

Tabla 11. Valores escala de Vancouver

4.1.10 Situación del ácido hialurónico

A continuación, se muestra la distribución de la situación de las zonas tratadas con ácido hialurónico, según fuera tratada la zona superior de la zona donante o la inferior.

Inferior (n)	Inferior %	Superior (n)	Superior %
20	38.46	32	61.54

Tabla 12. Situación del ácido hialurónico en la zona donante.

4.2 Diferencias en la cicatrización

4.2.1 Comparación de proporciones (área y perímetro)

Para comprobar la hipótesis de si las zonas tratadas con ácido hialurónico y apósito de plata cicatrizan más rápido que las tratadas solo con apósito de plata, se calcularon las proporciones de la zona donante que ya había epitelizado, medidas tanto en áreas (cm²) como en perímetros (cm).

A estas nuevas variables también se les comprobó si seguían una distribución normal mediante el test de Shapiro-Wilk para saber si utilizar métodos paramétricos o no paramétricos para comprobar la hipótesis.

	W	p
Área AH	0.4052180	0.00e+00
Perímetro AH	0.7959687	5.00e-07
Área no AH	0.8757610	9.72e-05
Perímetro no AH	0.8690179	8.50e-05

Tabla 13. Test de Shapiro- Wilk

Como se puede ver, al ser todos significativos, se consideran variables que no siguen una distribución normal y por lo tanto, se utiliza el test de Wilcoxon para comprobar si existen diferencias con un nivel de significación de 0.05.

En primer lugar, se comprueba la hipótesis principal de si el ácido hialurónico junto con la plata, cicatriza más rápido a nivel de área y de perímetro. El p valor para el área es <0.000 por lo que el contraste es altamente significativo. Al realizar el contraste para el perímetro obtenemos un p valor de <0.000 , lo que nos indica que es altamente significativo. Por lo tanto, tanto si se tiene en cuenta el área como si se tiene en cuenta el perímetro, existen diferencias significativas siendo la zona tratada con ácido hialurónico la que cicatriza más rápido.

A continuación, se pueden apreciar las diferencias mediante un boxplot.

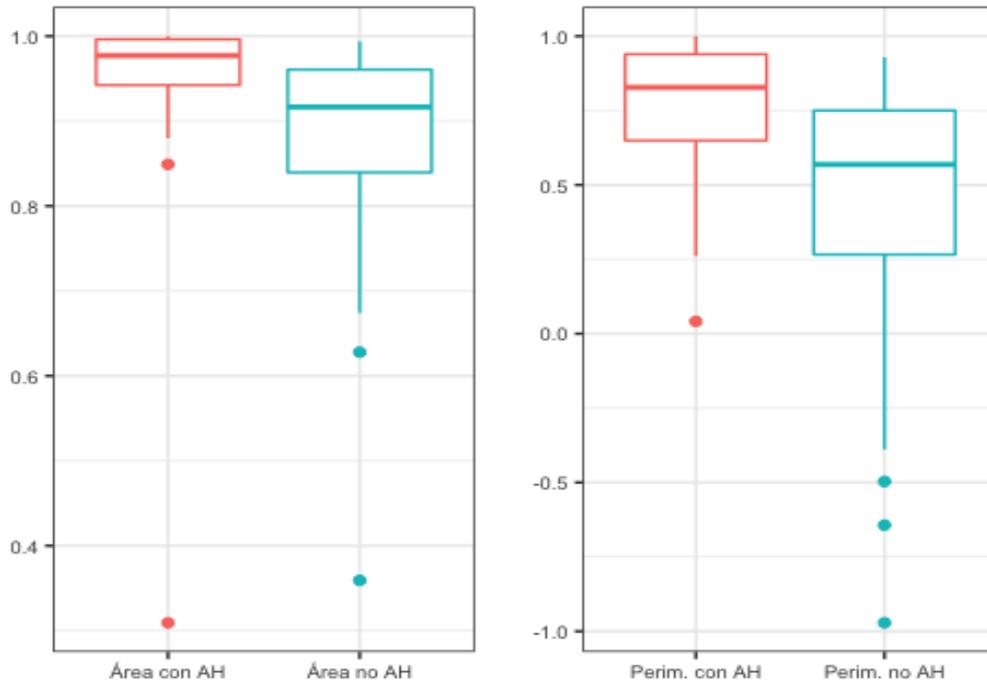


Figura 22. Boxplots zonas epitelizadas

Respecto a las zonas ya epitelizadas, obtenemos la siguiente tabla:

	Media	Mediana	Rango	Desviación estándar	Rango intercuartílico	Asimetría	Curtosis	Normalidad
Area ah	0.95	0.98	0.31-1	0.1	0.05	-5.48	33.07	0
Area no ah	0.88	0.92	0.36-0.99	0.11	0.12	-2.14	6.27	0
Perime ah	0.78	0.83	0.04-1	0.22	0.29	-1.17	1	0
Peri no ah	0.58	0.62	0.02-0.93	0.26	0.3	-0.62	-0.57	0.02

Tabla 14. Zonas epitelizadas

La relación entre las zonas epitelizadas y la edad se puede ver en los gráficos siguientes. Como se puede observar no existe relación significativa entre la proporción de área o perímetro cicatrizado y la edad de los pacientes.

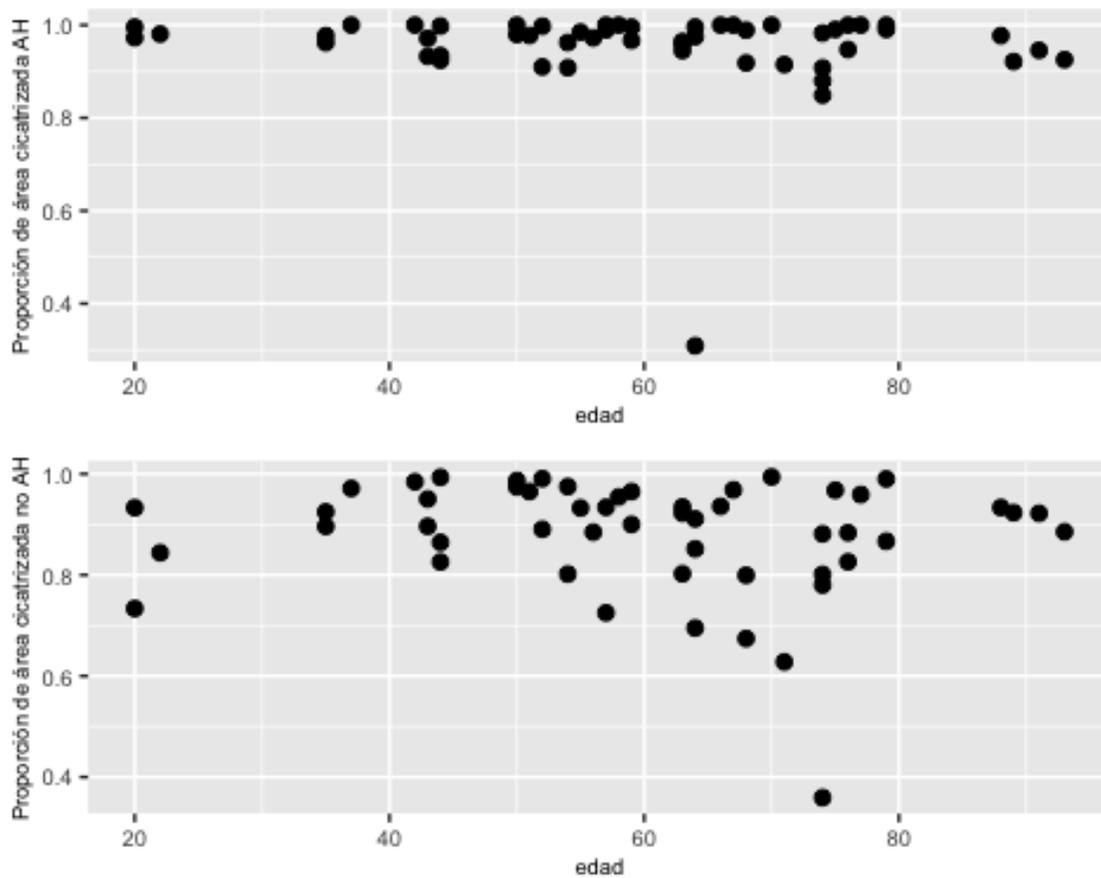


Figura 23. Diagrama de dispersión que representa la proporción de área cicatrizada según la edad

En los siguientes gráficos se puede ver la distribución del área y perímetro de las zonas donantes así como de las zonas tratadas con diferente tratamiento y de las zonas pendientes de epitelizar en el momento de la revisión.

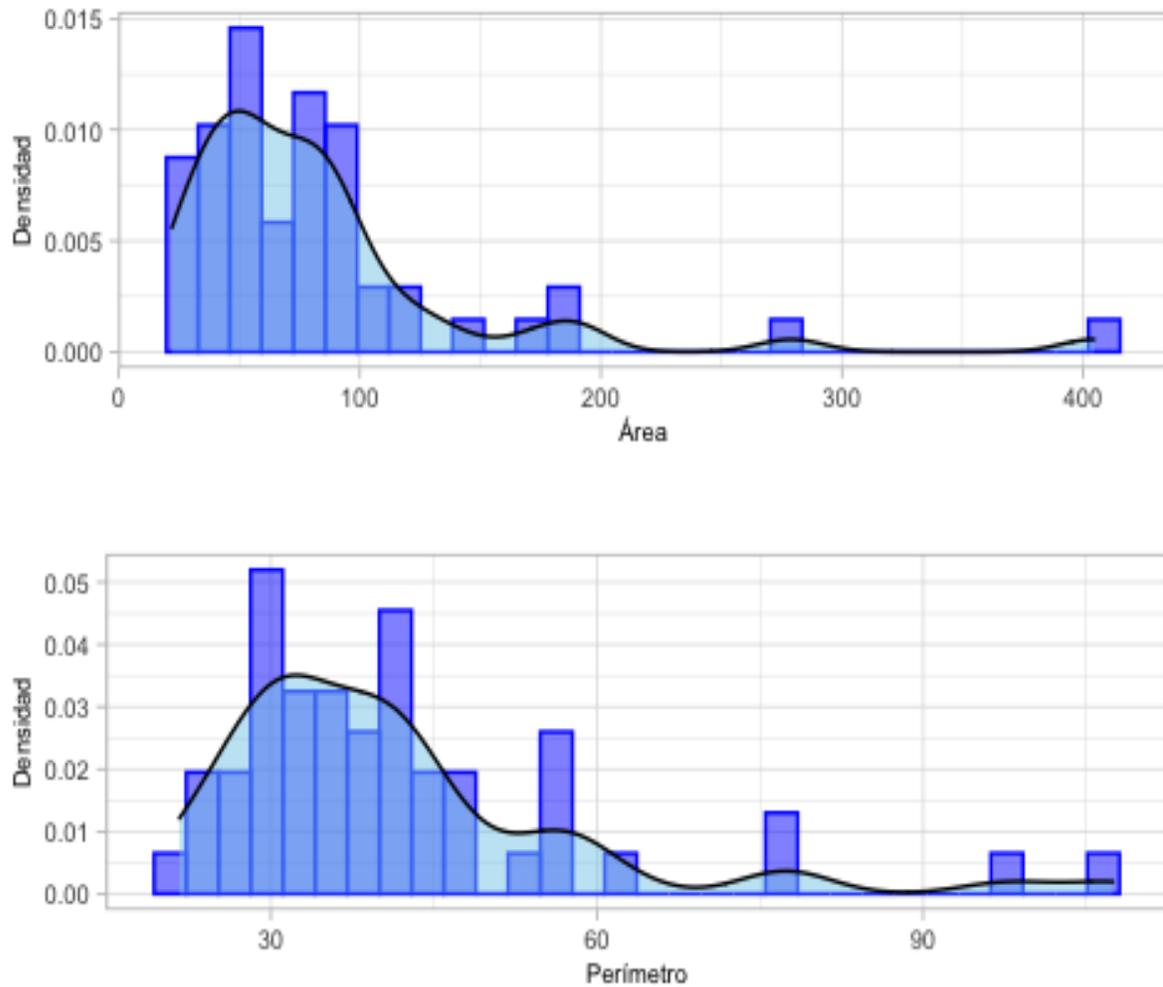


Figura 24. Histograma representa áreas y perímetros de las zonas donantes

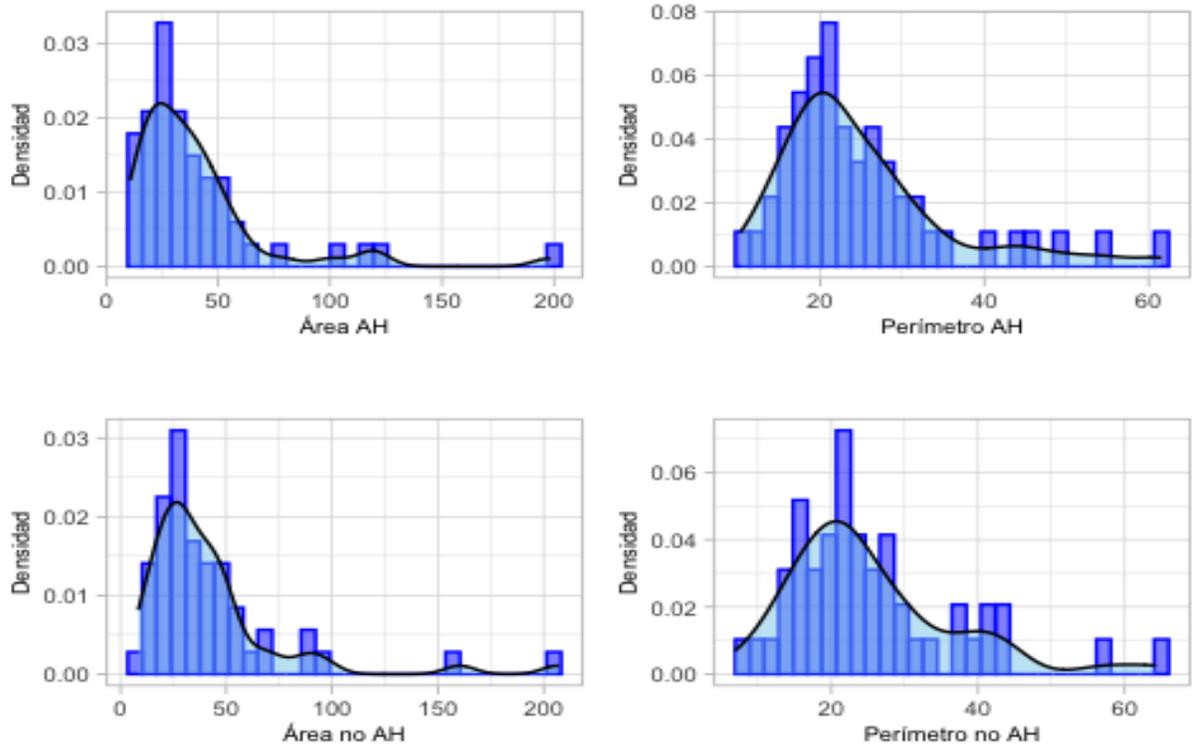


Figura 25. Histograma de áreas y perímetros que tiene AH frente a las que no lo tienen

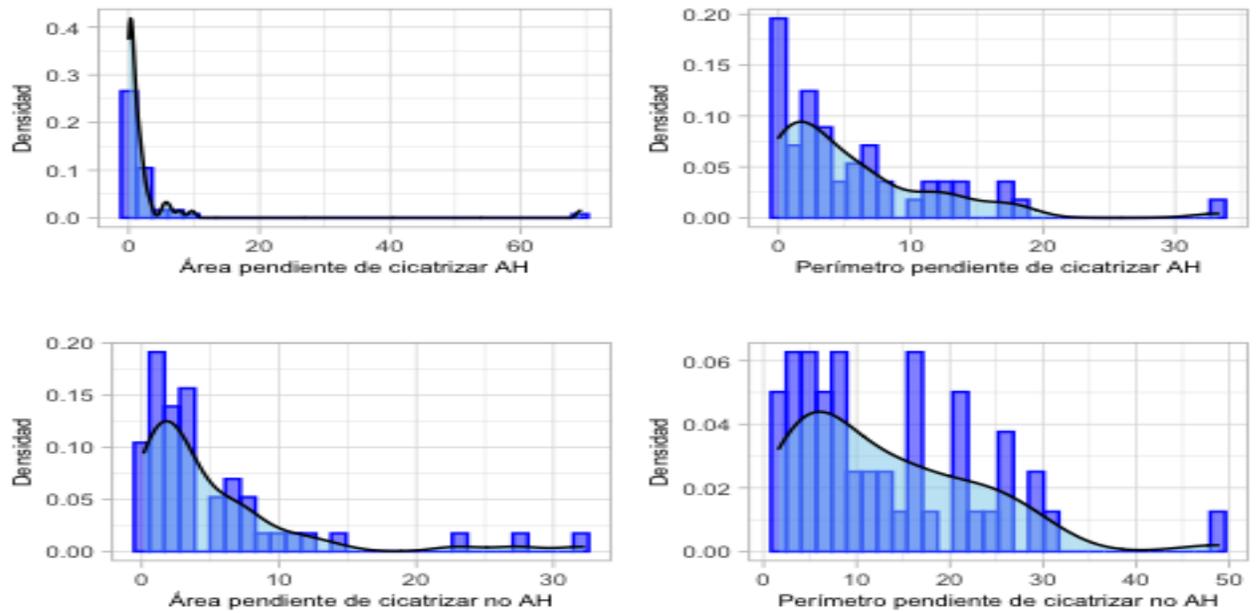


Figura 26. Histograma áreas y perímetros pendientes de cicatrizar las que llevan AH arriba frente a las que no lo llevan.

Las figuras siguientes muestran la diferencia en la distribución de la proporción de área de las zonas epitelizadas tratadas con AH según se tenga en cuenta la situación (arriba o abajo), el sexo o el uso de antiagregantes. En las dos primeras no se ve diferencia puesto que ambas distribuciones se solapan. Sin embargo, en el caso de los antiagregantes, se aprecia diferencia siendo mayor el porcentaje en el caso de ausencia de uso de antiagregantes.

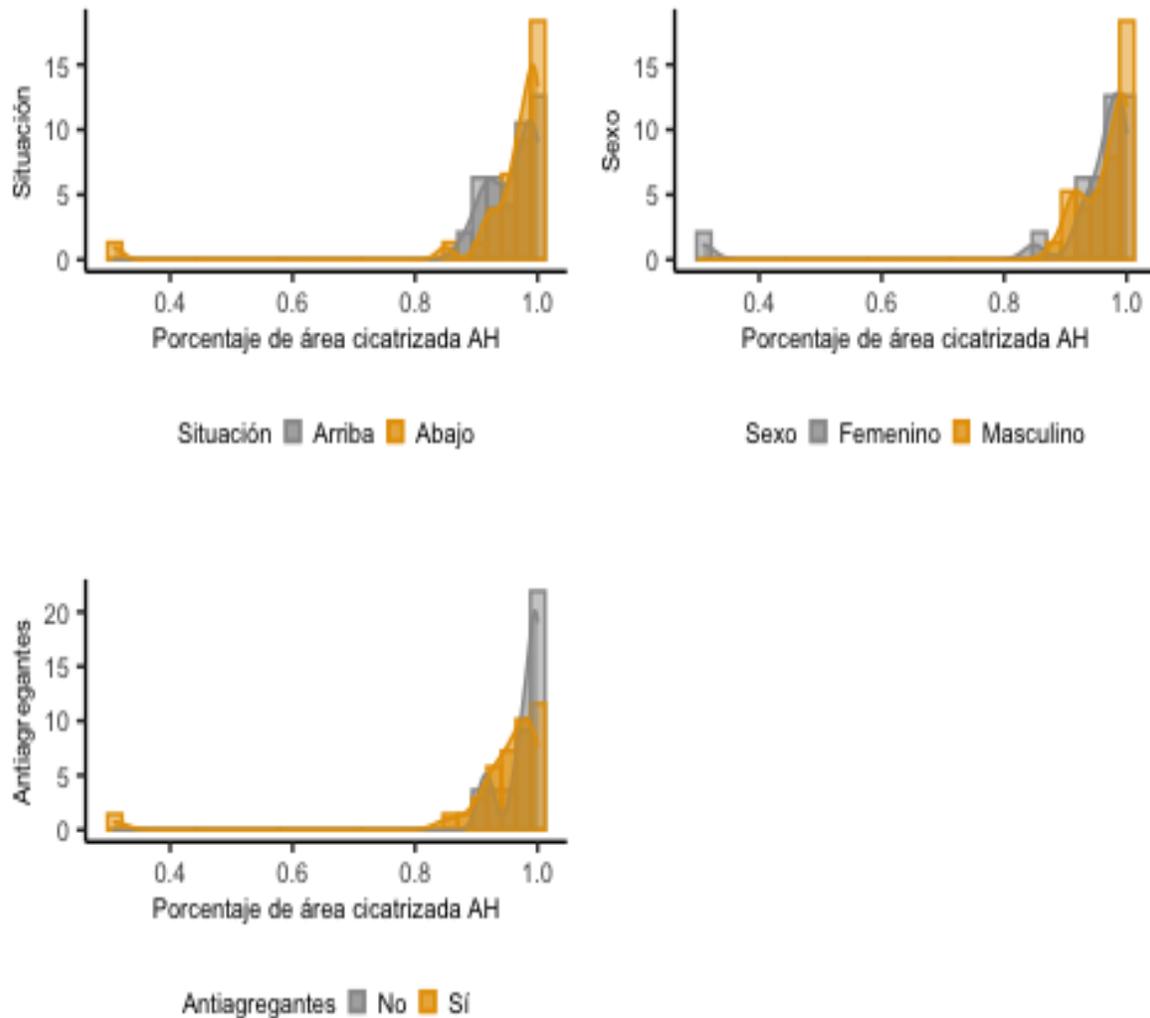


Figura 27. Histograma representando áreas epitelizadas con AH dependiente de la situación del AH, del sexo y del uso de antiagregantes

4.3 Valoración del dolor

Para responder a las hipótesis de si hay diferencias en el dolor según escala EVA medida con los cambios de apósito en el momento de realizar la cura, se utilizó nuevamente el test de Wilcoxon con un nivel de significación de 0.05. Los resultados se pueden observar en la siguiente tabla:

	W	P valor
EVA	0	0.0000000

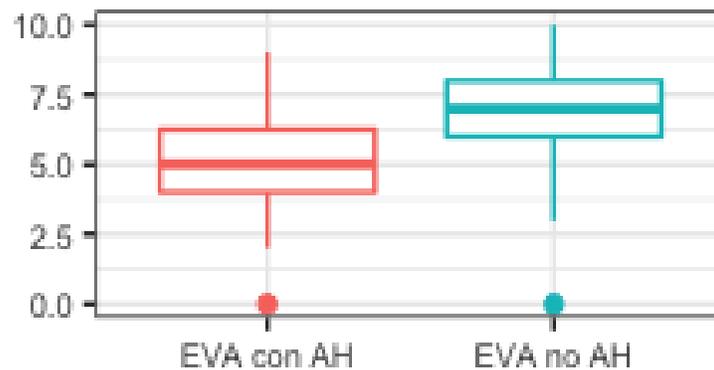


Figura 28. Bloxplots Escala de dolor zonas donantes

A continuación se puede observar la distribución de la escala EVA en ambos tipos de zonas así como su distribución teniendo en cuenta la variable sexo.

Se observaron valores más altos en la escala EVA en pacientes masculinos, respecto a los femeninos.

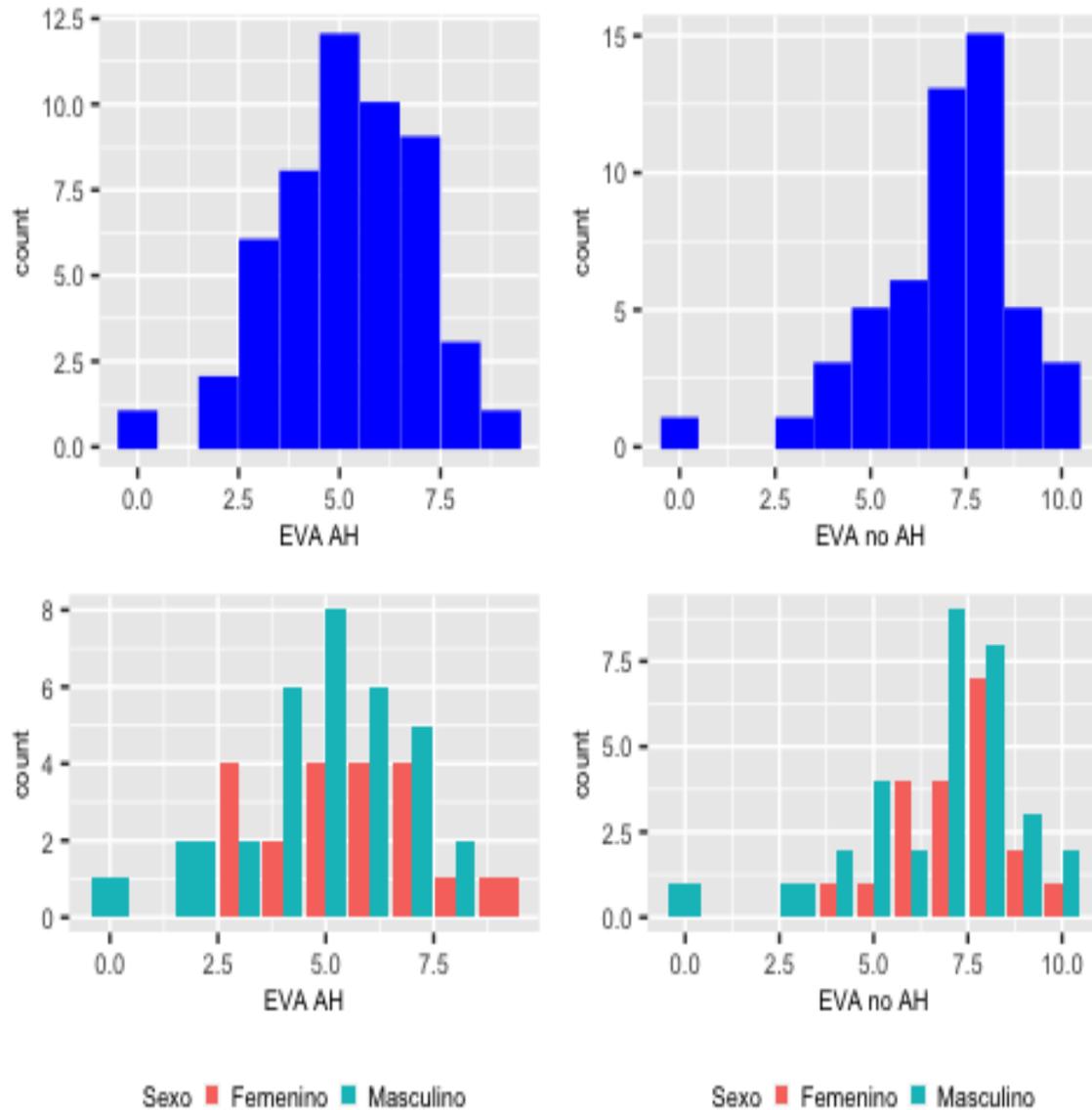


Figura 29. Diagrama de barras escalas de dolor EVA en zonas con AH y sin distribuidos por sexos.

Para responder a las hipótesis de si hay diferencias en el dolor según escala EVA y diferencias en el aspecto de la cicatriz valorada con la escala Vancouver se utilizó nuevamente el test de Wilcoxon con un nivel de significación de 0.05. Los resultados se pueden observar en la siguiente tabla:

	Correlación	P valor
AH	0.15	0.28
No AH	0.30	0.03

Tabla 15 Valores EVA comparados con VSS

Como se puede apreciar, en el caso de las zonas tratadas con ácido hialurónico la relación no es estadísticamente significativa pero sí lo es en la caso de las zonas no tratadas. Podemos observar estos resultados en el siguiente gráfico de correlaciones donde valores con tonalidades azul oscuro indican una relación fuerte y directa.

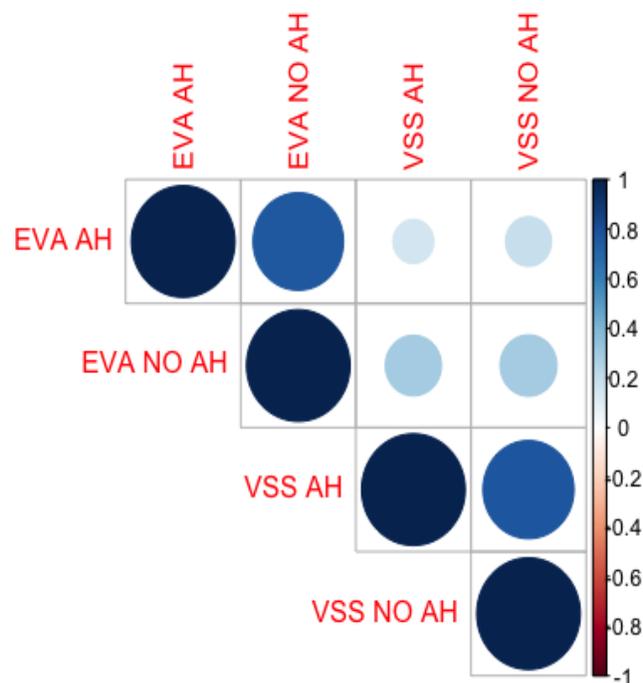


Figura 30. Gráfico de correlaciones escala EVA con escala Vancouver en las zonas tratadas y no tratadas con AH.

4.4 Efectos adversos y tasa de Infección

En ninguna de las zonas donantes tratadas se observó ninguna reacción adversa, al igual que ningún proceso infeccioso, independientemente de si llevaban ácido hialurónico o no. Por lo tanto, no se observaron diferencias estadísticamente significativas respecto las reacciones adversas o los procesos infecciosos.

4.5 Calidad de la cicatrización

Para evaluar las contrastes existentes en el aspecto de la cicatriz mediante la escala de Vancouver se utilizó nuevamente el test de Wilcoxon con un nivel de significación de 0.05, como se muestra en la siguiente tabla:

	W	P valor
Pliabilidad	25	0.0000344
Altura	0	0.0000717
Vascularización	186	0.2785129
Pigmentación	0	0.0000002
Total	90	0.0000006

Tabla 16. Valores de los parámetros de la escala de Vancouver

Como se puede apreciar, excepto vascularización, todas son altamente significativas. Por lo tanto, existen diferencias en el aspecto de la cicatriz, tomando valores significativamente más pequeños en las zonas tratadas con ácido hialurónico. Este resultado se puede observar también mediante los boxplot que se representan a continuación.

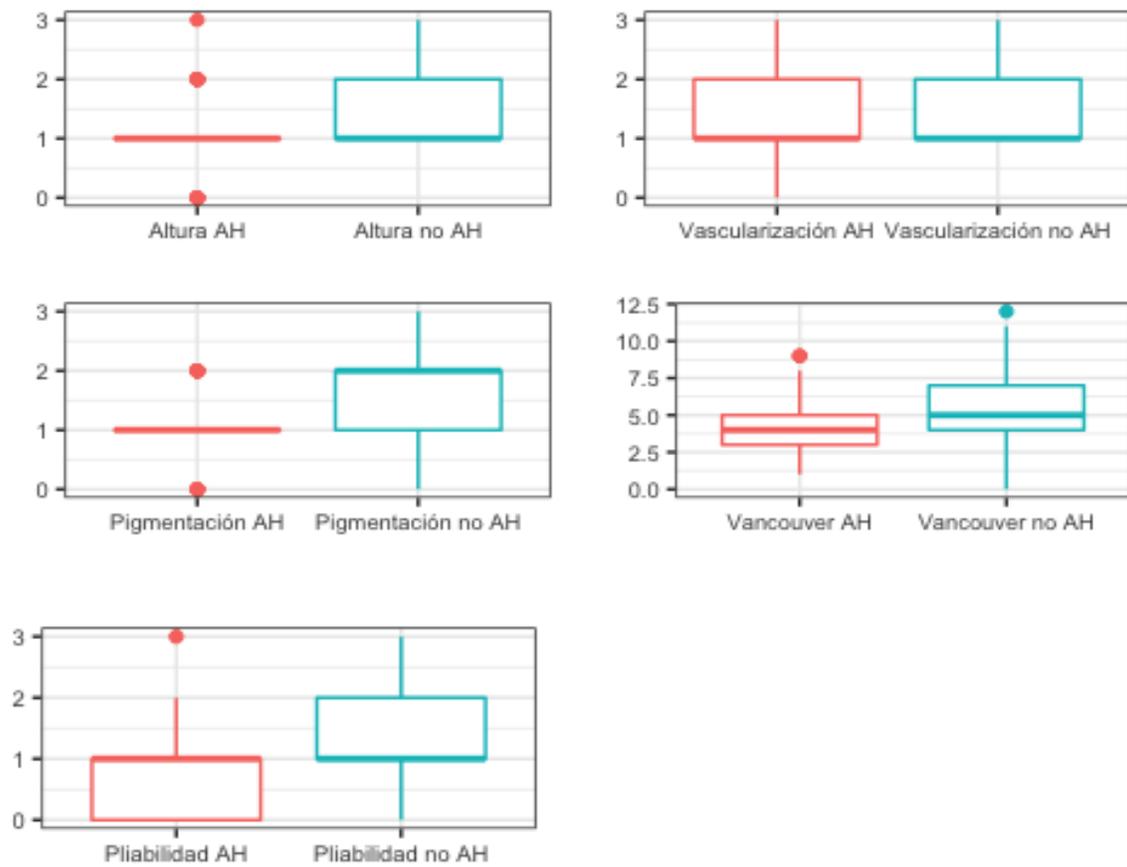


Figura 31. Bloxplot . Parámetros valorados en la escala de Vancouver

Este análisis se complementó con el estudio de las distribuciones de estas variables teniendo en cuenta el sexo y la situación de la zona tratada con AH.

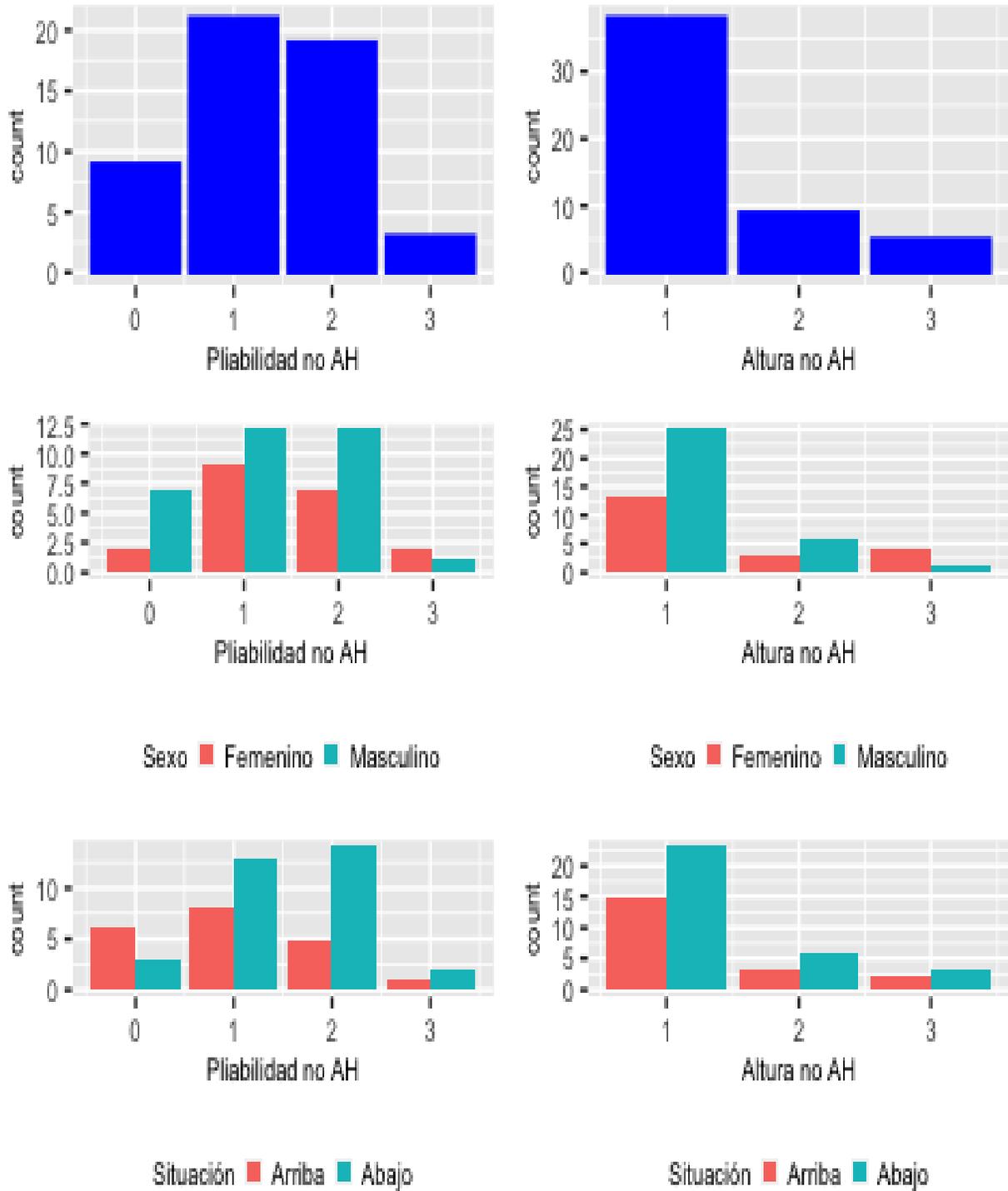


Figura 32. Diagrama de Barras .Parámetros de la escala de Vancouver en zonas no tratadas con AH distribuidos por sexo.

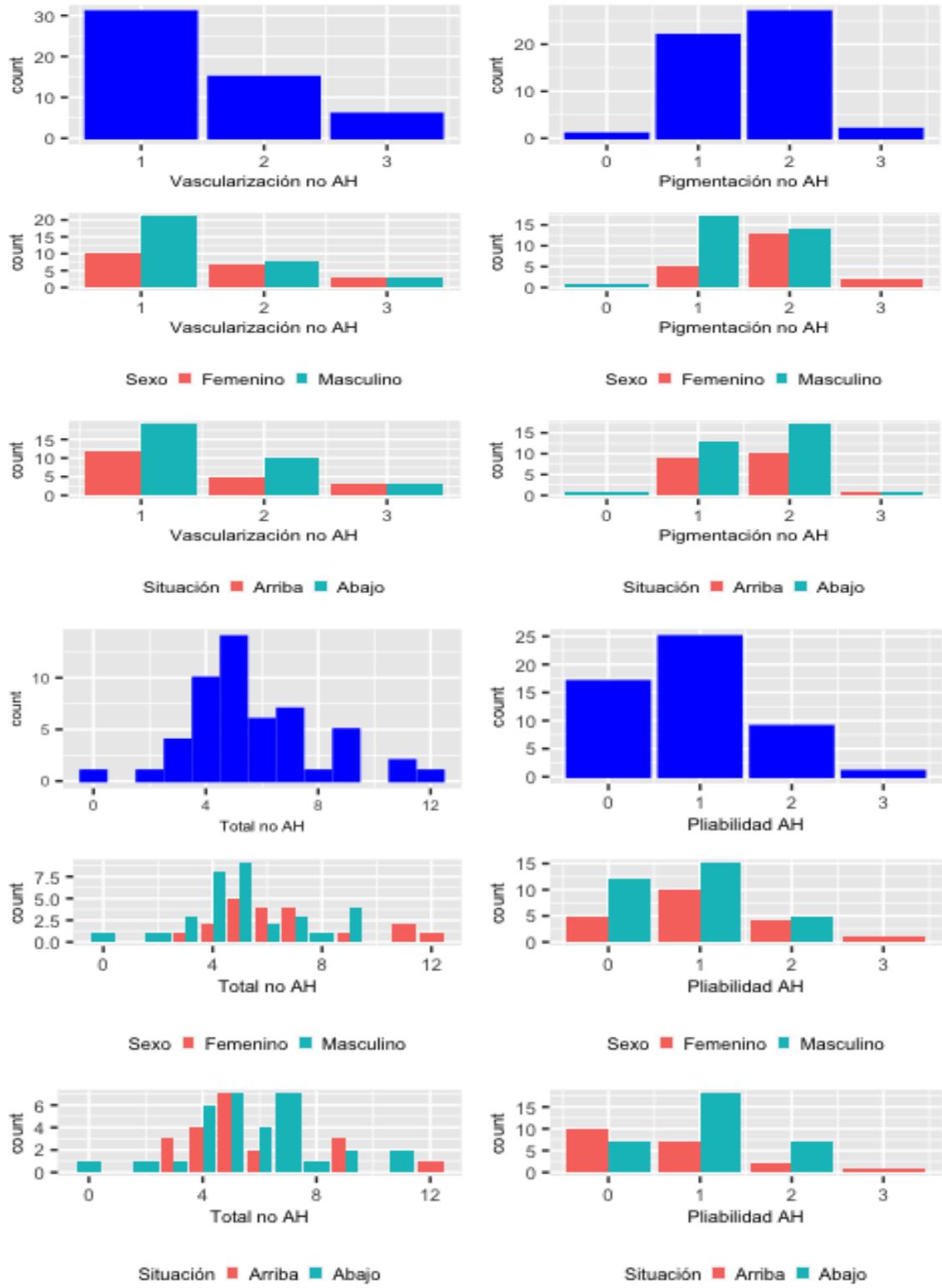


Figura 33, Diagrama de barras, parámetros de la escala de Vancouver en zonas no tratadas con AH distribuidos por sexo

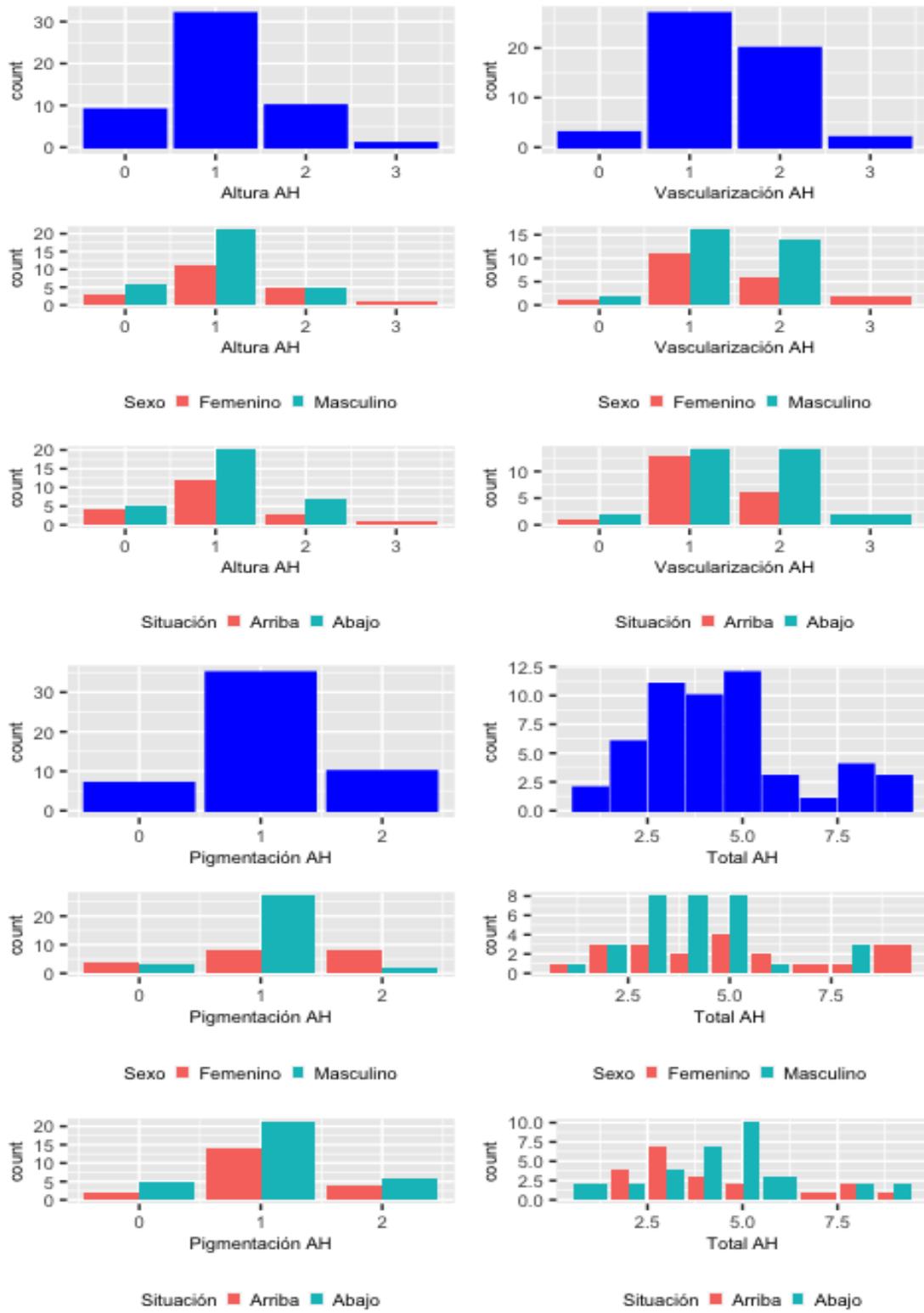


Figura 34, Diagrama de Barras, Parámetros de la escala de Vancouver en zonas tratadas con AH distribuidos por sexo

4.6 Situación del Ácido Hialurónico

También se comprobó si la situación de la zona tratada con ácido hialurónico (superior o inferior) era significativa para la rapidez de la cicatrización. Como se puede observar, no existen evidencias que hagan pensar que la situación influya en la rapidez de la cicatrización.

	W	P valor
Área	289	0.5643561
Perímetro	246	0.3735297

Tabla 17. Situación del ácido hialurónico según área y perímetro cicatrizado

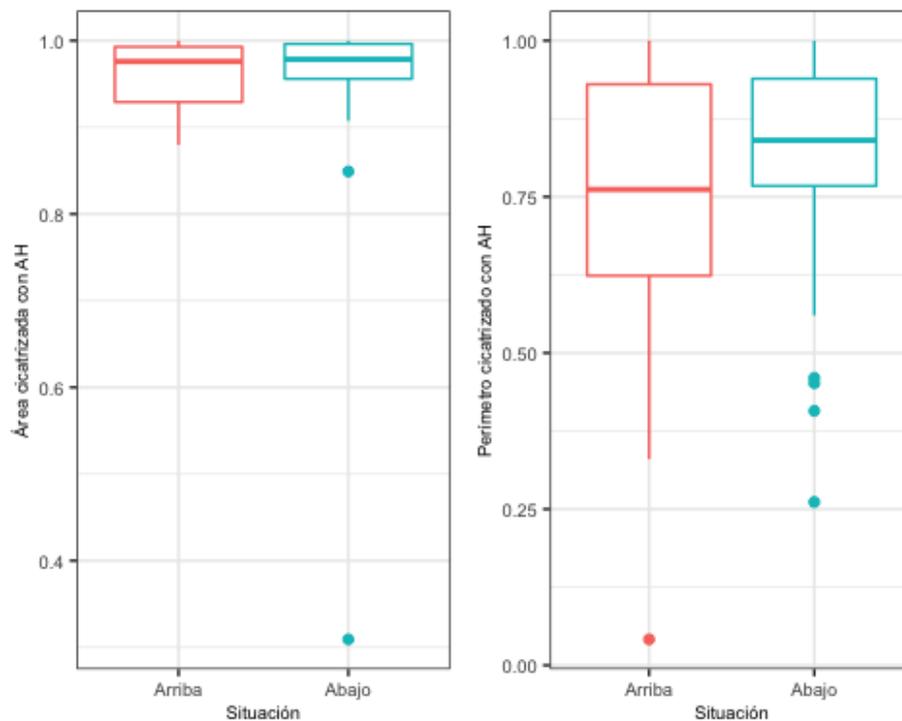
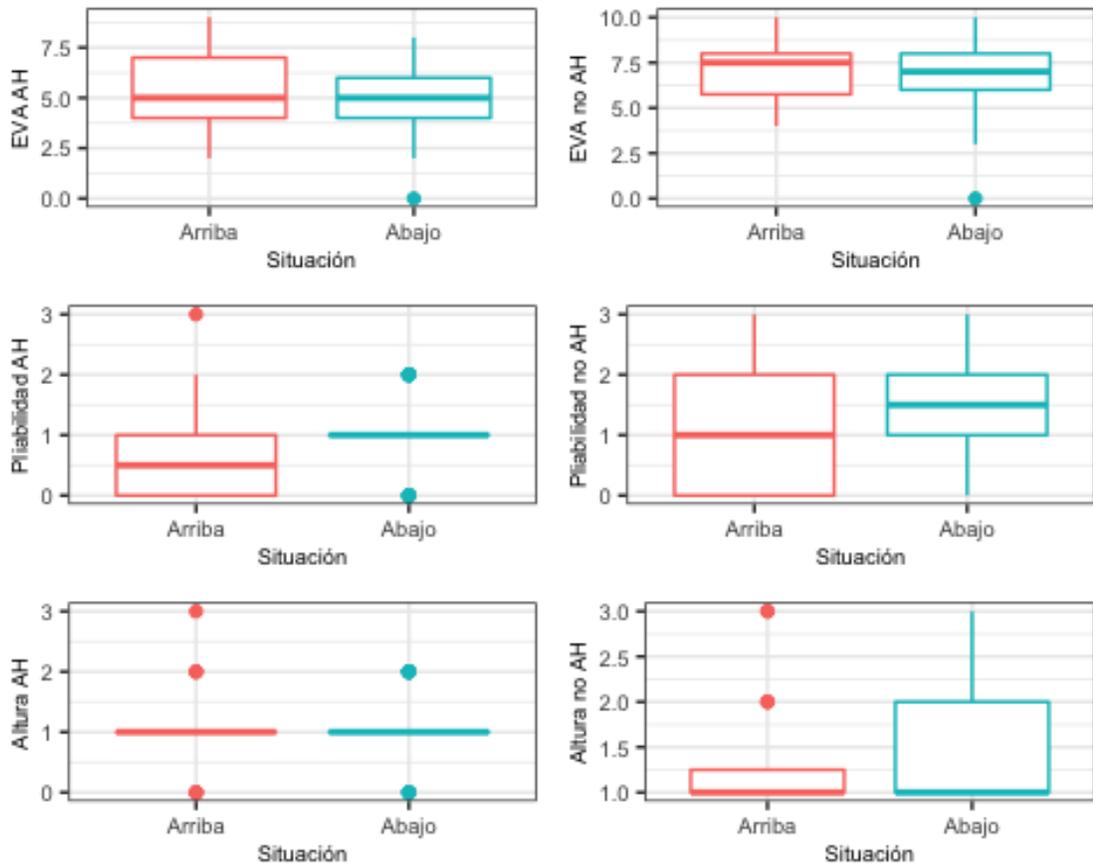


Figura 35. Bloxplot. Diferencias en el aspecto de la cicatriz según la situación de la zona tratada

Analizando si la situación, influye en los aspectos de la cicatrización (Escala Vancouver) no se encontraron evidencias para afirmar que existen diferencias según la zona tratada se sitúe arriba o abajo.

	W	P valor
Pliabilidad AH	236.0	0.0882995
Altura AH	307.5	0.7950405
Vascularización AH	256.0	0.1826293
Pigmentación AH	338.0	0.6910175
Total AH	245.5	0.1573891
Pliabilidad no AH	231.0	0.0760388
Altura no AH	311.5	0.8464667
Vascularización no AH	325.5	0.9142550
Pigmentación no AH	324.0	0.9407524
Total no AH	274.0	0.3844711



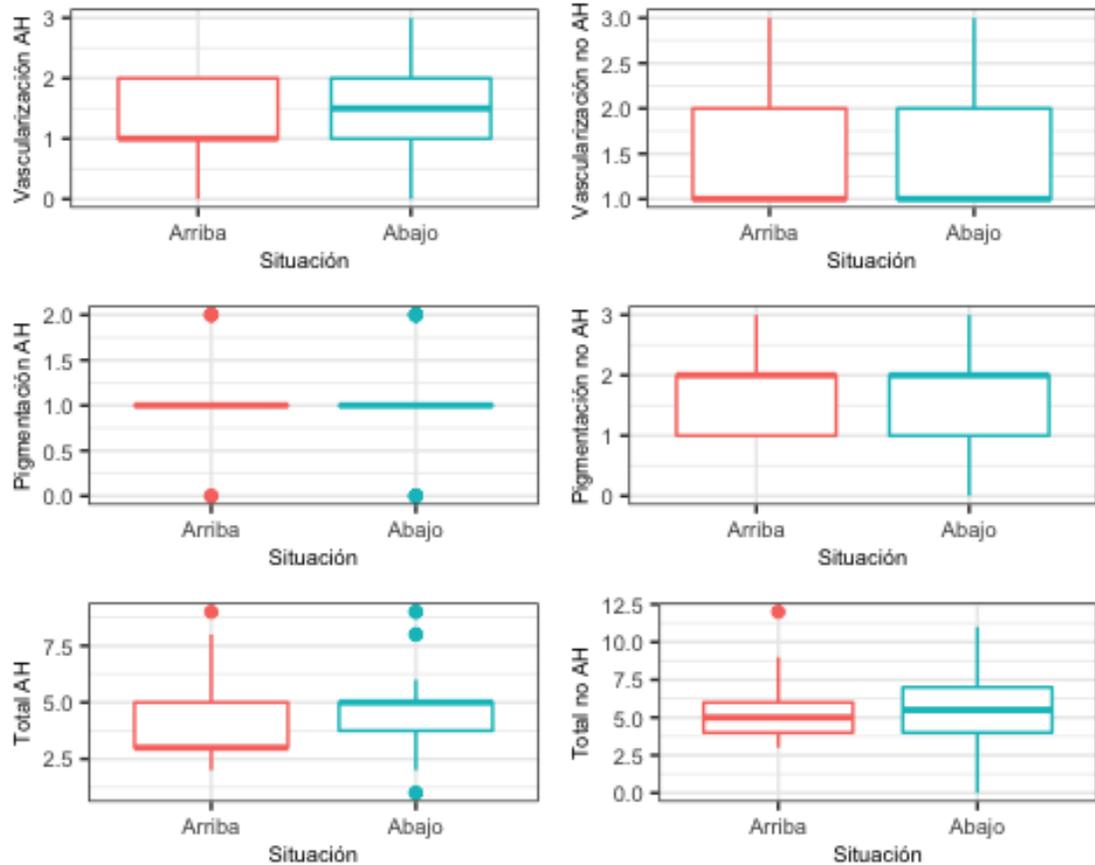


Figura 36. Bloxplot valores de la escala de Vancouver comparando zonas tratadas con AH y zonas no tratadas

4.7 Valoración de otros factores

A continuación, se comprobó si existían diferencias en la cicatrización en la zona tratada con ácido hialurónico según el paciente presentase como comorbilidad: Hipertensión, Diabetes Melitus, Insuficiencia vascular, si era bebedor o fumador, y si estaba en tratamiento con corticoides, antiagregantes y si la etiología de la cirugía de cobertura era por quemadura, reconstructiva, traumatismo o úlcera crónica.

	W	P valor
HTA área AH	286	0.3480035
HTA perímetro AH	238	0.2228891
HTA área no AH	289	0.3824725
HTA perímetro no AH	258	0.7585998
DM área AH	253	0.5433049
DM perímetro AH	202	0.8711816
DM área no AH	293	0.1347802
DM perímetro no AH	211	0.5133088
I.Vascularárea AH	373	0.3211315
I.Vascularperímetro AH	297	0.6047963
I.Vascular área no AH	404	0.1169180
I.Vascular perímetro no AH	320	0.1547337
Bebedorárea AH	114	0.1344576
Bebedorperímetro AH	113	0.1956193
Bebedorárea no AH	125	0.2333506
Bebedorperímetro no AH	108	0.2118503
Fumadorárea AH	391	0.2602241
Fumadorperímetro AH	332	0.4461182
Fumadorárea no AH	333	0.9634002
Fumadorperímetro no AH	251	0.6933641
Corticoidesárea AH	135	0.5534421
Corticoidesperímetro AH	156	0.8070514
Corticoidesárea no AH	132	0.5108697
Corticoidesperímetro no AH	120	0.9381031
Antiagreárea AH	460	0.0196779
Antiagreperímetro AH	396	0.0464665
Antiagreárea no AH	453	0.0274617
Antiagreperímetro no AH	374	0.0249343
Quemaduraárea AH	290	0.6261910
Quemaduraperímetro AH	275	0.5114577
Quemaduraárea no AH	321	0.2642302
Quemaduraperímetro no AH	247	0.5487994
Reconstárea AH	246	0.6860765
Reconstperímetro AH	180	0.3318888
Reconstárea no AH	199	0.1720542
Reconstperímetro no AH	172	0.3650848
Trauma área AH	261	0.7454122
Trauma perímetro AH	231	0.7638232
Trauma área no AH	245	0.5221554
Trauma perímetro no AH	202	0.6638100
Crónicaárea AH	164	0.7694909
Crónicaperímetro AH	169	0.9025709
Crónicaárea no AH	201	0.5413865
Crónicaperímetro no AH	170	0.7076705

Tabla 18. Relación cicatricación con otros factores

Como se puede ver tanto en la tabla como en los gráficos siguientes, no existen evidencias para afirmar que los diferentes factores estudiados afectan a la cicatrización.

Si se observa resultado estadísticamente significativo con el uso de antiagregantes. Como vemos representado en los bloxplot de abajo.

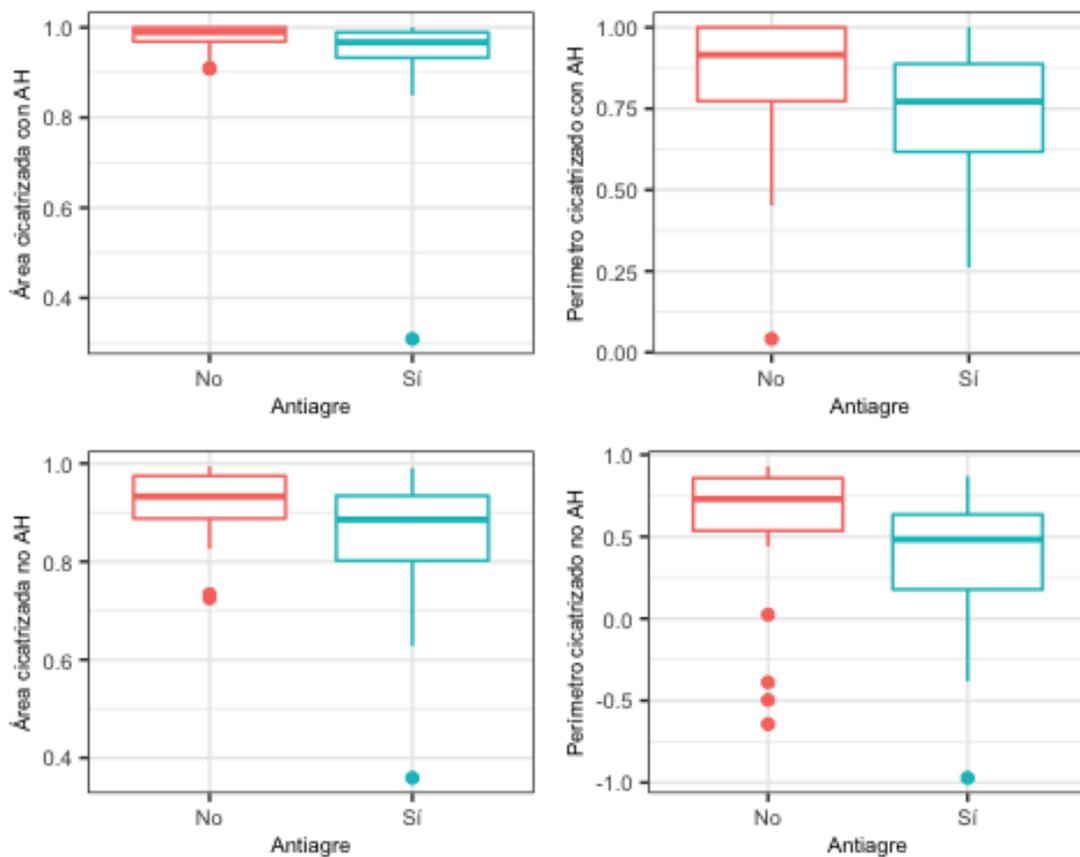


Figura 37. BloxplotAntiagregantes y cicatrización

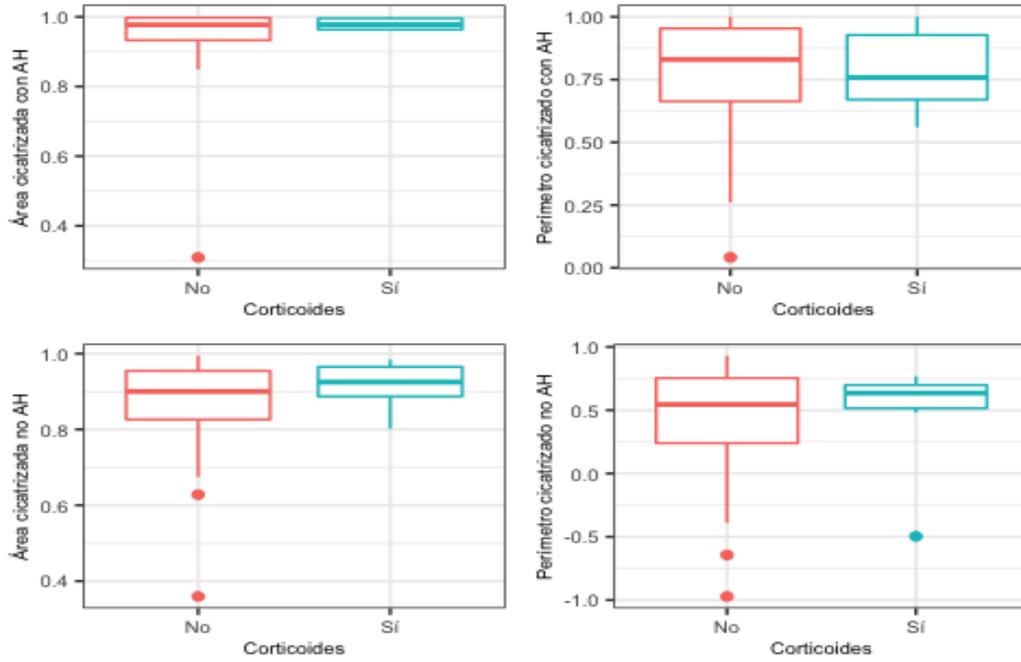


Figura 38. Bloxplot Corticoides y cicatrización

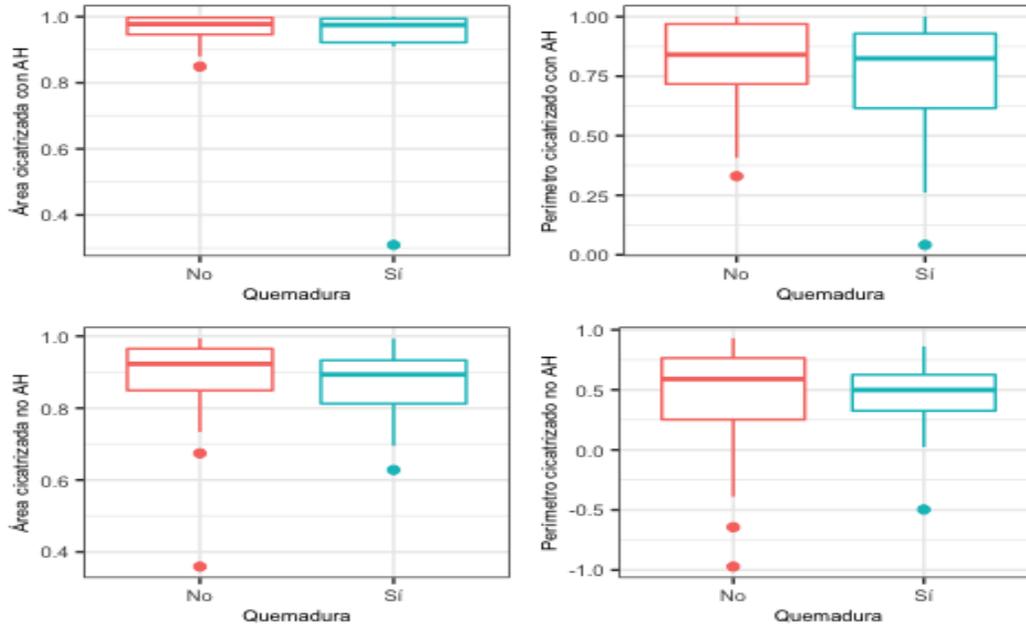


Figura 39. Bloxplot quemadura y cicatrización

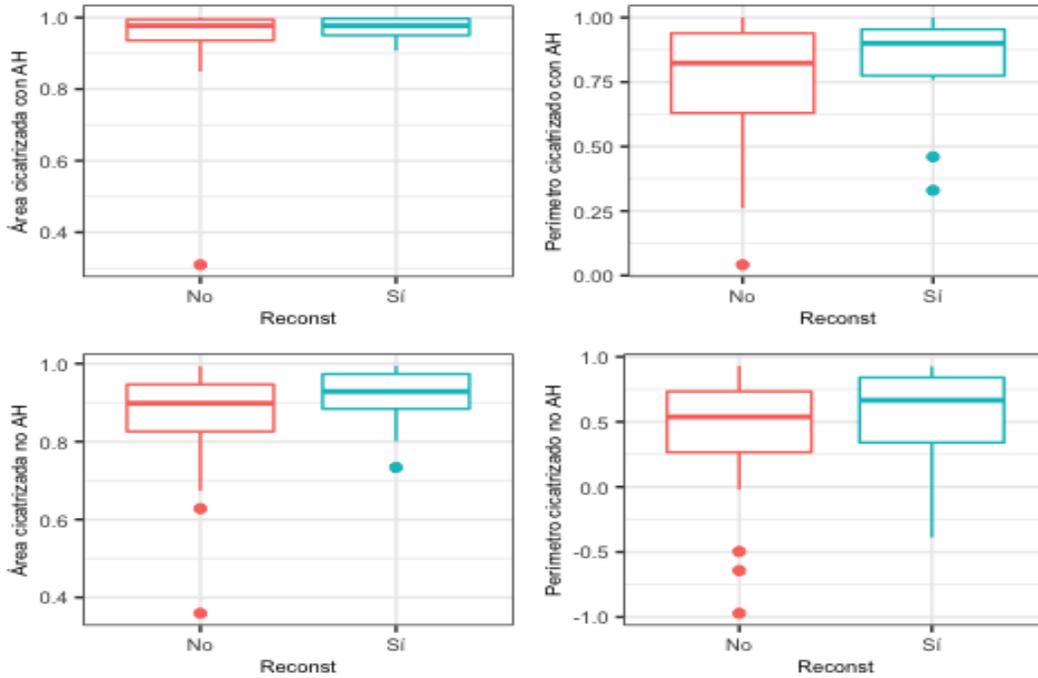


Figura 40. Bloxplot causa cirugía reconstructiva y cicatrización

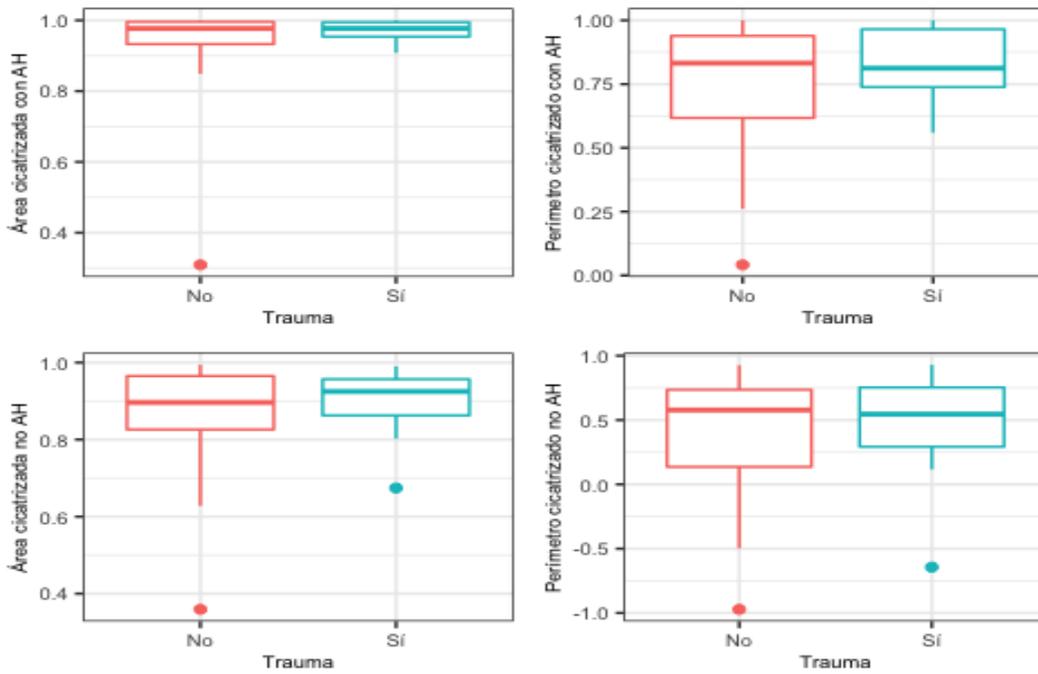


Figura 41. Bloxplot causa traumatismo y cicatrización

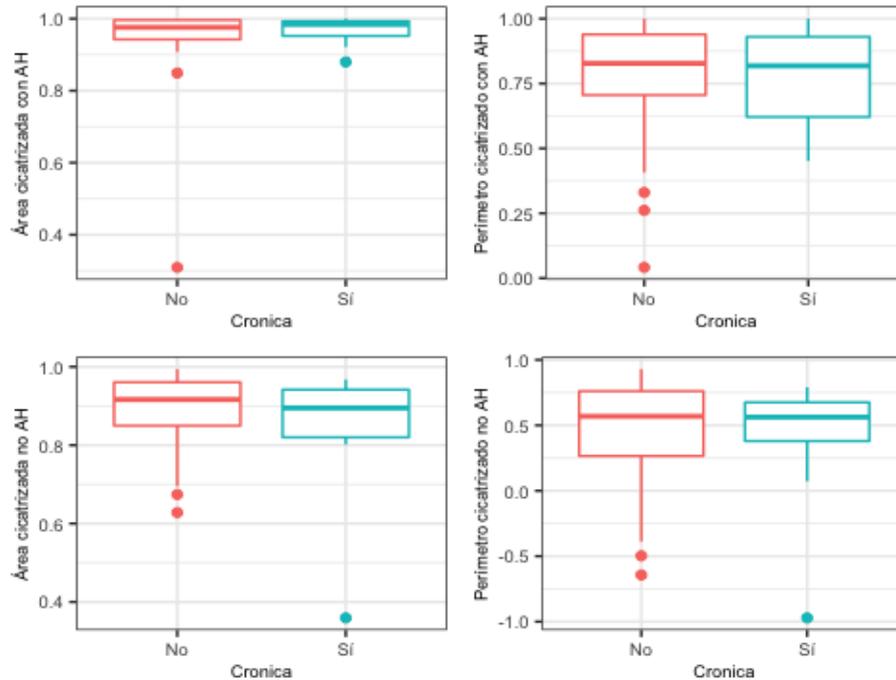


Figura 42. Bloxplot causa úlcera crónica y cicatrización

Por último, se analizan las relaciones del área y el perímetro de cicatrización en la zona tratada con ácido hialurónico y las variables edad, leucocitosis, hemoglobina, hematocrito, neutrófilos, plaquetas, creatinina, albúmina, proteínas totales y glucosa. En la siguiente tabla se muestran las correlaciones de Pearson entre dichas variables. Como se puede apreciar, no existen relaciones significativas.

	Área AH	Perímetro AH
edad	-0.0841429	0.0460775
Analit	-0.0399443	0.0296704
HB	-0.0346452	-0.1137398
hematocrito	-0.0625219	-0.0721749
neutr	-0.0577105	-0.0270239
plaq	0.1591212	0.1078944
cratinina	0.0775283	0.1869757
alb	0.1740605	0.0524461
prottotales	0.3013937	0.1122525
Gluc	0.0747384	0.0392615

Tabla 19. Valores analítica en relación al perímetro y al Area con AH

Estos resultados se pueden ver representativamente en el siguiente gráfico de correlaciones donde valores con tonalidades azul oscuro indican una relación fuerte y directa y valores con tonalidades granate oscura indican una relación fuerte e indirecta.

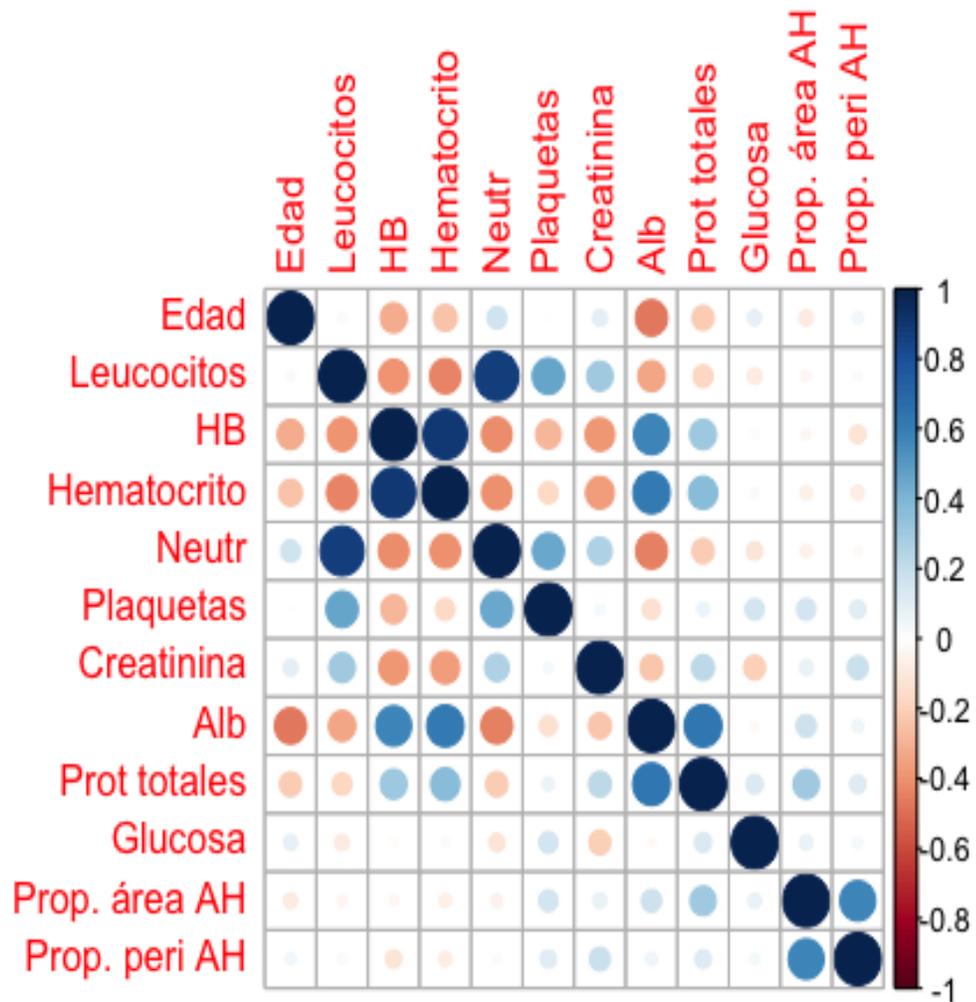


Figura 43. Gráfico de correlaciones de las principales variables utilizadas en el estudio.

5. Discusión

5.1 Cicatrización de zonas donantes

En nuestro estudio clínico, la evaluación comparativa de una zona donante curada con AH en forma de sal sódica y otra solamente con plata nanocrystalina, demostró mayores porcentajes, estadísticamente significativos en la epitelización de zonas donantes.

Las áreas medias de las zonas tratadas con AH fueron de 40.46 cm² frente a los 42.13 cm² de las áreas tratadas solamente con Acticoat®, y las áreas pendientes de epitelizar en la zona del AH fueron de 2.7 cm² frente a los 5.1 cm² del Acticoat®, siendo estadísticamente significativo $p \leq 0.005$ para el test de Wilcoxon, con lo que podemos afirmar que el AH mejoró la cicatrización de las zonas donantes cuando lo añadimos al Acticoat®.

Esto puede ser debido a tres mecanismos: uno son las propiedades biológicas que el AH aporta en el proceso de cicatrización, otro a que el AH mantendría un ambiente hidratado de la herida y el último, a que el AH podría inhibir o disminuir la citotoxicidad de la plata que retrasaría la cicatrización como afirman los trabajos que usan una combinación de plata y ácido hialurónico^{264,265,201}

5.1.1 El papel del ácido hialurónico

A nivel celular el AH es el primer componente de la matriz extracelular que aparece a altas concentraciones en la lesión en proceso de reparación, y que modula todas las fases de curación de una herida. En las heridas cutáneas abiertas, el contenido de AH aumenta precozmente, cae entre el día 5 y el día 10, y posteriormente

permanece en niveles constantes²⁶⁶. Similar al planteamiento desarrollado en nuestro estudio, donde la aplicación de ácido hialurónico en forma de sal sódica al 1% se llevó a cabo en el momento de realización de la herida, rememorando al proceso fisiológico de cicatrización.

En las fases iniciales de formación de tejido de granulación, los fibroblastos depositan una matriz de fibronectina y AH que facilita la migración y proliferación celular y posteriormente forman una matriz de colágeno y proteoglicanos que aumenta la resistencia tisular. El AH actúa como matriz para soportar y guiar la subsiguiente migración de las células epiteliales, aparece en los momentos de movimiento celular y mitosis, y desaparece cuando comienza la diferenciación. Su papel en la motilidad celular puede ser doble. De una parte, puede modificar la adhesión de la membrana celular y la matriz extracelular durante el movimiento de la célula²⁶⁷ y de otra, se puede convertir en una estructura extraordinariamente hidratada, creando un espacio adicional entre el colágeno o las células, facilitando su movimiento. Además el AH incrementa las respuestas fagocitarias de los macrófagos que liberan los factores de crecimiento del tejido conectivo durante la fagocitosis⁷⁴.

Vistas las propiedades del AH en la fisiología de la curación de las heridas⁷, parece lógico pensar que su aplicación tópica resulte un estímulo para la reparación tisular. La capacidad para modular la reparación de tejidos adultos y hacerlos más parecidos a los fetales, más ricos en AH, por eso parece ser un buen camino para reducir la formación de cicatrices en la curación de las heridas, como hemos observado en nuestro propio estudio. Diversos trabajos han evaluado estos efectos desde un

punto de vista experimental, clínico e histológico^{70,39} obteniendo resultados similares a los nuestros.

Así, los trabajos in vitro e in vivo demuestran que el AH aumenta el movimiento de fibroblastos en una esponja de colágeno durante la fase temprana de la curación²⁶⁸. Igualmente, la piel artificial enriquecida con AH aumenta la velocidad de formación del tejido de granulación²⁶⁹ y también la aplicación tópica de AH en heridas de rata produce un aumento de la migración y diferenciación epitelial con menor tejido fibroso⁸⁸.

Existen diferentes líneas de investigación que sugieren que el AH puede estimular la división celular, actuando en la fase de proliferación celular⁸. Este tipo de estudios muestran un aumento del número de queratinocitos en la capa córnea tratada con AH respecto a los controles, siendo un estímulo para su proliferación por parte del AH²⁷⁰. Otro estudio de úlceras avasculares en orejas de conejo demostró que añadiendo ácido hialurónico estimuló 2.50 +/- 0.22 mm la migración de tejido de granulación en el 7º día (P <0.05), actuando el AH como inductor de factores de crecimiento²⁷¹.

Hoy día se sabe, que existen diferentes tipos de AH dependiendo de la longitud de su cadena. El AH fragmentado mejoraría las respuestas inflamatorias e inmunoestimuladoras²³². Se ha visto que pueden jugar un papel importante modulando la expresión de citoquinas, con actividades antiinflamatorias, indicando la capacidad para prevenir un estado inflamatorio crónico de la misma. Sin embargo, los fragmentos de cadena larga, perpetuarían la fase inflamatoria de las heridas.

Los AH de cadena corta mejoran significativamente la expresión de TGF-1, que puede promover la cicatrización de heridas mediante la producción de matriz extracelular²⁷², un proceso clave, que contribuye a la activación de la fibrosis para desarrollar la epitelización. Esto demuestra la capacidad de AH para facilitar la síntesis de la nueva matriz de colágeno y el paso a la fase de reepitelización³⁸. En consecuencia, la deposición de colágeno, se eleva significativamente en las heridas, en fases iniciales, después del tratamiento con gel de AH. En nuestro estudio hemos podido objetivar este efecto de forma clínica, observando una mayor proporción de epitelización en las zonas tratadas con AH tópico respecto al control.

Junto con la reepitelización, hay una restauración de la red vascular. Múltiples estudios demuestran que la producción de VEGF y moléculas de adhesión se ha mejorado significativamente por la adición de ácido hialurónico^{273,232}. Además, el marcador de neovascularización CD31 está significativamente regulado por incremento con AH Gel, lo que confirma aún más el papel del AH en facilitar la angiogénesis durante la cicatrización de heridas. Además AH Gel también mejora significativamente la linfangiogénesis, que es evidente con la regulación positiva de LYVE-1 durante la fase proliferativa de la cicatrización de heridas^{274,228}. HA logró estos comportamientos favorables, incluidos la modulación de respuestas inflamatorias y la formación de colágenos extracelulares y el desarrollo de nuevos sistemas vasculares. Este dato era observable al mediar el subparámetro de la vascularización en las escalas de Vancouver donde el AH demostró dicho efecto.

En nuestro estudio, el producto evaluado (AH) evidenció una mejor respuesta con respecto al área epitelizada y al perímetro. Reflejan una media de epitelización por

áreas de 0.95 ± 0.1 en zonas tratadas con Ac hialurónico frente a $0,88 \pm 0.11$ ($p \leq 0.005$) en las no tratadas. Respecto a los perímetros, encontramos medias de 0.78 ± 0.83 en zonas de AH y de $0,58 \pm 0,62$, ($p \leq 0.005$).

Recientemente, estudios experimentales con una combinación de HA con diferentes pesos moleculares y nanopartículas de plata han demostrado una aceleración de la cicatrización de heridas incluso en animales envejecidos y con diabetes²⁷⁵. En heridas de ratones sanos tratados con AH se vio que disminuían la producción de proteínas para TNF α , IL-1 β , IL-17, MMP-13 cuando se administró en una fase inflamatoria temprana²⁷⁶. Los análisis histológicos revelaron un aumento de la neoangiogénesis y linfáticos resultando una mayor producción de granulación, deposición de colágeno y proliferación de fibroblastos¹¹⁴.

En estudios clínicos de úlceras tratadas con hialuronano se observó una disminución media significativa de 4 cm^2 en el área de la superficie de las heridas tratadas después de 3 semanas de uso de ialuset® AH ($p < 0.05$ vs línea de base)^{137,277}.

En una revisión sistemática de la literatura sobre el uso del ácido hialurónico en la cicatrización de heridas clínicas se encontró que los derivados de HA mejoraron significativamente la curación frente a terapias tradicionales o placebo¹³⁴ en úlceras venosas¹³⁶, diabéticas²⁷⁸, neuropáticas donde aumentaban el tejido de granulación¹³ y en quemaduras superficiales y profundas donde se redujo el tiempo de cicatrización media de 14 días a 9.5 días ($p=0.0073$)²⁷⁹..

Sin embargo en la revisión podemos destacar el estudio realizado por Bettinger en zonas donantes de 11 pacientes donde curó zonas donantes con 0,5 ml de AH al 1,5% frente a Glicerina 100% y reportó que las zonas tratadas con esta última epitelizaron a los $9,1 \pm 1,6$ días vs $10,3 \pm 2$ días ($p < 0,05$) con similar resultado cosmético. En este caso, el autor está comparando dos regímenes de curación húmedos similares, la escasa población del estudio con sólo 11 participantes y además la diferencia de cicatrización fue de un escaso periodo de tiempo de 1 día, hace difícil valorar dichos resultados, por eso posiblemente se obtuvieron resultados diferentes a lo que aseguran los estudios anteriores.

En nuestro caso la población estudiada fueron de 53 pacientes, donde comparamos un régimen húmedo como el AH con plata frente a la plata sola que a veces se comporta como semihúmedo, hicieron que obtuviéramos resultados distintos. Además la plata nos aportaría la capacidad antimicrobiana que no tiene el estudio anterior al ser evaluado solamente AH y glicerina. Incluso en el trabajo que presentamos, en 3 pacientes la zona donante mostró epitelización completa en la primera consulta, a los 12 días, en el caso de la zona curada con Ah y plata,

5.1.2 El ambiente húmedo

El segundo factor contribuyente podemos definirlo como el ambiente húmedo. El avance significativo en la cicatrización se produjo con el estudio de Winter²⁸¹ en la década de los 60, que mostró que las heridas ocluidas cicatrizaban mucho más rápido que las heridas secas¹²².

Una función primordial del ácido hialurónico, es la preservación del agua intracelular. Este ambiente impide la apoptosis por deshidratación tisular, beneficia la angiogénesis, la epitelización, la granulación, favorece la remoción de tejido necrótico o desvitalizado, reduce la ocurrencia de infecciones y minimiza los traumatismos locales causados por el procedimiento de sustitución de los apósitos⁵⁴. Las células epiteliales requieren humedad para migrar desde los bordes de la herida a través del lecho para producir tejido de granulación.

Adicionalmente, la acción del AH en la homeostasis favorece la hidratación celular, que posee un efecto positivo en la regeneración tisular. Podríamos decir que el AH atrapa agua en la herida. Esto es importante, ya que los esbozos epiteliales acudirán solamente a los lugares donde el estado de hidratación permita la supervivencia de las células²⁸².

Este entorno de la matriz promueve la cura por regeneración y no por la formación de cicatrices^{123,79}. El mantenimiento de este ambiente es proporcionado por medio de la aplicación de agentes tópicos o coberturas oclusivas que reducen la pérdida de fluidos²⁸³ como en nuestro estudio lo aporta el AH, que crea un espacio celular parecido al del feto (fetallike) que favorece la cicatrización de la lesión de la piel sin fenómeno de contracción, sin cicatrices y con un patrón de colágeno más oxigenizado⁸³. Estas características peculiares son atribuidas a las altas concentraciones de AH observadas en la MEC en el feto⁷⁹.

Para la proliferación y la migración de células epiteliales de manera óptima, se necesita un ambiente húmedo. Este concepto está respaldado por muchos estudios de

cicatrización de zonas donantes de injerto de piel donde las tasas de re-epitelización más rápidas se lograron en ambientes húmedos¹²². En una revisión sistemática donde los nuevos apósitos húmedos (Tegaderm®, Opsite®) se comparaban con los apósitos tradicionales secos, tales como gasa de malla fina (xeroform), gasa vaselinada o Jelonet³ demostraron mejores tasas de curación.

En nuestro estudio se aplicaron 5 ml de ácido hialurónico en forma de sal sódica al 1% en una única aplicación en el momento de la obtención quirúrgica del injerto de piel parcial. Colocado directamente en contacto con el lecho y encima el apósito de plata nanocristalina, con lo cual mantenía un ambiente más húmedo que el solo exudado con el apósito de plata. Posteriormente era vendado en un ambiente estéril que además evitaría que el producto se desecase o evaporase.

Se busca además una liberación de plata sostenida y estable en el tiempo para ser más efectiva como antimicrobiano. Si se vuelve a humedecer, el Acticoat produce una liberación controlada de grupos de cationes de plata sobre la herida²⁸⁴, por lo tanto el ambiente húmedo podría resultar beneficioso también en el control bacteriano. Como en nuestro estudio no presentamos ningún evento infeccioso. Además la presencia de HA puede compensar la pérdida de agua inducida por la plata que conduce a una mejor epitelización y retracción de la herida.

Con el cambio de apósito observamos que el lecho se encontraba más húmedo y sin formación de costras, en aquellas zonas donde añadimos el AH, a pesar del tiempo transcurrido desde su adicción, respecto a las zonas donde se aplicó la plata

solamente. Esta distinción física, hizo que el cambio de apósito fuera más traumático en las zonas que solo llevaban Acticoat®.

5.1.3 La citotoxicidad de la Plata

El tercer parámetro a tener en cuenta, que puede contribuir a nuestros resultados puede ser la citotoxicidad de la plata. La plata tiene propiedades antisépticas, antimicrobianas y antiinflamatorias²⁶². La citotoxicidad de la plata, tanto en iones, como nanopartículas, sigue siendo una preocupación cuando se usa en el tratamiento de heridas²⁸⁴ de gran extensión.

Este metal, en los tejidos puede tener efectos tóxicos sobre los queratinocitos en crecimiento y sobre los fibroblastos¹⁷¹. Estudios in vitro reportaron citotoxicidad de algunos apósitos comerciales que contienen plata (Acticoat®, Aquacel-Ag®, Contreet-H® y Avance®) cuando fueron expuestos a cultivos celulares de queratinocitos¹⁷⁰.

El uso de la plata reduce la actividad de las metaloproteinasas tanto in vitro como in vivo, aunque el mecanismo sigue sin estar del todo claro. Una explicación puede ser el desplazamiento de iones de zinc (de la enzima proteolítica) por los iones Ag⁺ derivados del depósito de nanopartículas en los tejidos de granulación para el cierre eficiente de la herida²⁸⁵. La plata parecía retrasar la cicatrización por eso analizamos diferentes factores que podrían haber sido responsables de este hallazgo.

Una posible explicación de esto era que, al adherirse al lecho, podía resultar en una mayor alteración epitelial en los cambios de apósito. Sin embargo, las diferencias

en la adherencia son poco proclives a explicar nuestros hallazgos, ya que el apósito fue recambiado una vez en la primera cura para valorar la epitelización.

Estudios clínicos con sitios donantes de Acticoat® y Allevyn® idénticos en ubicación anatómica, profundidad y tamaño para evaluar y definir la epitelización demostraron que el papel principal de AgNO₃ parece estimular la formación de una costra en la herida que actuaría como una "epidermis artificial" permitiendo que la cicatrización y la reepitelización ocurriesen por debajo. No hay ningún hallazgo de que se suprimió la epitelización o se retrasó por AgNO₃, simplemente se producía debajo de esa costra²⁸⁶.

La citotoxicidad se correlacionó con la plata liberada de los apósitos, medida por la concentración de plata en el medio de cultivo, en el que se evaluó la proliferación de células epidérmicas, todos los apósitos de plata dieron como resultado un retraso significativo de la reepitelización²⁸⁷, En el modelo de herida por escisión de ratón, Acticoat y Contreet Foam indicaron una fuerte inhibición de la reepitelización¹⁷⁰ de la herida a las 24h. Estos hallazgos pueden, en parte, explicar las observaciones clínicas de la cicatrización de la herida retrasada o la inhibición de la epitelización de la herida después del uso de ciertos apósitos tópicos de plata¹⁷⁰.

Poon y Burd en 2004 advirtieron que el uso de productos de plata donde los queratinocitos proliferan rápidamente como en los sitios donantes, heridas superficiales de espesor parcial y aplicaciones de queratinocitos cultivados indiferenciados están más expuestos a la cictotoxicidad¹⁷⁰.

Del mismo modo, el uso generalizado de AgNO₃ al 0,5% como antimicrobiano tópico en heridas por quemaduras tal como propugna Moyer, generalmente no se asociada con cualquier inhibición conocida de la epitelización. Sin embargo, Moyer declaró en su informe original que la regeneración epitelial parecía estar inhibida cuando la concentración de AgNO₃ era mayor del 1%.

En contra, en un modelo experimental de heridas en cerdos, que afirma que aunque la plata nanocrystalina es citotóxica, no retrasa la curación, y además mejora la calidad del epitelio²⁸⁸ La plata no mostró un efecto tóxico en la producción de tejido de granulación lo que sugiere la compatibilidad de la plata nanocrystalina con los fibroblastos humanos y que podría relacionarse con una mejor curación de las heridas de forma clínica²⁸⁹.

Los apósitos de nitrato de plata deben estar continuamente mojados como AgNO₃ al 0,5% a intervalos de 2 h para evitar la concentración de AgNO₃ a las concentraciones cáusticas (más de 2%) a través de secado. En un ambiente acuoso puro, Acticoat produce una liberación sostenida de plata para mantener una concentración local de iones de plata de 50-100 Mg / l (0,005-0,01%). Por lo tanto, parecería poco probable que se pudieran obtener concentraciones inhibitorias epiteliales. Sin embargo, no está claro si una humectación inadecuada podría permitir que las concentraciones de plata con el secado y la evaporación aumentaran. La concentración real de plata en la superficie de la herida bajo Acticoat® se desconoce, ni se sabe si la concentración de plata varía con el grado de humedad bajo el apósito²⁸⁴. Y si añadiéndole AH, que facilitaría la humedad al apósito, podía mantener más tiempo la concentración de plata en límites no inhibitorios. Varios estudios son los

que concluyen que Acticoat® retrasa significativamente la re-epitelización^{170,286,290}. Aunque a los 3 meses todas las zonas estaban igualmente epitelizadas. Zonas donantes curadas con Allevyn se reepitelizaron mas de un 90% a una media de 9.1 a 1.6 días, mientras que los sitios donantes curados con Acticoat requirieron una media de 14.5 a 6.7 días para lograr > 90% de reepitelización²⁹⁰ (P = 0.004) . La razón de esto no está clara, pero puede estar relacionada con la concentración de plata en la superficie de la herida. Además cabe la posibilidad de añadir sustancias que mantengan la humedad y que nos aceleren la epitelización, contrarestando estos efectos no deseados de la plata, pero sin perder su capacidad antimicrobiana.

Esto es un aspecto clave a tener en cuenta en nuestro estudio, donde las zonas donantes tratadas con AH podrían favorecer la epitelización al no secar el apósito de plata y no aumentar su toxicidad local y además mantener un ambiente húmedo propicio y necesario para el desplazamiento celular de queratinocitos y fibroblastos.

Acticoat en el tratamiento de heridas resulta rentable, reduce la infección de la herida, disminuye la frecuencia de los cambios de apósito, disminuye la actividad de la metaloproteinasa de la matriz, el exudado de la herida y los niveles de biocarga y promueve la cicatrización de heridas crónicas.²⁸⁴

En un modelo de sitio donante animal comparando la epitelización bajo Acticoat® humedecido sólo una vez, bajo Acticoat® humedecido diariamente, y bajo gasa .No encontró diferencias significativas en la reepitelización entre las heridas curadas con Acticoat humedecido una sola vez, o todos los días, pero si respecto al tratado con gasa, que sería el apósito más seco²⁸⁴. Por lo tanto, la adicción de la

hidratación podría ser útil con una sola aplicación inicial como fue el planteamiento de nuestro estudio. Por lo que un régimen de humectación más frecuente puede no acelerar la cicatrización.

La velocidad de reducción del tamaño de la herida en pacientes tratados con terapia negativa y plata frente a terapia negativa fue similar para ambos grupos de tratamiento, aunque ligeramente superior en el grupo combinado TPN-Ag (1,78 cm² /semana) frente al grupo control TPN aislada (1,63 cm² /semana) Solo se encontraron diferencias estadísticamente significativas de esta disminución entre las semanas 3 y 6 para el grupo con plata ($p=0,028$)²⁹¹. Esto nos ayuda a comprender el beneficio de la plata en heridas crónicas, donde se ve que aceleraría la epitelización.

Recientemente una combinación de AH y nanopartículas de plata no mostraron ninguna citotoxicidad contra la línea celular de queratinocitos humanos. Con lo cual se deduce el efecto beneficioso de esta asociación²⁷⁵. Además hay estudios que demuestran que el recubrimiento de las nanopartículas de plata con un polímero biodegradable, previene la toxicidad en los queratinocitos Ha CAT de la piel humana²⁹² demuestra que el destino ambiental, la absorción celular y la toxicidad de los nanomateriales de plata dependen de su estado físico y de los materiales de recubrimiento.

Nuestro estudio comparte con la evidencia científica aportada^{277, 278}, que las zonas donantes tratadas solamente con Acticoat presentaban retrasos en la cicatrización, con perímetros sin epitelizar de 13,8 cm de media frente a perímetros de

5,7 cm en las zonas donde se completó con ácido hialurónico, con una significación estadística $p < 0.005$.

5.1.4 Asociación AH y plata

La adición al apósito de plata de ácido hialurónico (HA), que forma una parte sustancial de la matriz intracelular, tendría como objetivo superar una de las pocas desventajas de la plata, es decir, la prolongación del proceso de reepitelización de la herida aguda.

Investigaciones recientes del 2020 similares a nuestra investigación muestran que apósitos de nanopartículas de plata embebidas con ácido hialurónico, en estudios in vivo, tienen capacidad antioxidante y antiinflamatoria aceleran la cicatrización de heridas²⁷⁵. Nuestro estudio está en esta línea pero aplicado a la práctica clínica asistencial.

La morfología macroscópica de la contracción de la herida después del tratamiento con una combinación de yodo y ácido hialurónico (Hyiodine®), mostró una mejor curación donde se aplicó el complejo de yodo y HA (Hyiodine®), seguido de aquel en el que solo se aplicó HA²⁹⁸, reforzando los resultados de esta investigación de que el ácido hialurónico se puede combinar con distintos materiales.

Igualmente, la piel artificial enriquecida con AH aumenta la velocidad de formación del tejido de granulación²⁹⁹.

Las células tratadas con factores de crecimiento incrementan la producción de ácido hialurónico , siendo éste uno de los mecanismos en los que se basa su acción^{6,118,300}. Esto apoya nuestro estudio, que el aumento de AH en las primeras fases de la cicatrización, similar a la función que llevan a cabo los factores de crecimiento, mejoraría dicho proceso.

La existencia de nuevas formulaciones en aerosol que llevan AH y plata se está usando en tratamiento de úlceras vasculares mostrando una reducción del área de la herida y de la carga bacteriana²⁶⁵.

Los resultados obtenidos apuntan a que la adicción de ácido hialurónico en apósitos de plata es seguro además de favorecer la epitelización de las zonas donantes. Reflejan una media de epitelización por áreas de 0.95 ± 0.1 en zonas tratadas con ác hialurónico frente a $0,88 \pm 0.11$ ($p \leq 0.005$) en las no tratadas. Respecto a los perímetros, encontramos medias de 0.78 ± 0.83 en zonas de AH r de $0,58 \pm 0,62$, ($p \leq 0.005$)

Los sitios de donantes donde se añadió AH cicatrizaron significativamente más rápido que los curados con Acticoat. La reepitelización bajo el AH ocurrió en promedio del 95% en la primera consulta, pero el dato más importante es que Acticoat pareció retrasar específicamente la reepitelización como reflejan algunos estudios similares²⁹⁰

La falta de control "dentro del paciente" podría haber contribuido a la diferencia observada en el área de cicatrización pero el diseño de nuestro estudio, en que cada paciente era caso-control de la zona donante, elimina esto como una posible explicación de nuestros resultados. Los sitios de pares emparejados dentro de cada

paciente aseguraron que los sitios donantes de Acticoat y Acticoat con AH fueran idénticos en ubicación, profundidad, tamaño y misma área anatómica. Además solo se produjo un cambio de apósito en la primera consulta, donde se evaluó inmediatamente la epitelización.

En un total de 53 pacientes, en 20 fue colocado el AH en la zona inferior y en 33 en la zona superior, sin demostrar resultados estadísticamente significativos respecto a la colocación del producto con la epitelización obtenida.

En nuestro estudio, ambos sitios fueron evaluados y calificados utilizando métodos y criterios idénticos. Por lo tanto, parece poco probable que, los cambios de apósito, los defectos metodológicos, el error de muestreo o el sesgo del observador sean explicaciones razonables de la epitelización mayor observadas en áreas tratadas con AH en este estudio. Por lo tanto, debemos considerar la posibilidad de que el propio AH haya sido el responsable.

Esto puede explicarse por las propiedades únicas de HA para conducir la migración, proliferación y diferenciación de fibroblastos, inducir la síntesis de colágeno y estimular la migración y proliferación de queratinocitos que son todos necesarios para el cierre de la herida³⁸. En nuestro estudio las heridas fueron cubiertas por períodos prolongados de tiempo con Acticoat y con Acticoat más AH y envueltos con vendaje estéril en el quirófano.

La zona donante tratada con ácido hialurónico mostró curación más efectiva y de mejor aspecto, resultados similares a los que refleja nuestra bibliografía^{301,302}, ya

que el ácido hialurónico facilita una remodelación celular constante debido a la división celular de los queratinocitos derivados de la capa basal²⁴⁴

La base argumentativa para la utilización de AH en el tratamiento de las heridas se basa, en su alta expresión, estrecha interacción con colágeno, naturaleza hidrofílica y a efectos multifacéticos sobre el comportamiento celular ²⁸². Que han quedado demostrado de forma clínica en nuestro estudio.

Por lo tanto, la aplicación exógena de AH mejora la cicatrización de las heridas^{125,10}. .

5.2 Infección y efectos adversos

La infección es una de las principales causas de retraso en la cicatrización, el riesgo principal de las heridas quirúrgicas y representa una fuente importante de morbilidad y mortalidad³⁰³.

En nuestro estudio no se evidenció ningún caso de infección en las zonas donantes, medido por parámetros clínicos locales; calor, dolor, rubor, edema y exudado purulento.

El tratamiento efectivo de la herida debe mejorar el tiempo de curación disminuyendo el riesgo de infección y manteniendo el ambiente húmedo óptimo. La eficacia y la seguridad de HA con plata, son bien aceptadas por la comunidad clínica y se han informado previamente^{4,304,202,134,305}

El efecto bacteriostático del HA está relacionado con las moléculas de peso molecular medio y bajo, con particular referencia a *Staphylococcus Epidermidis*, para reducir las infecciones relacionadas con implantes³⁰⁶. En el mismo estudio, el biofilm de *Staphylococcus Aureus* resultó ser más sensibles a la acción de HA en heridas cutáneas³⁰⁷. Microorganismos como *Estafilococos*, *Enterococos*, *Streptococcus Mutans*, *Escherichia Coli*, *Pseudomonas Aeruginosa*, *Candida Glabrata* y *C. Parapsilosis* mostraron una inhibición del crecimiento dependiendo de la dosis de HA^{308,309}. Además, se ha demostrado que el HA estimula la β -defensina-2, un péptido que ejerce una fuerte actividad antimicrobiana³¹⁰.

Otra publicación demuestra que existe una actividad antiadhesiva y antibiofilm del ácido hialurónico contra las bacterias responsables de las infecciones del tracto respiratorio. Pero este efecto no era similar en todos los microorganismos siendo el biofilm de *Staphylococcus Aureus* más sensible a la acción del ácido hialurónico que el biofilm producido por *Haemophilus Influenzae* y *Moraxella catarrhalis*³¹¹.

Un estudio clínico en la que se aplicaba el HA mediante diferentes formas tópicas, redujo la contaminación bacteriana de la herida quirúrgica, el riesgo de infección postquirúrgica y promovió la cicatrización de la herida quirúrgica³⁰⁷.

En nuestro estudio al no haber habido casos infecciosos, no hemos valorado los microorganismos en el lecho, porque no era un objetivo catalogar la flora bacteriana. Sin embargo, el germen principal de las infecciones quirúrgicas, está relacionado con microorganismos como *S. Aureus*, *S. epidermidis* y al no haber habido ningún caso, es

plausible pensar que el AH ha sido capaz de controlar el número de colonias en la herida.

Nuevos apósitos formados por AH con nanopartículas de plata , fueron usados en heridas de ratas diabéticas y demostraron su rendimiento antibacteriano frente a bacterias Gram – E. coli K12 con una actividad bactericida significativa²⁷⁵

Los cationes de plata libres tienen un potente efecto antimicrobiano que destruye los microorganismos inmediatamente al bloquear la respiración celular e interrumpir la función de las membranas celulares bacterianas³¹².

La plata nanocristalina como antimicrobiano es efectiva contra las cepas de bacterias más comunes, incluidas las cepas multirresistentes y las esporas de hongos²⁸⁴

La ventaja de los materiales basados en HA es que es una molécula altamente conservada y, en forma purificada, es idéntica entre todas las especies²⁵⁰, lo que avala su seguridad en relación a efectos adversos y toxicidad¹⁴¹,.

Es amplio el conocimiento del ácido hialurónico como material de relleno en técnicas de medicina estética y contrastada su seguridad. Solamente hay descritas reacciones alérgicas debido a excipientes que usan en su reticulación²⁵⁵.La tolerabilidad general también se consideró buena o muy buena en 12/15 evaluaciones de pacientes tratados con ácido hialurónico en UPP¹³⁷. Resultados similares se obtuvieron en una revisión de múltiples heridas tratadas con ácido hialurónico¹⁴⁴

En nuestro estudio usamos un ácido hialurónico no reticulado, en forma de sal sódica, posiblemente, esta sea la razón, por la que no se notificó ningún tipo de reacción alérgica o tóxica tanto a nivel local como a nivel sistémico.

Tampoco hemos objetivado reacciones alérgicas tópicas con la aplicación de plata, en este estudio previamente se excluyeron los pacientes alérgicos a alguno de los compuestos usados.

Como efecto adverso cosmético observamos la pigmentación cutánea, que tras la descamación epitelial desaparece progresivamente, en ningún caso eritema, edema o prurito.

En nuestro trabajo no valoramos la absorción de plata a nivel sistémico, sin embargo, en otro estudio realizado por nosotros, en el que se valoró la toxicidad de apósitos de plata usados en úlceras crónicas donde se añadió terapia de presión negativa, no se evidenciaron niveles séricos tóxicos del ion plata ni a las 3 ni a las 6 semanas de tratamiento²⁹¹.

Del mismo modo, los resultados de este estudio demostraron que la combinación de ácido hialurónico junto a la plata nanocristalina, resulta un medicamento tópico seguro, bien tolerado a nivel local y sin observarse efectos adversos destacables.

5.3 Efecto Analgésico

Podemos afirmar que la combinación desarrollada podría tener efectos beneficiosos en los cambios de apósitos. Según la Escala EVA obtenida en las zonas tratadas con AH la media fue de 5.16 ± 1.78 puntos respecto a $6,96 \pm 1.88$ puntos en las zonas sin AH. Siendo estadísticamente significativo, hubo menos dolor e incomodidad en Acticoat® asociado al ácido hialurónico.

En cuanto a la distribución de la valoración de la escala EVA por sexo, apreciamos que el sexo masculino tomó valores más altos tanto en la zona tratada con AH como en la que no.

Además existió una relación estadísticamente significativa entre el dolor percibido en la escala EVA en las zonas no tratadas con AH y el aspecto de la cicatriz valorada con la escala Vancouver con todos los parámetros evaluados, excepto en la vascularización, Por lo tanto, existen diferencias en el dolor y en el aspecto de la cicatriz tomando valores significativamente más pequeños en las zonas tratadas con ácido hialurónico.

Siendo menor el dolor y mejor las características estéticas en la zona donde se aplicó el AH más la plata.

Este fenómeno se puede explicar por varios factores, por una parte se disminuyó la adherencia del apósito al lecho, al añadir el AH, lo cual hace una separación más cómoda y por otra, el ácido hialurónico posee propiedades analgésicas al aplicarse tópicamente.

El AH muestra un efecto analgésico y antiinflamatorio ya que cubre la superficie de los receptores del dolor y actúa sobre los radicales libres que pueden aparecer por desequilibrios metabólicos como los hallados en las enfermedades degenerativas articulares^{107,108}. El AH presenta la capacidad de reducir la sensibilidad de los canales iónicos de sodio de las terminaciones nerviosas nocipectivas, a diferentes estímulos mecánicos³¹³. Los autores argumentan, que dicho efecto podría deberse a que al AH disminuye la síntesis de PGE2 y bradicinina³¹⁴, además de disminuir la permeabilidad de la sustancia p, molécula involucrada en mecanismos de dolor³¹⁵.

La activación de los receptores CD44 en el terminal periférico del nociceptor, mediante formas de HA de bajo peso molecular, contribuye a la disminución del umbral nociceptivo mecánico observado durante la inflamación³¹⁶.

Actualmente se ha demostrado una atenuación de la hiperalgesia asociada con la activación de PKA (proteincinasa A) y PKC ϵ (proteincinasa C ϵ), segundos mensajeros involucrados en la sensibilización de los nociceptores³¹⁷.

Una revisión de úlceras crónicas tratadas con AH demostró que existe cierta evidencia sobre su efectividad para reducir la intensidad del dolor para las úlceras arteriales y venosas mixtas, que involucraron a 255 pacientes (DM = -6.78 [IC 95%: -11.10 a -2.46])²⁷⁸.

Otro estudio objetivo que tras la inyección de ácido hialurónico en cicatrices hipertróficas o queloides, el prurito y el dolor cesaron³⁰².

Todos estos estudios tanto preclínicos como clínicos avalan la analgesia proporcionada por el ácido hialurónico que nosotros hemos podido objetivar, mediante la valoración de la escala EVA al realizar el cambio de apósito.

5.4 Valoración estética cicatricial

Los resultados obtenidos con la Escala de Vancouver (VSS) arrojaron datos estadísticamente significativos en cuanto a la calidad estética de la cicatriz. La media fue de 5.69 ± 2.34 para los sitios tratados con Acticoat® sólo, frente al $4,44 \pm 2.05$ de media en los sitios donde se usó Acticoat® con AH. Si desgranamos dicha escala, en pliability/flexibilidad, altura, vascularización y pigmentación, todos los datos eran estadísticamente significativos excepto la vascularización.

Confirmando nuestros hallazgos, encontramos un estudio de las zonas donantes de injertos en pacientes quemados curados con Acticoat® que tuvieron cicatrices significativamente peores al mes y a los dos meses frente a las curadas con un hidrocoloide²⁹⁰. El VSS promedio fue 5.3 ± 1.4 para los sitios Acticoat® y 3.6 ± 1.6 para los sitios Allevyn® ($P = 0.002$). En este momento, la hipervascularidad y la hiperpigmentación fueron las características más distinguibles que explicaron la puntuación más alta en los sitios tratados con Acticoat®²⁹⁰, valores similares a nuestro estudio respecto al Acticoat® y al Acticoat® más AH. Lo que nos lleva a pensar que el AH mejora las características estéticas.

La pigmentación es el valor donde se encontraron los mejores resultados pasando de $1,58 \pm 0.61$ a $1,06 \pm 0.57$ en las zonas hidratadas con AH, seguido de la mejoría de los valores en la pliabilidad/flexibilidad de 1.31 ± 0.83 a $0,88 \pm 0.76$ de media y la altura mejoró de 1.37 ± 0.66 a 1.06 ± 0.57 . Sin embargo con la vascularización los datos no fueron estadísticamente significativos, pasando de $1,52 \pm 0.7$ a 1.4 ± 0.66 .

La pigmentación fue una de las características que representaron el mayor beneficio en la adicción del AH.

Publicaciones de rejuvenecimiento facial con láser CO2 donde se aplicó una pomada que contenía AH/sulfadiazina postratamiento, evidenciaron una respuesta inflamatoria menor que podría conducir a una menor duración del eritema y a una reducción de la incidencia de hiperpigmentación postinflamatoria²⁹⁷.

En el proceso de reparación de heridas en el periodo fetal, existe una curación sin cicatrices, que se debe a la ausencia de inflamación en las heridas, propiciado por las funciones antiinflamatorias del ácido hialurónico³²¹. Esto se debe a que en esta etapa de la vida el contenido de ácido hialurónico en las lesiones se encuentra más elevado que en los adultos, lo que sugiere que una baja cantidad de AH puede reducir la deposición de fibras colágenas y conducir a una cicatrización patológica⁹⁴.

Fue una de las características que representaron el mayor beneficio en la adicción del AH, y la que menos, la vascularización. Esto puede ser debido a las propiedades angiogénicas que presenta el AH. Tanto este como sus productos de

degradación son capaces de activar una respuesta específica en la proliferación de fibroblastos y en la formación de nuevos vasos¹²⁵.

Cuando se analiza dicha respuesta por estudios de biopsias en cicatrices hipertróficas que fueron tratadas mediante resección y colocación de dermis de ácido hialurónico, observaron que los puntajes de vascularización de las biopsias cutáneas postoperatorias fueron significativamente más altos que los puntajes preoperatorios³¹⁸.

La angiogénesis es un proceso dinámico, regulado por la MEC .y otros factores como el VEGF (*Vascular Endothelial Growth Factor*) y la angipoyetina, Los oligosacáridos del AH, producidos por hialuronidasa, pueden inducir angiogénesis^{65,10}.

Estudios que valoran la eficacia de AH .gel demostraron que, HA-Gel mejora significativamente la expresión del factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) en heridas ($p < 0.05$ y $p < 0.01$) Los resultados indican que HA-Gel promueve significativamente la expresión de CD31(promotor de la neovascularización) ($p < 0.01$), confirmando aún más el papel de HA facilitando la angiogénesis durante la cicatrización de heridas³¹⁹.

Respecto a las características finales de la cicatrización, se ha señalado que tras la epitelización había una mejora del aspecto de las lesiones de los animales tratados con ácido hialurónico tópico, en comparación con los controles^{119,320}. Estos hallazgos corroboran los resultados del presente estudio donde las zonas donantes tratadas con AH tópico poseen unos valores menores en la escala VSS, mejor aspecto y características cicatriciales.

Análisis histomorfológicos de quemaduras en ratas curadas con AH- plata destacan un efecto específico en la reconstrucción dérmica y enfatiza una mejor relación de espesor de la dermis reformada / saludable, que apoyarían los resultados obtenidos en la pliability cicatricial¹²⁵.

Las cicatrices patológicas se caracterizan por una señalización del factor de crecimiento potenciada, propiedades de ECM alteradas, y una disminución de la deposición de HA. La administración exógena de AH representan una terapia beneficiosa para la prevención de la cicatriz patológica, ya que se ha visto que el HA modula las respuestas de señalización mitogénica para reducir la actividad de proliferación de fibroblastos queloides KF3, con lo que disminuye el grosor de la MEC y además se consigue una deposición de colágeno más uniforme.

En quemaduras faciales de espesor parcial donde se evaluaron los resultados cosméticos del uso de apósitos para heridas a base de ácido hialurónico, en el 94% de los pacientes se describieron valores de Escala de Vancouver de 0 a los 6 meses de seguimiento³¹⁸.

Actualmente el amplio uso de inyectables de ácido hialurónico, ha hecho que éste sea un nuevo arsenal en el tratamiento de cicatrices patológicas ocurridas por acné, heridas o postquirúrgicas. En un estudio realizado sobre pacientes donde se les inyectó ácido hialurónico reticulado en cicatrices hipertróficas, se observó que mejoraban respecto a los valores previos³²². Se realizó un estudio para comprobar si la aplicación intralesional de AH en las cicatrices hipertróficas y queloides podría mejorarlos. Trataron, en 24 pacientes, un total de 23 cicatrices hipertróficas y 9

queloideas una vez a la semana durante 12 y 20 semanas con inyecciones de soluciones de AH de tres diferentes pesos moleculares. Se produjeron modificaciones clínicas e histológicas favorables¹³², con la solución de hialuronato sódico al 1%, como el producto usado en nuestro estudio.

Diversos artículos señalan que el HA-Gel fue capaz de promover significativamente la expresión de colágeno tipo III y tipo I medido en heridas ($p < 0.01$). Estos resultados implican que el AH puede facilitar la remodelación dinámica de la MEC regulando el equilibrio en la relación entre el colágeno tipo III y el tipo I. Además, después del tratamiento con HA-Gel, el nivel de expresión de colágeno tipo III en las heridas disminuyen lentamente, mientras que el nivel de expresión de colágeno tipo I aumenta gradualmente bajo las mismas condiciones³¹⁹.

Las alteraciones cutáneas producidas por la radioterapia fueron menores en los pacientes tratados profilácticamente con una crema de AH, según demostraron en el estudio doble ciego contra placebo sobre 134 pacientes^{141,140}.

En un artículo donde se trataron cicatrices de mamoplastias de aumento, unas con ácido hialurónico y otras con placebo y se evaluaron los resultados a las 12 semanas y al año. destacaron que el momento de la aplicación de este producto también es importante; el producto debe aplicarse poco después del momento de la herida para modular la inflamación, en el momento de la formación inicial de la matriz cicatricial y prolongarse mas allá de los 3 meses³²³. Además de ser seguro y efectivo para cicatrices tempranas con efectos adversos mínimos y puede usarse en el manejo de cicatrices quirúrgicas. Al igual que nuestro estudio, la aplicación del ácido

hialurónico se llevo a cabo en el momento de la cirugía, para actuar en la fase inicial inflamatoria. El seguimiento se realizó a los 3 meses y se pronostica que un manejo continuado con hialurónico mejoraría las características cicatriciales a más largo plazo.

Otro parámetro a tener en cuenta es el tiempo. En las lesiones se observa que cuanto menor sea el tiempo en que transcurre la cicatrización, mayor es la probabilidad de reducción de la ocurrencia de cicatrices hipertróficas y, por consiguiente, la obtención de un mejor resultado estético y funcional, especialmente en la cara o piel de regiones móviles como manos y articulaciones^{131,132,133}.

El cierre temprano de la herida ha demostrado que disminuye la gravedad de las complicaciones de quemaduras, como cicatrices hipertróficas, contracturas articulares, rigidez y promueve una rehabilitación más rápida³²⁴.

El AH debido a su capacidad de cicatrizar más rápidamente ha demostrado una menor hiperplasia epidérmica, que corroboraría los datos obtenidos referentes a la altura cicatricial, donde partimos de 1.37 ± 0.66 en zonas de Acticoat a 1.06 ± 0.67 en las zonas donde añadimos el AH.

Cuando distribuimos los hallazgos respecto al sexo no encontramos diferencias significativas, pero parece que los parámetros toman valores más altos en el sexo masculino respecto al femenino. Y tampoco se encontraron diferencias significativas respecto a la situación del ácido hialurónico en la zona donante.

Otro hallazgo interesante está en que el contenido de AH de los queloides está muy por debajo del de las cicatrices normales, según lo determinado por observaciones histoquímicas y de estudios de fibroblastos derivados de queloides³²⁵, cicatrices

hipertróficas también han disminuido la deposición de HA, particularmente en la dermis papilar, pero intermedia entre la de las cicatrices normales y la de los queloides³²⁶. Con lo cual, para una cicatrización normal necesitaríamos niveles altos de AH, como fue el planteamiento de nuestro estudio.

5.5 Antiagregantes y cicatrización

Revisando los antecedentes de los pacientes y en relación a la cicatrización objetivamos que aquellos que tomaban antiagregantes presentaban un retraso de la misma tanto en las zonas con AH y plata como las tratadas solo con plata, estas diferencias fueron estadísticamente significativas con la epitelización de la zona donante con $p < 0.005$ con lo que retrasaba la epitelización final.

La ciclooxigenasa (COX) es una enzima que participa en el proceso de curación de heridas. La aspirina, un medicamento antiinflamatorio no esteroideo, inhibe simultáneamente la actividad aromataza de las isoformas COX-1 y COX-2, que es necesaria para la síntesis de prostaglandinas³²⁷.

Un estudio sobre cicatrización de heridas cutáneas en ratones fueron tratados con aspirina (25 mg / kg por día) durante 20 días. Los grupos tratados con aspirina exhibieron un retraso en el cierre de la herida y la reepitelización y el colágeno se redujo³²⁸. Otro estudio similar demostró que la aspirina retrasaba la cicatrización desde

el 1º al 9º día en ratas ($p < 0.01$) además de disminuir la fuerza tensil de la misma. Nuestros resultados confirman los hallazgos de estos trabajos.

Del mismo modo, estudios de inmunohistoquímica sobre reparación tendinosa tras administrar tratamiento con aspirina, demostraron que ésta reduce la expresión de IL-6 e incrementa la IL-10, creando un ambiente antiinflamatorio. Comprobándose también que disminuía significativamente la MMP-3 en la matriz extracelular³²⁹. In vitro la aspirina reduce la migración celular y la proliferación de fibroblastos medida por la IL-1 β ³²⁹. Aunque en nuestro estudio no se realizó una fase experimental, también hemos observado una menor cicatrización global en los pacientes tratados con antiagregantes que fue estadísticamente significativo. Lo que implica que las zonas donantes se comportan similares al resto de heridas, como es esperable.

5.6 Nuevas tecnologías para investigar el ácido hialurónico y la plata en la curación de heridas

El creciente conocimiento sobre los roles de HA en los tejidos representa una molécula clave en la matriz extracelular desde el comienzo de la vida hasta el envejecimiento. Los ensayos controlados aleatorizados han demostrado con éxito las notables propiedades del ácido hialurónico en la cicatrización aguda y crónica.

El tamaño preciso de los polímeros de AH y cómo son reconocidos y utilizados por las células en el proceso de cicatrización de heridas deben definirse con mayor

detalle. Afortunadamente, los fragmentos de AH de tamaño específico ahora están disponibles comercialmente para probar en las diversas etapas de la cicatrización

Ahora se pueden ensamblar en modelos experimentales, probando los pasos secuenciales en el proceso, para comprender en mayor profundidad la participación de HA en las distintas fases de la cicatrización.

Todavía deben investigarse muchos parámetros del metabolismo de la HA antes de que comprendamos completamente este proceso dinámico y cómo se pueden utilizar aspectos del mismo para mejorar el cuidado de las heridas. Comprender las múltiples formas en que las funciones de HA pueden proporcionar señales tanto directas como indirectas al sutil acto de equilibrio que ocurre durante el proceso de cicatrización.

Sin embargo, los beneficios obtenidos por el uso de AH pueden estar limitados por su rápida degradación tras la administración tópica³³⁰. Para obviar este inconveniente se están creando derivados del AH mediante esterificación de grupos carboxílicos que, aun con diferentes propiedades fisicoquímicas, mantienen las propiedades fisiológicas originales del AH, aumentando su resistencia a la degradación enzimática y por tanto su permanencia tras la aplicación.

La combinación plata y ácido hialurónico ya se encuentra en el mercado farmacéutico en forma de sulfadiazina árgentica en distintas formulaciones como pomada o spray que demuestran sus virtudes en el proceso de curación de heridas^{331,305,332}

Además se está avanzando en el desarrollo del campo de las nanopartículas de plata, debido a su gran potencial antiséptico y antimicrobiano de larga duración. Actualmente se encuentran en desarrollo varios apósitos que muestran la conjunción de nuestro estudio, plata nanocrystalina envuelta en ácido hialurónico demostrando que es efectiva en el proceso de curación de heridas³³³.

6. Limitaciones

Los resultados de este estudio están a favor de un efecto beneficioso de la combinación de HA y apósito de nanopartículas de plata, Sin embargo se enfatiza en la necesidad de nuevos estudios bien diseñados que evalúen dicho beneficio. Esto se debe principalmente a varias debilidades en el diseño y a la alta variabilidad de comorbilidades de los pacientes.

En nuestro estudio se toman la misma zona donante, realizado por la misma persona, pero puede haber diferencias en cuanto a la profundidad de obtención del injerto al principio y al final que hemos tratado de limitar colocando en distinta posición el ácido hialurónico.

Además aunque la aplicación del ácido hialurónico fue de 5 ml por zona donante, e inmediatamente colocado el apósito de plata, puede haber variaciones en la distribución del mismo. Ya que de media la zona donante era 40,46 cm² y correspondería 1ml por 8 cm², es muy difícil de ajustar dicha cantidad a la zona e intentamos que todas tuvieran el mismo grosor.

La dificultad técnica de los registros iconográficos de los pacientes, las zonas donantes no son áreas perfectas de bordes geométricos ni planas, lo que puede dificultar las medidas exactas según el ángulo fotográfico de la misma y la medición de cada pequeño contorno en el programa informático que hemos aplicado.

Todavía deben investigarse muchos parámetros del metabolismo de la HA antes de que comprendamos completamente este proceso dinámico y cómo se pueden utilizar aspectos del mismo para mejorar el cuidado de las heridas. Como parece

resulta más beneficioso aplicarlo en las primeras fases de la cicatrización, pero serían necesarios más estudios que aporten luz a dicha afirmación.

Comprender las múltiples formas en que las funciones de HA pueden proporcionar señales tanto directas como indirectas al sutil acto de equilibrio que ocurre durante el proceso de cicatrización. Ya que diferentes pesos moleculares de AH desempeñarían distintos papeles, a veces contradictorios que se ponen en marcha según la fase en que estemos de la cicatrización.

Actualmente existe una necesidad continua de biomateriales biocompatibles con un amplio espectro de eficacia antimicrobiana y al mismo tiempo que estimule el cierre de la herida. Que nos hace estudiar cómo se debe combinar el AH con la plata nanocrystalina en distintas formulaciones que resulten más beneficiosa y cómoda a los pacientes.

A pesar de todas las limitaciones descritas, este es el único estudio clínico que hasta donde llega nuestro conocimiento, existe sobre el uso del AH y plata como tratamiento de las zonas donantes de injertos de piel parcial en muslo.

7. Conclusiones

1. La combinación de AH más plata nanocrystalina disminuye la superficie de área cruenta y perímetro de la herida en zonas donantes.
2. No se observaron infecciones ni reacciones adversas tanto locales como sistémicas con la aplicación de ambos productos.
3. Las zonas tratadas con AH mostraron valores de la escala EVA inferiores con el cambio de apósito de las zonas donantes.
4. Se evidenció mejoría estética cicatricial, en los valores de la escala de Vancouver en las zonas de ácido hialurónico, a los 3 meses. En todos los parámetros menos en la vascularización.
5. El uso de antiagregantes retrasó la cicatrización de las heridas en nuestros pacientes.
6. La combinación de AH añadido a la plata nanocrystalina es eficaz en el tratamiento de las zonas donantes de injertos cutáneos de piel parcial.

8. Referencias Bibliográficas

1. Price RD, Das-Gupta V, Leigh IM, Navsaria HA. A comparison of tissue-engineered hyaluronic acid dermal matrices in a human wound model. *Tissue Eng.* 2006;12(10):2985–95.
2. Voigt J, Driver VR. Hyaluronic acid derivatives and their healing effect on burns , epithelial surgical wounds , and chronic wounds : A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. 2012;317–31.
3. Voineskos SH, Ayeni OA, Leslie McKnight M, Thoma A. Systematic Review of Skin Graft Donor-Site Dressings. *Plast Reconstr Surg.* 2009;124:298.
4. Costagliola M, Agrosi M. Second-degree burns: a comparative, multicenter, randomized trial of hyaluronic acid plus silver sulfadiazine vs. silver sulfadiazine alone. *Curr Med Res Opin.* 2005;21(8):1235–40.
5. Ding X, Shi L, Liu C, Sun B. A randomized comparison study of Aquacel Ag and Alginate Silver as skin graft donor site dressings. *Burns.* 2013;39(8):1547–50.
6. Salbach J, Rachner TD, Rauner M, Hempel U, Anderegg U, Franz S, et al. Regenerative potential of glycosaminoglycans for skin and bone. *J Mol Med (Berl).* 2012;90(6):625–35.
7. Chen WYJ, Abatangelo G. Functions of hyaluronan in wound repair. *Wound Repair Regen.* 1999;7(2):79–89.
8. Bourguignon LYW, Ramez M, Gilad E, Singleton PA, Man M-Q, Crumrine DA, et al. Hyaluronan-CD44 interaction stimulates keratinocyte differentiation, lamellar body formation/secretion, and permeability barrier homeostasis. *J Invest Dermatol.* 2006;126(6):1356–65.
9. Shaharudin A, Aziz Z. Effectiveness of hyaluronic acid and its derivatives on chronic

- wounds: a systematic review. *J Wound Care*. 2016;25(10):585–92.
10. King SR, Hickerson WL, Proctor KG. Beneficial actions of exogenous hyaluronic acid on wound healing. *Surgery*. 1991;109(1):76–84.
 11. Calvin M. Oestrogens and wound healing. *Maturitas*. 2000;34(3):195–210.
 12. Brandrup F, Menné T, Agren MS, Strömberg HE, Holst R, Frisén M. A randomized trial of two occlusive dressings in the treatment of leg ulcers. *Acta Derm Venereol*. 1990;70(3):231–5.
 13. Abbruzzese L, Rizzo L, Fanelli G, Tedeschi A, Scatena A, Goretti C, et al. Effectiveness and safety of a novel gel dressing in the management of neuropathic leg ulcers in diabetic patients: a prospective double-blind randomized trial. *Int J Low Extrem Wounds*. 2009;8(3):134–40.
 14. Woodworth BA, Chandra RK, Hoy MJ, Lee F, Schlosser RJ, Gillespie MB. Randomized Controlled Trial of Hyaluronic Acid/Carboxymethylcellulose Dressing after Endoscopic Sinus Surgery. *ORL*. 2010;72(2):101–5.
 15. Bettinger DA, Mast B, Gore D. Hyaluronic acid impedes reepithelialization of skin graft donor sites. *J Burn Care Rehabil*. 17(4):302–4.
 16. Beam JW. Management of superficial to partial-thickness wounds. *J Athl Train*. 2007;42(3):422–4.
 17. Wiechula R. The use of moist wound-healing dressings in the management of split-thickness skin graft donor sites: a systematic review. *Int J Nurs Pract*. 2003;9(2):S9–17.
 18. Kanitakis J. Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin. *Eur J Dermatol*. 12(4):390–9; quiz 400–1.

19. Arda O, Göksügür N, Tüzün Y. Basic histological structure and functions of facial skin. *Clin Dermatol.* 2014;32(1):3–13.
20. Régnier M, Patwardhan A, Scheynius A, Schmidt R. Reconstructed human epidermis composed of keratinocytes, melanocytes and Langerhans cells. *Med Biol Eng Comput.* 1998;36(6):821–4.
21. Arita Hilliges M, Wang L, Johansson O. Ultrastructural Evidence for Nerve Fibers Within All Vital Layers of the Human Epidermis. 1995;
22. Danso MO, Berkers T, Mieremet A, Hausil F, Bouwstra JA. An *ex vivo human* skin model for studying skin barrier repair. *Exp Dermatol.* 2015;24(1):48–54.
23. Clausen M-L, Agner T. Antimicrobial Peptides, Infections and the Skin Barrier. *Curr Probl Dermatol.* 2016;49:38–46.
24. McGrath JA, Eady RAJ, Pope FM. Anatomy and Organization of Human Skin. In: Rook's Textbook of Dermatology. Malden, Massachusetts, USA: Blackwell Publishing, Inc.; p. 45–128.
25. Laverdet B, Micallef L, Lebreton C, Mollard J, Lataillade J-J, Coulomb B, et al. Use of mesenchymal stem cells for cutaneous repair and skin substitute elaboration. *Pathol Biol.* 2014;62(2):108–17.
26. Fu X, Li H. Mesenchymal stem cells and skin wound repair and regeneration: possibilities and questions. *Cell Tissue Res.* 2009;335(2):317–21.
27. Fuchs E, Segre JA, Porada G., Maria R De, Muller R, Masella B, et al. Stem Cells. *Cell.* 2000;100(1):143–55.
28. Tttr- R, Al H, Dt. Glycosaminoglycans. A Biochemical and Clinical Review. 1974;(1).

29. Theocharis AD, Skandalis SS, Gialeli C, Karamanos NK. Extracellular matrix structure. Vol. 97, *Advanced Drug Delivery Reviews*. Elsevier B.V.; 2016. p. 4–27.
30. Van Doren SR. Matrix metalloproteinase interactions with collagen and elastin. Vols. 44–46, *Matrix Biology*. Elsevier; 2015. p. 224–31.
31. Ricard-Blum S. The Collagen Family. *Cold Spring Harb Perspect Biol*. 2011;3(1):1–19.
32. Sankaranarayanan NV, Nagarajan B, Desai UR. So you think computational approaches to understanding glycosaminoglycan–protein interactions are too dry and too rigid? Think again! Vol. 50, *Current Opinion in Structural Biology*. Elsevier Ltd; 2018. p. 91–100.
33. Lamoureux F, Baud’huin M, Duplomb L, Heymann D, Rédini F. Proteoglycans: key partners in bone cell biology. *BioEssays*. 2007;29(8):758–71.
34. Bosman FT, Stamenkovic I. Functional structure and composition of the extracellular matrix. *J Pathol*. 2003;200(4):423–8.
35. Bojanowski K. Hypodermal delivery of cosmetic actives for improved facial skin morphology and functionality. *Int J Cosmet Sci*. 2013;35(6):562–7.
36. Martin P. Wound Healing--Aiming for Perfect Skin Regeneration. *Science* (80-). 1997;276(5309).
37. Balasubramani M, Kumar TR, Babu M, al. et, MacNeil S. Skin substitutes: a review. *Burns*. 2001;27(5):534–44.
38. Aya KL, Stern R. Hyaluronan in wound healing: Rediscovering a major player. *Wound Repair Regen*. 2014;22(5):579–93.
39. Takeo M, Lee W, Ito M. Wound healing and skin regeneration. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2015;5(1):a023267.

40. Pereira RF, Barrias CC, Granja PL, Bartolo PJ. Advanced biofabrication strategies for skin regeneration and repair. *Nanomedicine*. 2013;8(4):603–21.
41. Khalil H, Cullen M, Chambers H, Carroll M, Walker J. Elements affecting wound healing time: An evidence based analysis. *Wound Repair Regen*. 2015;23(4):550–6.
42. Roh C, Lyle S. Cutaneous Stem Cells and Wound Healing. *Pediatr Res*. 2006;59:100R-103R.
43. Solomon DE. An in vitro examination of an extracellular matrix scaffold for use in wound healing. *Int J Exp Pathol*. 2002;83(5):209–16.
44. Engrav LH, Covey MH, Dutcher KD, Heimbach DM, Walkinshaw MD, Marvin JA. Impairment, time out of school, and time off from work after burns. *Plast Reconstr Surg*. 1987;79(6):927–34.
45. Bertone AL. Second-intention healing. *Vet Clin North Am Equine Pract*. 1989;5(3):539–50.
46. Eming SA, Krieg T, Davidson JM. Inflammation in Wound Repair: Molecular and Cellular Mechanisms. *J Invest Dermatol*. 2007;127(3):514–25.
47. Demidova-Rice TN, Hamblin MR, Herman IM. Acute and impaired wound healing: pathophysiology and current methods for drug delivery, part 1: normal and chronic wounds: biology, causes, and approaches to care. *Adv Skin Wound Care*. 2012;25(7):304–14.
48. Versteeg HH, Heemskerk JWM, Levi M, Reitsma PH. New Fundamentals in Hemostasis. *Physiol Rev*. 2013;93(1).
49. Zielins ER, Atashroo DA, Maan ZN, Duscher D, Walmsley GG, Hu M, et al. Wound

- healing: an update. *Regen Med.* 2014;9(6):817–30.
50. Shirali AC, Goldstein DR. Activation of the innate immune system by the endogenous ligand hyaluronan. *Curr Opin Organ Transplant.* 2008;13(1):20–5.
 51. Hu MS, Maan ZN, Wu J-C, Rennert RC, Hong WX, Lai TS, et al. Tissue engineering and regenerative repair in wound healing. *Ann Biomed Eng.* 2014;42(7):1494–507.
 52. Velnar T, Bailey T, Smrkolj V. The Wound Healing Process: an Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. *J Int Med Res.* 2009;37(375):1528–42.
 53. Fronza M, Caetano GF, Leite MN, Bitencourt CS, Paula-Silva FWG, Andrade TAM, et al. Hyaluronidase modulates inflammatory response and accelerates the cutaneous wound healing. *PLoS One.* 2014;9(11):e112297.
 54. Broughton G, Janis JE, Attinger CE. The basic science of wound healing. *Plast Reconstr Surg.* 2006;117(7 Suppl):12S-34S.
 55. Gerdin B, Hällgren R. Dynamic role of hyaluronan (HYA) in connective tissue activation and inflammation. *J Intern Med.* 1997;242(1):49–55.
 56. Stern R, Asari AA, Sugahara KN. Hyaluronan fragments: An information-rich system. *Eur J Cell Biol.* 2006;85(8):699–715.
 57. Toole BP. Hyaluronan in morphogenesis. *J Intern Med.* 1997;242(1):35–40.
 58. Dahiya P, Kamal R. Hyaluronic acid: A boon in periodontal therapy. *N Am J Med Sci.* 2013;5(5):309.
 59. Venturini D. [Clinical observations on the use of hyaluronic acid in dermatologic therapy]. *G Ital Dermatol Venereol.* 120(1):V–X.

60. Lawrence WT, Diegelmann RF. Growth factors in wound healing. *Clin Dermatol.* 12(1):157–69.
61. Guizzardi S, Uggeri J, Belletti S, Cattarini G. Hyaluronate Increases Polynucleotides Effect on Human Cultured Fibroblasts. *J Cosmet Dermatological Sci Appl.* 2013;03(01):124–8.
62. Hanks J, Spodnick G. Wound healing in the veterinary rehabilitation patient. *Vet Clin North Am Small Anim Pract.* 2005;35(6):1453–71, ix.
63. Knighton DR, Silver IA, Hunt TK. Regulation of wound-healing angiogenesis-effect of oxygen gradients and inspired oxygen concentration. *Surgery.* 1981;90(2):262–70.
64. Sottile J. Regulation of angiogenesis by extracellular matrix. *Biochim Biophys Acta - Rev Cancer.* 2004;1654(1):13–22.
65. Jiang D, Liang J, Noble PW. Hyaluronan in Tissue Injury and Repair. *Annu Rev Cell Dev Biol.* 2007;23(1):435–61.
66. West D, Hampson I, Arnold F, Kumar S. Angiogenesis induced by degradation products of hyaluronic acid. *Science (80-).* 1985;228(4705).
67. Håkansson L, Hällgren R, Venge P. Regulation of granulocyte function by hyaluronic acid. In vitro and in vivo effects on phagocytosis, locomotion, and metabolism. *J Clin Invest.* 1980;66(2):298–305.
68. Shimizu N, Ishida D, Yamamoto A, Kuroyanagi M, Kuroyanagi Y. Development of a functional wound dressing composed of hyaluronic acid spongy sheet containing bioactive components: evaluation of wound healing potential in animal tests. *J Biomater Sci Polym Ed.* 2014;25(12):1278–91.

69. Gill D. Angiogenic modulation. *J Wound Care*. 1998;7(8):411–4.
70. Longaker MT, Gurtner GC, Barrandon Y, Werner S. Wound repair and regeneration. *Nature*. 2008;453(7193):314–21.
71. Jun J-I, Lau LF. Cellular senescence controls fibrosis in wound healing. *Aging (Albany NY)*. 2010;2(9):627–31.
72. Corsetti G, D'Antona G, Dioguardi FS, Rezzani R. Topical application of dressing with amino acids improves cutaneous wound healing in aged rats. *Acta Histochem*. 2010;112(5):497–507.
73. Naude, Liezl. The practice and science of wound healing: history and physiology of wound healing. *Prof Nurs Today*. 2010;14(3):17–21.
74. Balbino CA, Pereira LM, Curi R. Mecanismos envolvidos na cicatrização: uma revisão. *Rev Bras Ciências Farm Brazilian J Pharm Sci*. 2005;41(1).
75. Li J, Chen J, Kirsner R. Pathophysiology of acute wound healing. *Clin Dermatol*. 2007;25(1):9–18.
76. Graham B. Clinical practice guidelines: What are they and how should they be disseminated? *Hand Clin*. 2014;30(3):361–5.
77. Gantwerker EA, Hom DB. Skin: Histology and physiology of wound healing. *Clin Plast Surg*. 2012;39(1):85–97.
78. Mast BA, Flood LC, Haynes JH, Depalma RL, Cohen IK, Diegelmann RF, et al. Hyaluronic Acid is a Major Component of the Matrix of Fetal Rabbit Skin and Wounds: Implications for Healing by Regeneration. *Matrix*. 1991;11(1):63–8.
79. Longaker MT, Chiu ES, Harrison MR, Crombleholme TM, Langer JC, Duncan BW, et al.

- Studies in fetal wound healing. IV. Hyaluronic acid-stimulating activity distinguishes fetal wound fluid from adult wound fluid. *Ann Surg.* 1989;210(5):667–72.
80. Rowlatt U. Intrauterine wound healing in a 20 week human fetus. *Virchows Arch A Pathol Anat Histol.* 1979;381(3):353–61.
81. BYL N, McKenzie A, ... ML-E journal of, 1992 undefined. Application of hyaluronic acid enhances early healing in incisional wounds. pascal-francis.inist.fr.
82. Byl N, McKenzie A, West J, ... MS-E journal of, 1993 undefined. Amniotic fluid enhances wound healing: a randomized controlled three week trial in mini Yucatan pigs. pascal-francis.inist.fr.
83. Samuels P, Tan AK. Fetal scarless wound healing. *J Otolaryngol.* 1999;28(5):296–302.
84. Lee Y-S, Wysocki A, Warburton D, Tuan T-L. Wound healing in development. *Birth Defects Res Part C Embryo Today Rev.* 2012;96(3):213–22.
85. Landau M, Fagien S. Science of Hyaluronic Acid Beyond Filling: Fibroblasts and Their Response to the Extracellular Matrix. *Plast Reconstr Surg.* 2015;136(5S):188S–195S.
86. Crisci AR. EVOLUÇÃO DE QUEIMADURAS SOB AÇÃO DE DIFERENTES AGENTES TÓPICOS. *Biológicas & Saúde.* 2012;2(7).
87. Mendes RM, Silva GAB, Lima MF, Calliari M V., Almeida AP, Alves JB, et al. Sodium hyaluronate accelerates the healing process in tooth sockets of rats. *Arch Oral Biol.* 2008;53(12):1155–62.
88. Shimabukuro Y, Terashima H, Takedachi M, Maeda K, Nakamura T, Sawada K, et al. Fibroblast growth factor-2 stimulates directed migration of periodontal ligament cells via PI3K/AKT signaling and CD44/hyaluronan interaction. *J Cell Physiol.* 2011;226(3):809–

- 21.
89. Neumeister MW. The role of botulinum toxin in vasospastic disorders of the hand. *Hand Clin.* 2015;31(1):23–37.
90. Turner NJ, Kielty CM, Walker MG, Canfield AE. A novel hyaluronan-based biomaterial (Hyaff-11®) as a scaffold for endothelial cells in tissue engineered vascular grafts. *Biomaterials.* 2004;25(28):5955–64.
91. Jain Y. Clinical evaluation of 0.2% hyaluronic acid containing gel in the treatment of gingivitis. *Med J Dr DY Patil Univ.* 2013;6(4):416.
92. Eick S, Renatus A, Heinicke M, Pfister W, Stratul S-I, Jentsch H. Hyaluronic Acid as an Adjunct After Scaling and Root Planing: A Prospective Randomized Clinical Trial. *J Periodontol.* 2013;84(7):941–9.
93. Cortivo R, Brun P, Cardarelli L, O'Regan M, Radice M, Abatangelo G. Antioxidant effects of hyaluronan and its alpha-methyl-prednisolone derivative in chondrocyte and cartilage cultures. *Semin Arthritis Rheum.* 1996;26(1):492–501.
94. Chen WY, Abatangelo G. Functions of hyaluronan in wound repair. *Wound Repair Regen.* 7(2):79–89.
95. Langer R, Vacanti J. Tissue engineering. *Science (80-).* 1993;260(5110).
96. de la Motte CA, Kessler SP. The role of hyaluronan in innate defense responses of the intestine. *Int J Cell Biol.* 2015;2015:481301.
97. Frost SJ, Weigel PH. Binding of hyaluronic acid to mammalian fibrinogens. *Biochim Biophys Acta - Gen Subj.* 1990;1034(1):39–45.
98. Mohamadzadeh M, DeGrendele H, Arizpe H, Estess P, Siegelman M. Proinflammatory

- stimuli regulate endothelial hyaluronan expression and CD44/HA-dependent primary adhesion. *J Clin Invest.* 1998;101(1):97–108.
99. Frenkel JS. The role of hyaluronan in wound healing. *Int Wound J.* 2014;11(2):159–63.
100. Foschi D, Castoldi L, Radaelli E, Abelli P, Calderini G, Rastrelli A, et al. Hyaluronic acid prevents oxygen free-radical damage to granulation tissue: a study in rats. *Int J Tissue React.* 1990;12(6):333–9.
101. Jentsch H, Pomowski R, Kundt G, Gocke R. Treatment of gingivitis with hyaluronan. *J Clin Periodontol.* 2003;30(2):159–64.
102. Wisniewski HG, Hua JC, Poppers DM, Naime D, Vilcek J, Cronstein BN. TNF/IL-1-inducible protein TSG-6 potentiates plasmin inhibition by inter-alpha-inhibitor and exerts a strong anti-inflammatory effect in vivo. *J Immunol.* 1996;156(4).
103. Shao Y, Lu G, Shen Z-J, He H. Reduction of intercellular adhesion molecule 1 may play a role in anti-inflammatory effect of hyaluronic acid in a rat model of severe non-bacterial cystitis. *World J Urol.* 2013;31(3):535–40.
104. Sato H, Takahashi T, Ide H, Fukushima T, Tabata M, Sekine F, et al. Antioxidant activity of synovial fluid, hyaluronic acid, and two subcomponents of hyaluronic acid. synovial fluid scavenging effect is enhanced in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum.* 1988;31(1):63–71.
105. Roque V, Agre M, Barroso J, Brito I. Managing knee osteoarthritis: efficacy of hyaluronic acid injections. *Acta Reumatol Port.* 38(3):154–61.
106. Schimizzi AL, Massie JB, Murphy M, Perry A, Kim CW, Garfin SR, et al. High-molecular-weight hyaluronan inhibits macrophage proliferation and cytokine release in the early

- wound of a preclinical postlaminectomy rat model. *Spine J.* 2006;6(5):550–6.
107. Itokazu M, Hampson I, Arnold F, al. et. Clinical evaluation of high molecular-weight sodium hyaluronate for the treatment of patients with periartthritis of the shoulder. *Clin Ther.* 1995;17(5):946–55.
 108. Marshall KW. Intra-articular hyaluronan therapy. *Curr Opin Rheumatol.* 2000;12(5):468–74.
 109. Hall CL, Turley EA. Hyaluronan: RHAMM mediated cell locomotion and signaling in tumorigenesis. *J Neurooncol.* 1995;26(3):221–9.
 110. Hall CL, Wang C, Lange LA, Tin 'icy EA. Hyaluronan and the Hyaluronan Receptor RHAMM Promote Focal Adhesion Turnover and Transient Tyrosine Kinase Activity.
 111. Dvorak HF, Harvey VS, Estrella P, Brown LF, McDonagh J, Dvorak AM. Fibrin containing gels induce angiogenesis. Implications for tumor stroma generation and wound healing. *Lab Invest.* 1987;57(6):673–86.
 112. Clark RAF, Lanigan JM, Dellapelle P, Manseau E, Dvorak HF, Colvin RB. Fibronectin and Fibrin Provide a Provisional Matrix for Epidermal Cell Migration During Wound Reepithelialization. 1982;79:264–9.
 113. Nagy JA, Benjamin L, Zeng H, Dvorak AM, Dvorak HF. Vascular permeability, vascular hyperpermeability and angiogenesis. *Angiogenesis.* 2008;11(2):109–19.
 114. Gao F, Yang CX, Mo W, Liu YW, He YQ. Hyaluronan oligosaccharides are potential stimulators to angiogenesis via RHAMM mediated signal pathway in wound healing. *Clin Invest Med.* 2008;31(3):E106-16.
 115. Wang Y, Han G, Guo B, Huang J. Hyaluronan oligosaccharides promote diabetic wound

- healing by increasing angiogenesis. *Pharmacol Reports*. 2016;68(6):1126–32.
116. Lv M, Wang M, Cai W, Hao W, Yuan P, Kang Z. Characterisation of separated end hyaluronan oligosaccharides from leech hyaluronidase and evaluation of angiogenesis. *Carbohydr Polym*. 2016;142:309–16.
117. Karatay S, Kiziltunc A, Yildirim K, Karanfil RC, Senel K. Effects of different hyaluronic acid products on synovial fluid levels of intercellular adhesion molecule-1 and vascular cell adhesion molecule-1 in knee osteoarthritis. *Ann Clin Lab Sci*. 2004;34(3):330–5.
118. Nyman E, Huss F, Nyman T, Junker J, Kratz G. Hyaluronic acid, an important factor in the wound healing properties of amniotic fluid: *In vitro* studies of re-epithelialisation in human skin wounds. *J Plast Surg Hand Surg*. 2013;47(2):89–92.
119. Tammi R, Ripellino JA, Margolis RU, Tammi M. Localization of epidermal hyaluronic acid using the hyaluronate binding region of cartilage proteoglycan as a specific probe. *J Invest Dermatol*. 1988;90(3):412–4.
120. Wang C, Tammi M, Tammi R. Distribution of hyaluronan and its CD44 receptor in the epithelia of human skin appendages. *Histochemistry*. 1992;98(2):105–12.
121. Kaya G, Rodriguez I, Jorcano JL, Vassalli P, Stamenkovic I. Selective suppression of CD44 in keratinocytes of mice bearing an antisense CD44 transgene driven by a tissue-specific promoter disrupts hyaluronate metabolism in the skin and impairs keratinocyte proliferation. *Genes Dev*. 1997;11(8):996–1007.
122. Bryan J. Moist wound healing: a concept that changed our practice. *J Wound Care*. 2004;13(6):227–8.
123. Longaker MT, Chiu ES, Adzick NS, Stern M, Harrison MR, Stern R. Studies in fetal

- wound healing. V. A prolonged presence of hyaluronic acid characterizes fetal wound fluid. *Ann Surg.* 1991;213(4):292–6.
124. Weigel PH, Fuller GM, LeBoeuf RD. A model for the role of hyaluronic acid and fibrin in the early events during the inflammatory response and wound healing. *J Theor Biol.* 1986;119(2):219–34.
125. Prosdocimi M, Bevilacqua C. Exogenous hyaluronic acid and wound healing: an updated vision. *Panminerva Med.* 2012;54(2):129–35.
126. Price RD, Berry MG, Navsaria HA. Hyaluronic acid: the scientific and clinical evidence. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg.* 2007;60(10):1110–9.
127. D'Agostino A, Stellavato A, Busico T, Papa A, Tirino V, Papaccio G, et al. In vitro analysis of the effects on wound healing of high- and low-molecular weight chains of hyaluronan and their hybrid H-HA/L-HA complexes. *BMC Cell Biol.* 2015;16:19.
128. Moore AL, Marshall CD, Longaker MT. Minimizing Skin Scarring through Biomaterial Design. *J Funct Biomater.* 2017;8(1).
129. Noble PW. Hyaluronan and its catabolic products in tissue injury and repair. *Matrix Biol.* 2002;21(1):25–9.
130. Sheehan KM, Delott LB, Day SM, Deheer DH. Hyalgan® has a dose-dependent differential effect on macrophage proliferation and cell death. *J Orthop Res.* 2003;21(4):744–51.
131. Mahedia M, Shah N, Amirlak B. Clinical Evaluation of Hyaluronic Acid Sponge with Zinc versus Placebo for Scar Reduction after Breast Surgery. *Plast Reconstr surgery Glob open.* 2016;4(7):e791.

132. Borgognoni L, Reali UM. Intralesional hyaluronic acid treatment of pathological scars. *Ann Plast Surg.* 1997;38(3):308, 7A.
133. Boyce DE. Intralesional hyaluronic acid treatment of pathological scars. *Ann Plast Surg.* 1997;39(5):552.
134. Voigt J, Driver VR. Hyaluronic acid derivatives and their healing effect on burns, epithelial surgical wounds, and chronic wounds: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Wound repair Regen Int J tissue repair Regen.* 2012;20(3):317–31.
135. Palfreyman SJ, Nelson EA, Lochiel R, Michaels JA. Dressings for healing venous leg ulcers. In: Palfreyman SJ, editor. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2014.
136. Ortonne JP. [Comparative study of the activity of hyaluronic acid and dextranomer in the treatment of leg ulcers of venous origin]. *Ann Dermatol Venereol.* 2001;Suppl:13–6.
137. Barrois B, Carles M, Rumeau M, Tell L, Toussaint J-F, Bonnefoy M, et al. Efficacy and tolerability of hyaluronan (ialuset) in the treatment of pressure ulcers: a multicentre, non-randomised, pilot study. *Drugs R D.* 2007;8(5):267–73.
138. Caravaggi C, De Giglio R, Pritelli C, Sommaria M, Dalla Noce S, Faglia E, et al. HYAFF 11-Based Autologous Dermal and Epidermal Grafts in the Treatment of Noninfected Diabetic Plantar and Dorsal Foot Ulcers. *Diabetes Care.* 2003;26(10).
139. Chen C-P, Hung W, Lin S-H. Effectiveness of hyaluronic acid for treating diabetic foot: a systematic review and meta-analysis. *Dermatol Ther.* 2014;27(6):331–6.
140. Liguori V, Guillemin C, Pesce GF, Mirimanoff RO, Bernier J. Double-blind, randomized

- clinical study comparing hyaluronic acid cream to placebo in patients treated with radiotherapy. *Radiother Oncol.* 1997;42(2):155–61.
141. Pinnix C, Perkins GH, Strom EA, Tereffe W, Woodward W, Oh JL, et al. Topical hyaluronic acid vs. standard of care for the prevention of radiation dermatitis after adjuvant radiotherapy for breast cancer: single-blind randomized phase III clinical trial. *Int J Radiat Oncol Biol Phys.* 2012;83(4):1089–94.
142. Campanati A, De Blasio S, Giuliano A, Ganzetti G, Giuliodori K, Pecora T, et al. Topical ozonated oil versus hyaluronic gel for the treatment of partial- to full-thickness second-degree burns: A prospective, comparative, single-blind, non-randomised, controlled clinical trial. *Burns.* 2013;39(6):1178–83.
143. Juhász I, Zoltán P, Erdei I. Treatment of partial thickness burns with Zn-hyaluronan: lessons of a clinical pilot study. *Ann Burns Fire Disasters.* 2012;25(2):82–5.
144. Voinchet V, Vasseur P, Kern J. Efficacy and safety of hyaluronic acid in the management of acute wounds. *Am J Clin Dermatol.* 2006;7(6):353–7.
145. Weindl G, Schaller M, Schäfer-Korting M, Korting HC. Hyaluronic acid in the treatment and prevention of skin diseases: molecular biological, pharmaceutical and clinical aspects. *Skin Pharmacol Physiol.* 2004;17(5):207–13.
146. Oruña L, Coto G, Lago G, Dorta D. Efecto del acido hialuronico en la cicatrizacion de heridas. *Rev CENIC Ciencias Biológicas.* 2003;34(2):73–8.
147. Manca ML, Castangia I, Zaru M, Nácher A, Valenti D, Fernández-Busquets X, et al. Development of curcumin loaded sodium hyaluronate immobilized vesicles (hyalurosomes) and their potential on skin inflammation and wound restoring. *Biomaterials.* 2015;71:100–9.

148. Gao F, Liu Y, He Y, Yang C, Wang Y, Shi X, et al. Hyaluronan oligosaccharides promote excisional wound healing through enhanced angiogenesis. *Matrix Biol.* 2010;29(2):107–16.
149. Eng D, Caplan M, Preul M, Panitch A. Hyaluronan scaffolds: A balance between backbone functionalization and bioactivity. *Acta Biomater.* 2010;6(7):2407–14.
150. Ho J, Walsh C, Yue D, Dardik A, Cheema U. Current Advancements and Strategies in Tissue Engineering for Wound Healing: A Comprehensive Review. *Adv Wound Care.* 2017;6(6):191–209.
151. Cho Y-S, Lee J-W, Lee J-S, Lee JH, Yoon TR, Kuroyanagi Y, et al. Hyaluronic acid and silver sulfadiazine-impregnated polyurethane foams for wound dressing application. *J Mater Sci Mater Med.* 2002;13(9):861–5.
152. Vermeulen H, van Hattem JM, Storm-Versloot MN, Ubbink DT, Westerbos SJ. Topical silver for treating infected wounds. In: Vermeulen H, editor. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2007.
153. Storm-Versloot MN, Vos CG, Ubbink DT VH. Topical silver for preventing wound infection. *Cochrane Database Syst Rev* 3 (Article):CD006478. 2010;(3).
154. Michaels JA, Campbell B, King B, Palfreyman SJ, Shackley P, Stevenson M. Randomized controlled trial and cost-effectiveness analysis of silver-donating antimicrobial dressings for venous leg ulcers (VULCAN trial). *Br J Surg.* 2009;96(10):1147–56.
155. Lansdown AB. A review of the use of silver in wound care: facts and fallacies. *Br J Nurs.* 2004;13(Sup1):S6–19.

156. Percival SL, Bowler PG, Russell D. Bacterial resistance to silver in wound care. *J Hosp Infect.* 2005;60(1):1–7.
157. Woodward M. Silver dressings in wound healing: what is the evidence? *Prim Intent.* 2005;13(4).
158. Lansdown ABG, Lansdown ABG. A Pharmacological and Toxicological Profile of Silver as an Antimicrobial Agent in Medical Devices. *Adv Pharmacol Sci.* 2010;2010:1–16.
159. Storm-Versloot MN, Vos CG, Ubbink DT, Vermeulen H. Topical silver for preventing wound infection. In: Storm-Versloot MN, editor. *Cochrane Database of Systematic Reviews.* Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2010.
160. Lo S-F, Hayter M, Chang C-J, Hu W-Y, Lee L-L. A systematic review of silver-releasing dressings in the management of infected chronic wounds. *J Clin Nurs.* 2008;17(15):1973–85.
161. Carter MJ, Tingley-Kelley K, Warriner RA. Silver treatments and silver-impregnated dressings for the healing of leg wounds and ulcers: A systematic review and meta-analysis. *J Am Acad Dermatol.* 2010;63(4):668–79.
162. Percival SL, Bowler P, Woods EJ. Assessing the effect of an antimicrobial wound dressing on biofilms. *Wound Repair Regen.* 2008;16(1):52–7.
163. Toy LW, Macera L. Evidence-based review of silver dressing use on chronic wounds. *J Am Acad Nurse Pract.* 2011;23(4):183–92.
164. Maillard J-Y, Hartemann P. Silver as an antimicrobial: facts and gaps in knowledge. *Crit Rev Microbiol.* 2013;39(4):373–83.
165. de Lima R, Seabra AB, Durán N. Silver nanoparticles: A brief review of cytotoxicity and

- genotoxicity of chemically and biogenically synthesized nanoparticles. *J Appl Toxicol.* 2012;32(11):867–79.
166. Hermans MH. Silver-containing Dressings and the Need for Evidence. *Adv Ski &.* 2007;20(3):166–73.
167. Lansdown ABG. Silver I: its antibacterial properties and mechanism of action. *J Wound Care.* 2002;11(4):125–30.
168. Chaw KC, Manimaran M, Tay FEH. Role of silver ions in destabilization of intermolecular adhesion forces measured by atomic force microscopy in *Staphylococcus epidermidis* biofilms. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49(12):4853–9.
169. Kostenko V, Lyczak J, Turner K, Martinuzzi RJ. Impact of Silver-Containing Wound Dressings on Bacterial Biofilm Viability and Susceptibility to Antibiotics during Prolonged Treatment. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(12):5120–31.
170. Burd A, Kwok CH, Hung SC, Chan HS, Gu H, Lam WK, et al. A comparative study of the cytotoxicity of silver-based dressings in monolayer cell, tissue explant, and animal models. *Wound Repair Regen.* 2007;15(1):94–104.
171. Asharani P V, Hande MP, Valiyaveetil S. Anti-proliferative activity of silver nanoparticles. *BMC Cell Biol.* 2009;10:65.
172. Wilkinson LJ, White RJ, Chipman JK. Silver and nanoparticles of silver in wound dressings: A review of efficacy and safety. *J Wound Care.* 2016;20(November 2011):543–9.
173. Li N, Xia T, Nel AE. The role of oxidative stress in ambient particulate matter-induced lung diseases and its implications in the toxicity of engineered nanoparticles. *Free Radic*

- Biol Med. 2008;44(9):1689–99.
174. Wilkinson LJ, White RJ, Chipman JK. Silver and nanoparticles of silver in wound dressings: a review of efficacy and safety. *J Wound Care*. 2011;20(11):543–9.
175. Olson ME, Wright JB, Lam K, Burrell RE. Healing of porcine donor sites covered with silver-coated dressings. *Eur J Surg*. 2000;166(6):486–9.
176. Lansdown ABG, Williams A. How safe is silver in wound care? *J Wound Care*. 2004;13(4):131–6.
177. Walker M, Bowler PG, Cochrane CA. In vitro studies to show sequestration of matrix metalloproteinases by silver-containing wound care products. *Ostomy Wound Manage*. 2007;53(9):18–25.
178. Thomas S, McCubbin P. An *in vitro* analysis of the antimicrobial properties of 10 silver-containing dressings. *J Wound Care*. 2003;12(8):305–8.
179. Woo KY, Ayello EA, Sibbald RG. SILVER versus other antimicrobial dressings: best practices! *Surg Technol Int*. 2008;17:50–71.
180. Coates ARM, Halls G, Hu Y. Novel classes of antibiotics or more of the same? *Br J Pharmacol*. 2011;163(1):184–94.
181. White R, Kingsley A. Silver dressings in the light of recent clinical research : what can. 2009;6(2):1–2.
182. Leaper DJ, Durani P. Topical antimicrobial therapy of chronic wounds healing by secondary intention using iodine products. *Int Wound J*. 2008;5(2):361–8.
183. Opasanon S, Muangman P, Namviriyachote N. Clinical effectiveness of alginate silver dressing in outpatient management of partial-thickness burns. *Int Wound J*.

- 2010;7(6):467–71.
184. Wunderlich U, Orfanos CE. [Treatment of venous ulcera cruris with dry wound dressings. Phase overlapping use of silver impregnated activated charcoal xerodressing]. *Hautarzt*. 1991;42(7):446–50.
185. Muangman P, Pundee C, Opananon S, Muangman S. A prospective, randomized trial of silver containing hydrofiber dressing versus 1% silver sulfadiazine for the treatment of partial thickness burns. *Int Wound J*. 2010;7(4):271–6.
186. Jurczak F, Dugré T, Johnstone A, Offori T, Vujovic Z, Hollander D. Randomised clinical trial of Hydrofiber dressing with silver versus povidone-iodine gauze in the management of open surgical and traumatic wounds. *Int Wound J*. 2007;4(1):66–76.
187. Muangman P, Pundee C, Opananon S, Muangman S. A prospective, randomized trial of silver containing hydrofiber dressing versus 1% silver sulfadiazine for the treatment of partial thickness burns. *Int Wound J*. 2010;7(4):271–6.
188. Dhapte V, Kadam S, Moghe A, Pokharkar V. Probing the wound healing potential of biogenic silver nanoparticles. *J Wound Care*. 2014;23(9):431–41.
189. Paddock HN, Fabia R, Giles S, Hayes J, Lowell W, Adams D, et al. A silver-impregnated antimicrobial dressing reduces hospital costs for pediatric burn patients. *J Pediatr Surg*. 2007;42(1):211–3.
190. Saba SC, Tsai R, Glat P. Clinical Evaluation Comparing the Efficacy of Aquacel®. *J Burn Care & Wound Care*. 2009;30(3):380–5.
191. Caruso DM, Foster KN, Blome-eberwein SA, Twomey JA, Herndon DN, Luterman A, et al. Randomized Clinical Study of Hydrofiber Dressing With Silver or Silver Sulfadiazine in

- the Management of Partial-thickness Burns. *J Burn Care & Res.* 2006;27(3):298–309.
192. Ballo MKS, Rtimi S, Pulgarin C, Hopf N, Berthet A, Kiwi J, et al. *In Vitro* and *In Vivo* Effectiveness of an Innovative Silver-Copper Nanoparticle Coating of Catheters To Prevent Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infection. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60(9):5349–56.
193. Bailey S, Carmean M, Cinat M, Burton K, Lane C, Malinoski D. A Randomized Comparison Study of Aquacel Ag and Glucan II as Donor Site Dressings With Regard to Healing Time, Cosmesis, Infection Rate, and Patient's Perceived Pain: A Pilot Study. *J Burn Care Res.* 2011;32(6):627–32.
194. Lohsiriwat V, Chuangsuwanich A. Comparison of the Ionic Silver-Containing Hydrofiber* and Paraffin Gauze Dressing on Split-Thickness Skin Graft Donor Sites. *Ann Plast Surg.* 2009;62(4):421–2.
195. Zhang X, Yao M, Chen M, Li L, Dong C, Hou Y, et al. Hyaluronic Acid-Coated Silver Nanoparticles As a NanoplatforM for *in Vivo* Imaging Applications. *ACS Appl Mater Interfaces.* 2016;8(39):25650–3.
196. Xiong Y. Morphological changes in Ag nanocrystals triggered by citrate photoreduction and governed by oxidative etching. *Chem Commun.* 2011;47(5):1580–2.
197. Mandal A, Sekar S, Seeni Meera KM, Mukherjee A, Sastry TP, Mandal AB. Fabrication of collagen scaffolds impregnated with sago starch capped silver nanoparticles suitable for biomedical applications and their physicochemical studies. *Phys Chem Chem Phys.* 2014;16(37):20175–83.
198. Luo Z, Zheng K, Xie J. Engineering ultrasmall water-soluble gold and silver nanoclusters for biomedical applications. *Chem Commun.* 2014;50(40):5143–55.

199. Lu W, Senapati D, Wang S, Tovmachenko O, Singh AK, Yu H, et al. Effect of surface coating on the toxicity of silver nanomaterials on human skin keratinocytes. *Chem Phys Lett*. 2010;487(1–3):92–6.
200. Evanko SP, Wight TN. Intracellular Localization of Hyaluronan in Proliferating Cells. *J Histochem Cytochem*. 1999;47(10):1331–41.
201. Abdel-Mohsen AM, Hrdina R, Burgert L, Krylová G, Abdel-Rahman RM, Krejčová A, et al. Green synthesis of hyaluronan fibers with silver nanoparticles. *Carbohydr Polym*. 2012;89(2):411–22.
202. Rakel BA, Bermel MA, Abbott LI, Baumler SK, Burger MR, Dawson CJ, et al. Split-thickness skin graft donor site care: a quantitative synthesis of the research. *Appl Nurs Res*. 1998;11(4):174–82.
203. Fowler A, Dempsey A. Split-thickness skin graft donor sites. *J Wound Care*. 1998;7(8):399–402.
204. Feldman DL. Which dressing for split-thickness skin graft donor sites? *Ann Plast Surg*. 1991;27(3):288–91.
205. Dornseifer U, Lonc D, Gerstung TI, Herter F, Fichter AM, Holm C, et al. The Ideal Split-Thickness Skin Graft Donor-Site Dressing. *Plast Reconstr Surg*. 2011;128(4):918–24.
206. Wiechula R. The use of moist wound-healing dressings in the management of split-thickness skin graft donor sites: a systematic review. *Int J Nurs Pract*. 2003;9(2):S9–17.
207. Moreno-Giménez JC, Galán-Gutiérrez M, Jiménez-Puya R. Tratamiento de las úlceras crónicas. Vol. 96, *Actas Dermo-Sifiliograficas*. Ediciones Doyma, S.L.; 2005. p. 133–46.
208. Alvarez OM, Mertz PM, Eaglstein WH. The effect of occlusive dressings on collagen

- synthesis and re-epithelialization in superficial wounds. *J Surg Res.* 1983;35(2):142–8.
209. Argirova M, Hadjiski O, Victorova A. Acticoat versus Allevyn as a split-thickness skin graft donor-site dressing: a prospective comparative study. *Ann Plast Surg.* 2007;59(4):415–22.
210. Voineskos SH, Ayeni OA, McKnight L, Thoma A. Systematic Review of Skin Graft Donor-Site Dressings. *Plast Reconstr Surg.* 2009;124(1):298–306.
211. Hermans MHE. Results of an Internet Survey on the Treatment of Partial Thickness Burns, Full Thickness Burns, and Donor Sites. *J Burn Care Res.* 2007;28(6):835–47.
212. Geary PM, Tiernan E. Management of split skin graft donor sites – results of a national survey. *J Plast Reconstr Aesthetic Surg.* 2009;62(12):1677–83.
213. Lyall PW, Sinclair SW. Australasian survey of split skin graft donor site dressings. *Aust N Z J Surg.* 2000;70(2):114–6.
214. Higgins L, Wasiak J, Spinks A, Cleland H. Split-thickness skin graft donor site management: a randomized controlled trial comparing polyurethane with calcium alginate dressings. *Int Wound J.* 2012;9(2):126–31.
215. Demirtas Y, Yagmur C, Soylemez F, Ozturk N, Demir A. Management of split-thickness skin graft donor site: A prospective clinical trial for comparison of five different dressing materials. *Burns.* 2010;36(7):999–1005.
216. Brölmann FE, Eskes AM, Goslings JC, Niessen FB, De Bree R, Vahl AC, et al. Randomized clinical trial of donor-site wound dressings after split-skin grafting. *Br J Surg.* 2013;100(5):619–27.
217. Gall Y. Acide hyaluronique :Structure, métabolisme et implication dans la cicatrisation.

- Ann Dermatol Venereol. 2010;137(SUPPL. 1):S30–9.
218. Vedamurthy M. Soft tissue augmentation--use of hyaluronic acid as dermal filler. Indian J Dermatol Venereol Leprol. 2004;70(6):383–7.
219. Itano N. Simple Primary Structure, Complex Turnover Regulation and Multiple Roles of Hyaluronan. J Biochem. 2008;144(2):131–7.
220. Fraser JRE, Laurent TC, Laurent UBG. Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. J Intern Med. 1997;242(1):27–33.
221. BARRY F. Proteoglycans: structure and function. Biochem Soc Trans. 1990;18(2).
222. Sudha PN, Rose MH. Beneficial Effects of Hyaluronic Acid. In: Advances in food and nutrition research. 2014. p. 137–76.
223. Tammi MI, Day AJ, Turley EA. Hyaluronan and homeostasis: a balancing act. J Biol Chem. 2002;277(7):4581–4.
224. Verdier-Sévrain S, Bonté F. Skin hydration: a review on its molecular mechanisms. J Cosmet Dermatol. 2007;6(2):75–82.
225. Balazs EA, Denlinger JL. Clinical uses of hyaluronan. Ciba Found Symp. 1989;143:265–75; discussion 275-80, 281–5.
226. Hyaluronate receptors: key players in growth, differentiation, migration and tumor progression. - PubMed - NCBI [Internet].
227. Lesley J, Hyman R, Kincade PW. CD44 and its interaction with extracellular matrix. Adv Immunol. 1993;54:271–335.
228. Banerji S, Ni J, Wang S-X, Clasper S, Su J, Tammi R, et al. LYVE-1, a New Homologue

- of the CD44 Glycoprotein, Is a Lymph-specific Receptor for Hyaluronan. *J Cell Biol.* 1999;144(4):789–801.
229. Hemshekhar M, Thushara RM, Chandranayaka S, Sherman LS, Kemparaju K, Girish KS. Emerging roles of hyaluronic acid bioscaffolds in tissue engineering and regenerative medicine. *Int J Biol Macromol.* 2016;86:917–28.
230. Maytin E V, Chung HH, Seetharaman VM. Hyaluronan participates in the epidermal response to disruption of the permeability barrier in vivo. *Am J Pathol.* 2004;165(4):1331–41.
231. Takeda M, Terasawa H, Sakakura M, Yamaguchi Y, Kajiwara M, Kawashima H, et al. ¹³C and ¹⁵N backbone resonance assignments of the hyaluronan-binding domain of CD44. *J Biomol NMR.* 2004;29(1):97–8.
232. Gao F, Liu Y, He Y, Yang C, Wang Y, Shi X, et al. Hyaluronan oligosaccharides promote excisional wound healing through enhanced angiogenesis. *Matrix Biol.* 2010;29(2):107–16.
233. Savani RC, Cao G, Pooler PM, Zaman A, Zhou Z, DeLisser HM. Differential involvement of the hyaluronan (HA) receptors CD44 and receptor for HA-mediated motility in endothelial cell function and angiogenesis. *J Biol Chem.* 2001;276(39):36770–8.
234. Tufvesson E, Westergren-Thorsson G. Alteration of proteoglycan synthesis in human lung fibroblasts induced by interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha. *J Cell Biochem.* 2000;77(2):298–309.
235. Karvinen S, Pasonen-Seppänen S, Hyttinen JMT, Pienimäki J-P, Törrönen K, Jokela TA, et al. Keratinocyte growth factor stimulates migration and hyaluronan synthesis in the epidermis by activation of keratinocyte hyaluronan synthases 2 and 3. *J Biol Chem.*

- 2003;278(49):49495–504.
236. Watanabe K, Yamaguchi Y. Molecular identification of a putative human hyaluronan synthase. *J Biol Chem.* 1996;271(38):22945–8.
237. Jiang D, Liang J, Noble PW. Hyaluronan as an immune regulator in human diseases. *Physiol Rev.* 2011;91(1):221–64.
238. Spicer AP, Tien JYL. Hyaluronan and morphogenesis. *Birth Defects Res Part C Embryo Today Rev.* 2004;72(1):89–108.
239. Elias JA, Krol RC, Freundlich B, Sampson PM. Regulation of human lung fibroblast glycosaminoglycan production by recombinant interferons, tumor necrosis factor, and lymphotoxin. *J Clin Invest.* 1988;81(2):325–33.
240. Al'Qteishat A, Gaffney J, Krupinski J, Rubio F, West D, Kumar S, et al. Changes in hyaluronan production and metabolism following ischaemic stroke in man. *Brain.* 2006;129(8):2158–76.
241. Su T, Long X, Li H, Zhang G. [The effect of intra-articular injection of sodium hyaluronate and prednisolone on rabbits' temporomandibular joints]. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi.* 2000;18(1):16–9.
242. Tammi R, Pasonen-Seppänen S, Kolehmainen E, Tammi M. Hyaluronan Synthase Induction and Hyaluronan Accumulation in Mouse Epidermis Following Skin Injury. *J Invest Dermatol.* 2005;124(5):898–905.
243. Yung S, Thomas GJ, Davies M, Lehr HA, Otto M, Kohler H, et al. Induction of hyaluronan metabolism after mechanical injury of human peritoneal mesothelial cells in vitro. *Kidney Int.* 2000;58(5):1953–62.

244. Weigel PH, Hascall VC, Tammi M. Hyaluronan synthases. *J Biol Chem.* 1997;272(22):13997–4000.
245. Kreil G. Hyaluronidases--a group of neglected enzymes. *Protein Sci.* 1995;4(9):1666–9.
246. Bates EJ, Harper GS, Lowther DA, Preston BN. Effect of oxygen-derived reactive species on cartilage proteoglycan-hyaluronate aggregates. *Biochem Int.* 1984;8(5):629–37.
247. Danishefsky I, Bella A. The sulfated mucopolysaccharides from human umbilical cord. *J Biol Chem.* 1966;241(1):143–6.
248. Liu L, Du G, Chen J, Zhu Y, Wang M, Sun J. Microbial production of low molecular weight hyaluronic acid by adding hydrogen peroxide and ascorbate in batch culture of *Streptococcus zooepidemicus*. *Bioresour Technol.* 2009;100(1):362–7.
249. Kablik J, Monheit GD, Yu L, Chang G, Gershkovich J. Comparative Physical Properties of Hyaluronic Acid Dermal Fillers. *Dermatologic Surg.* 2009;35(Sup 1):302–12.
250. Duranti F, Salti G, Bovani B, Calandra M, Rosati ML. Injectable hyaluronic acid gel for soft tissue augmentation. A clinical and histological study. *Dermatol Surg.* 1998;24(12):1317–25.
251. Hsu S-H, Leu Y-L, Hu J-W, Fang J-Y. Physicochemical characterization and drug release of thermosensitive hydrogels composed of a hyaluronic acid/pluronic f127 graft. *Chem Pharm Bull (Tokyo).* 2009;57(5):453–8.
252. Liao Y-H, Jones SA, Forbes B, Martin GP, Brown MB. Hyaluronan: Pharmaceutical Characterization and Drug Delivery. *Drug Deliv.* 2005;12(6):327–42.
253. Friedman PM, Mafong EA, Kauvar ANB, Geronemus RG. Safety data of injectable nonanimal stabilized hyaluronic acid gel for soft tissue augmentation. *Dermatol Surg.*

- 2002;28(6):491–4.
254. Olenius M. The first clinical study using a new biodegradable implant for the treatment of lips, wrinkles, and folds. *Aesthetic Plast Surg.* 22(2):97–101.
255. Lupton JR, Alster TS. Cutaneous hypersensitivity reaction to injectable hyaluronic acid gel. *Dermatol Surg.* 2000;26(2):135–7.
256. Lowe NJ, Maxwell CA, Lowe P, Duick MG, Shah K. Hyaluronic acid skin fillers: adverse reactions and skin testing. *J Am Acad Dermatol.* 2001;45(6):930–3.
257. Matarasso SL, Carruthers JD, Jewell ML. Consensus Recommendations for Soft-tissue Augmentation with Nonanimal Stabilized Hyaluronic Acid (restylane). *Plast Reconstr Surg.* 2006;117(3):3S-34S.
258. Artzi O, Loizides C, Verner I, Landau M. Resistant and Recurrent Late Reaction to Hyaluronic Acid–Based Gel. *Dermatologic Surg.* 2016;42(1):31–7.
259. Friedman PM, Mafong EA, Kauvar ANB, Geronemus RG. Safety data of injectable nonanimal stabilized hyaluronic acid gel for soft tissue augmentation. *Dermatol Surg.* 2002;28(6):491–4.
260. Ferreira MC, Tuma Júnior P, Carvalho VF, Kamamoto F. Complex wounds. *Clinics.* 2006;61(6):571–8.
261. Olejnik A, Goscianska J, Zielinska A, Nowak I. Stability determination of the formulations containing hyaluronic acid. *Int J Cosmet Sci.* 2015;37(4):401–7.
262. Leaper DJ. Silver dressings: Their role in wound management. Vol. 3, *International Wound Journal.* Blackwell Publishing Ltd; 2006. p. 282–94.
263. Khundkar R, Malic C, Burge T. Use of Acticoat??? dressings in burns: What is the

- evidence? Burns. 2010;36(6):751–8.
264. Koller J. Topical treatment of partial thickness burns by silver sulfadiazine plus hyaluronic acid compared to silver sulfadiazine alone: A double-blind, clinical study. *Drugs Exp Clin Res.* 2004;30(5–6):183–90.
265. Palumbo FP, Gazzabin L, Serantoni S, Palumbo FP. Hyaluronic acid and metallic silver treatment of chronic wounds: healing rate and bacterial load control. *J Wound Care.* 2019;28(7):482–90.
266. Price RD, Berry MG, Navsaria HA, al. et. Hyaluronic acid: the scientific and clinical evidence. *J Plast Reconstr Aesthet Surg.* 2007;60(10):1110–9.
267. Lark MW, Laterra J, Culp LA. Close and focal contact adhesions of fibroblasts to a fibronectin-containing matrix. Vol. 44, *Federation Proceedings.* 1985. p. 394–403.
268. Doillon CJ, Silver FH, Berg RA. Fibroblast growth on a porous collagen sponge containing hyaluronic acid and fibronectin. *Biomaterials.* 1987;8(3):195–200.
269. Murashita T, Nakayama Y, Hirano T, Ohashi S. Acceleration of granulation tissue ingrowth by hyaluronic acid in artificial skin. *Br J Plast Surg.* 1996;49(1):58–63.
270. Nakamura M, Sato N, Chikama TI, Hasegawa Y, Nishida T. Hyaluronan facilitates corneal epithelial wound healing in diabetic rats. *Exp Eye Res.* 1997;64(6):1043–50.
271. Brogan DM, Kakar S. Management of neuromas of the upper extremity. *Hand Clin.* 2013;29(3):409–20.
272. Meran S, Thomas DW, Stephens P, Enoch S, Martin J, Steadman R, et al. Hyaluronan facilitates transforming growth factor-beta1-mediated fibroblast proliferation. *J Biol Chem.* 2008;283(10):6530–45.

273. Gao Y, Sun Y, Yang H, Qiu P, Cong Z, Zou Y, et al. A Low Molecular Weight Hyaluronic Acid Derivative Accelerates Excisional Wound Healing by Modulating Pro-Inflammation, Promoting Epithelialization and Neovascularization, and Remodeling Collagen. *Int J Mol Sci Artic.* 2019;
274. Bastu E, Akhan SE, Mutlu MF, Nehir A, Yumru H, Hocaoglu E, et al. Treatment of vaginal agenesis using a modified McIndoe technique: Long-term follow-up of 23 patients and a literature review. *Can J Plast Surg.* 2012;20(4):241–4.
275. El-Aassar MR, Ibrahim OM, Fouda MMG, El-Beheri NG, Agwa MM. Wound healing of nanofiber comprising Polygalacturonic/Hyaluronic acid embedded silver nanoparticles: In-vitro and in-vivo studies. *Carbohydr Polym.* 2020;238:116175.
276. Litwiniuk M, Krejner A, Speyrer MS, Gauto AR, Grzela T. Hyaluronic Acid in Inflammation and Tissue Regeneration. *Wounds a Compend Clin Res Pract.* 2016;28(3):78–88.
277. Dy CJ, Daluiski A. Flexor Pulley Reconstruction. *Hand Clin.* 2013;29(2):235–42.
278. Shaharudin A, Aziz Z. Effectiveness of Hyaluronic acid and its derivatives on chronic wounds: A systematic review. Vol. 25, *Journal of Wound Care.* MA Healthcare Ltd; 2016. p. 585–92.
279. Costagliola M, Agrosi M. Second-degree burns: a comparative, multicenter, randomized trial of hyaluronic acid plus silver sulfadiazine vs. silver sulfadiazine alone. *Curr Med Res Opin.* 2005;21(8):1235–40.
280. Ghazi K, Deng-Pichon U, Warnet JM, Rat P. Hyaluronan Fragments Improve Wound Healing on In Vitro Cutaneous Model through P2X7 Purinoreceptor Basal Activation: Role of Molecular Weight. *PLoS One.* 2012;7(11).

281. Winter GD. Formation of the scab and the rate of epithelization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig. *Nature*. 1962;193(4812):293–4.
282. King SR, Hickerson WL, Proctor KG. Beneficial actions of exogenous hyaluronic acid on wound healing. *Surgery*. 1991;109(1):76–84.
283. Singer AJ, Clark RAF. Cutaneous Wound Healing. Epstein FH, editor. *N Engl J Med*. 1999;341(10):738–46.
284. Fong J, Wood F. Nanocrystalline silver dressings in wound management: A review. *Int J Nanomedicine*. 2006;1(4):441–9.
285. Ravensdale J, Wood F, O'Brien F, Gregg K. Investigations into methods to improve the antibacterial activity of Acticoat. *J Med Microbiol*. 2016;65(5):397–405.
286. Argirova M, Hadjiski O, Victorova A. Acticoat Versus Allevyn as a Split-Thickness Skin Graft Donor-Site Dressing. *Ann Plast Surg*. 2007;59(4):415–22.
287. Lee A-RC, Moon HK. Effect of topically applied silver sulfadiazine on fibroblast cell proliferation and biomechanical properties of the wound. *Arch Pharm Res*. 2003;26(10):855–60.
288. Hartmann CA, Rode H, Kramer B. Acticoat™ stimulates inflammation, but does not delay healing, in acute full-thickness excisional wounds. *Int Wound J*. 2015;13(6).
289. Velázquez-Velázquez JL, Santos-Flores A, Araujo-Meléndez J, Sánchez-Sánchez R, Velasquillo C, González C, et al. Anti-biofilm and cytotoxicity activity of impregnated dressings with silver nanoparticles. *Mater Sci Eng C*. 2015;49:604–11.
290. Innes ME, Umraw N, Fish JS, Gomez M, Cartotto RC. The use of silver coated dressings on donor site wounds: A prospective, controlled matched pair study. *Burns*.

- 2001;27(6):621–7.
291. Sáez-Martín LC, García-Martínez L, Román-Curto C, Sánchez-Hernández M V., Suárez-Fernández RM. Negative pressure and nanocrystalline silver dressings for nonhealing ulcer: A randomized pilot study. *Wound Repair Regen.* 2015;23(6):948–52.
292. Lu W, Senapati D, Wang S, Tovmachenko O, Singh AK, Yu H, et al. Effect of Surface Coating on the Toxicity of Silver Nanomaterials on Human Skin Keratinocytes. *Chem Phys Lett.* 2010;487(1–3).
293. Cho Lee A-R, Leem H, Lee J, Park KC. Reversal of silver sulfadiazine-impaired wound healing by epidermal growth factor. *Biomaterials.* 2005;26(22):4670–6.
294. Brown JA. The role of hyaluronic acid in wound healing's proliferative phase. *J Wound Care.* 2004;13(2):48–51.
295. Guillemin Y, Trouillas M, Ségalen C, Alexaline MM, Nivet M, Lataillade J-J, et al. Jacobs Journal of Clinical Trials Hyaluronic Acid and Silver Sulfadiazine Combination: Evaluation in a Second Degree Burns Rat Model. *J J Clin Trials.* 2016;1(11):5–5.
296. Société française d'étude et de traitement des brûlures. S, COSTAGLIOLA M, GALLIZZIA J, MELEY M, PANNIER M, WASSERMANN D. Brûlures : revue française de brûlologie. [Internet]. Vol. 4, Brûlures. Carrefour médical; 2001. 230–236 p.
297. Kontoes PP, Vrettou CP, Loupatatzi AN, Marayiannis K V, Foukas PG, Vlachos SP. Wound healing after laser skin resurfacing: the effect of a silver sulfadiazine-hyaluronic acid-containing cream under an occlusive dressing. *J Cosmet Laser Ther.* 2010;12(1):10–3.
298. Preclinical Evaluation of Wound Treatment with Hyaluronan-Iodine Hydrogel | Request

- PDF [Internet].
299. Rehim SA, Singhal M, Chung KC. Dermal skin substitutes for upper limb reconstruction: Current status, indications, and contraindications. *Hand Clin.* 2014;30(2):239–52.
 300. Laurent TC, Laurent UB, Fraser JR. Functions of hyaluronan. *Ann Rheum Dis.* 1995;54(5):429–32.
 301. Prehm P. Biosynthesis of hyaluronan: direction of chain elongation. *Biochem J.* 2006;398(3):469–73.
 302. Reinmüller J. Hyaluronic acid. *Aesthetic Surg J.* 2003;23(4):309–11.
 303. Borrelli MR, Sinha V, Landin ML, Chicco M, Echlin K, Agha RA, et al. A systematic review and meta-analysis of antibiotic prophylaxis in skin graft surgery: A protocol. *Int J Surg Protoc.* 2019;14:14–8.
 304. Dalmedico MM, Meier MJ, Felix JVC, Pott FS, Petz F de FC, Santos MC. Hyaluronic acid covers in burn treatment: a systematic review. *Rev Esc Enferm USP.* 2016;50(3):522–8.
 305. J Koller. Topical Treatment of Partial Thickness Burns by Silver Sulfadiazine Plus Hyaluronic Acid Compared to Silver Sulfadiazine Alone. Vol. 30. 2004.
 306. Pavesio A, Renier D, Cassinelli C, Morra M. Anti-adhesive surfaces through hyaluronan coatings. *Med Device Technol.* 1997;8(7):20–1, 24–7.
 307. Pirnazar P, Wolinsky L, Nachnani S, Haake S, Pilloni A, Bernard GW. Bacteriostatic Effects of Hyaluronic Acid. *J Periodontol.* 1999;70(4):370–4.
 308. Romanò CL, De Vecchi E, Bortolin M, Morelli I, Drago L. Hyaluronic Acid and Its Composites as a Local Antimicrobial/Anti-adhesive Barrier. *J Bone Jt Infect.* 2017;2(1):63–72.

309. Ardizzoni A, Neglia RG, Baschieri MC, Cermelli C, Caratozzolo M, Righi E, et al. Influence of hyaluronic acid on bacterial and fungal species, including clinically relevant opportunistic pathogens. *J Mater Sci Mater Med*. 2011;22(10):2329–38.
310. Gariboldi S, Palazzo M, Zanobbio L, Selleri S, Sommariva M, Sfondrini L, et al. Low Molecular Weight Hyaluronic Acid Increases the Self-Defense of Skin Epithelium by Induction of β -Defensin 2 via TLR2 and TLR4. *J Immunol*. 2008;181(3):2103–10.
311. Drago L, Cappelletti L, De Vecchi E, Pignataro L, Torretta S, Mattina R. Antiadhesive and antibiofilm activity of hyaluronic acid against bacteria responsible for respiratory tract infections. *APMIS*. 2014;122(10):1013–9.
312. Kostenko V, Lyczak J, Turner K, Martinuzzi RJ. Impact of silver-containing wound dressings on bacterial biofilm viability and susceptibility to antibiotics during prolonged treatment. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(12):5120–31.
313. Pea E de L, Sala S, Rovira JC, Schmidt RF, Belmonte C. Elastoviscous substances with analgesic effects on joint pain reduce stretch-activated ion channel activity in vitro. *Pain*. 2002;99(3):501–8.
314. Aihara S, Murakami N, Iship R, Kariya K, Azuma Y, Hamada K, et al. Effects of sodium hyaluronate on the nociceptive response of rats with experimentally induced arthritis. *Folia Pharmacol Jpn*. 1992;100(4):359–65.
315. Moore AR, Willoughby DA. Hyaluronan as a drug delivery system for diclofenac: A hypothesis for mode of action. Vol. 17, *International Journal of Tissue Reactions*. 1995. p. 153–6.
316. Ferrari LF, Khomula E V., Araldi D, Levine JD. CD44 signaling mediates high molecular weight hyaluronan-induced antihyperalgesia. *J Neurosci*. 2018;38(2):308–21.

317. Aley KO, Levine JD. Role of protein kinase A in the maintenance of inflammatory pain. *J Neurosci.* 1999;19(6):2181–6.
318. Erbatur S, Coban YK, Aydın EN. Comparison of clinical and histopathological results of hyalomatrix usage in adult patients. *Int J Burns Trauma.* 2012;2(2):118–25.
319. Yang H, Gao Y, Sun Y, Yang H. A Low Molecular Weight Hyaluronic Acid Derivative Accelerates Excisional Wound Healing by Modulating Pro-Inflammation, Promoting Epithelialization and Neovascularization, and Remodeling Collagen. *Int J Mol Sci.* 2019;20(15).
320. Anderson I. The properties of hyaluronan and its role in wound healing. *Prof Nurse.* 2001;17(4):232–5.
321. Govindaraju P, Todd L, Shetye S, Monslow J, Puré E. CD44-dependent inflammation, fibrogenesis, and collagenolysis regulates extracellular matrix remodeling and tensile strength during cutaneous wound healing HHS Public Access. *Matrix Biol.* 2019;314–30.
322. Yildirim R, Guner A, Cekic AB, Usta MA, Ulusahin M, Turkyilmaz S. Outcomes of the Use of Hyaluronic Acid-Based Wound Dressings for the Treatment of Partial-Thickness Facial Burns. *J Burn Care Res.*
323. Riccio M, Marchesini A, Senesi L, Skrami E, Gesuita R, De Francesco F. Managing Pathologic Scars by Injecting Auto-Cross-linked Hyaluronic Acid: A Preliminary Prospective Clinical Study. *Aesthetic Plast Surg.* 2019;43(2):480–9.
324. Atiyeh BS, Gunn SW, Hayek SN. State of the art in burn treatment. Vol. 29, *World Journal of Surgery.* Springer; 2005. p. 131–48.
325. Wisniewski HG, Vilček J. Cytokine-induced gene expression at the crossroads of innate

- immunity, inflammation and fertility: TSG-6 and PTX3/TSG-14. Vol. 15, Cytokine and Growth Factor Reviews. 2004. p. 129–46.
326. Sidgwick GP, Iqbal SA, Bayat A. Altered expression of hyaluronan synthase and hyaluronidase mRNA may affect hyaluronic acid distribution in keloid disease compared with normal skin. *Exp Dermatol*. 2013;22(5):377–9.
327. Guo S, DiPietro LA. Factors Affecting Wound Healing. *J Dent Res*. 2010;89(3):219.
328. Santos JS dos, Monte-Alto-Costa A. Female, but not male, mice show delayed cutaneous wound healing following aspirin administration. *Clin Exp Pharmacol Physiol*. 2013;40(2):90–6.
329. Wang Y, He G, Tang H, Shi Y, Kang X, Lyu J, et al. Aspirin inhibits inflammation and scar formation in the injury tendon healing through regulating JNK/STAT-3 signalling pathway. *Cell Prolif*. 2019;52(4).
330. Gall Y. [Hyaluronic acid: structure, metabolism and implication in cicatrisation]. *Ann Dermatol Venereol*. 2010;137 Suppl 1:S30-9.
331. Exogenous hyaluronic acid and wound healing: an updated vision - *Panminerva Medica* 2012 June;54(2):129-35 - *Minerva Medica - Journals* [Internet].
332. Impaired wound healing in diabetes: the rationale for clinical use of hyaluronic acid plus silver sulfadiazine - *Minerva Medica* 2012 December;103(6):533-9 - *Minerva Medica - Journals* [Internet].
333. Zhang X, Yao M, Chen M, Li L, Dong C, Hou Y, et al. Hyaluronic Acid-Coated Silver Nanoparticles As a Nanoplatfrom for in Vivo Imaging Applications. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2016;8(39):25650–3.

9. Anexos

1. Dictamen del comité de ética

**COMPLEJO
ASISTENCIAL
UNIVERSITARIO
DE SALAMANCA**
Paseo de San Vicente. 58-182
37007 Salamanca
Comité de Ética de la Investigación con medicamentos
Teléfono: 923 29 11 00 – Ext. 55 515



E-mail: comite.etico.husa@saludcastillayleon.es

DE: Comité de Ética de la Investigación con medicamentos

A: DIRECCIÓN MÉDICA

La Dr^a Dña. Rosana Hernández Vicente, Investigadora del Estudio titulado; "ÁCIDO HIALURÓNICO EN ZONAS DONANTES" y el Dr. Don Ender Goñi, Responsable de Servicio de Cirugía Plástica, informan de que el desarrollo de esta investigación no exige dedicar recursos personales ni materiales que precisen financiación adicional a cargo del Centro.

Asimismo, Don Ender Goñi, Responsable de Servicio de Cirugía Plástica manifiesta que el estudio puede ser realizado sin repercusión negativa sobre la actividad asistencial ordinaria del Servicio.

Salamanca, a 20 de enero de 2017

Investigador Principal

Responsable de Servicio

Fdo.: Rosana Hernández Vicente

Fdo.: Dr. Goñi

Vº. Bº. Dirección Médica

EL DIRECTOR MÉDICO

Fdo.:

Fdo.: José C. Gómez Sánchez



Junta de
Castilla y León

2. Consentimiento informado



CONSENTIMIENTO INFORMADO PARA TRATAMIENTO DE ZONAS DONANTES CON ACIDO HIALURONICO

Nombre del paciente:
NHC:
Médico que informa:
Fecha:

DESCRIPCION DEL PROCEDIMIENTO

Las pérdidas de sustancia, perdidas de integridad cutánea, precisan para su tratamiento tejido cutáneo sano tomado de otra parte de su cuerpo. Esta técnica se denomina de autoinjerto, y es realmente un trasplante de piel de tejido autólogo, es decir, el donante es el propio paciente.

Este injerto libre se utiliza para el tratamiento de la pérdida de sustancia por la que se indicó la cirugía, pero a su vez deja una zona cruenta, con herida, que tendrá que curar por segunda intención. Esta zona es dolorosa y puede, como en todo procedimiento quirúrgico, presentar infección, sangrado, retardo en la cicatrización.

Esta zona necesita unos cuidados específicos, para lo cual se han utilizado y se siguen utilizando distintos métodos de cura y distintos apósitos, como la plata iónica. Sin embargo, ninguno de los tratamientos desarrollados hasta la actualidad se considera el ideal. Por esta razón se siguen investigando nuevos tratamientos que permitan conseguir una epitelización más rápida, sin complicaciones y que consigan mejoría de las características de la cicatriz resultante. En nuestro estudio evaluaremos la evolución de la herida con los productos aplicados tanto de forma aguda, hasta la cicatrización, como a largo plazo, para medir la calidad y características estéticas de la cicatriz. Para esta última fase necesitaremos una muestra de su piel, que tomaremos mediante biopsia una vez que la zona donante del injerto este curada. Necesitaremos, así mismo, realizarle pruebas analíticas previas a la intervención y durante el periodo de seguimiento del tratamiento.

Los productos utilizados en este caso son utilizados de forma habitual en el tratamiento de heridas infectadas, por ser potentes antisépticos (apósito de plata) y haber demostrado su utilidad en la mejora de la calidad y características de la piel (ácido hialurónico).

RIESGOS DEL PROCEDIMIENTO EN LA ZONA DONANTE

Como siempre que se realiza una intervención quirúrgica, existe el riesgo de infección de la zona, sangrado y cicatriz patológica. Si cualquier complicación ocurre serán necesarios cuidados más frecuentes y específicos de la zona.

RIESGOS PERSONALIZADOS

Dado que usted padece enfermedades concomitantes la posibilidad de presentar complicaciones aumentará, siendo mayor este riesgo cuanto mayor es el número de estas, de lo cual se informa e insiste verbalmente

ALTERNATIVAS

El consentimiento que ahora firma nos autorizará a curar su zona donante con apósito de plata y ácido hialurónico. Nos autoriza a tomar muestra de su piel una vez que la herida haya cicatrizado

Si usted decide no querer ser curado con esta técnica, y no participar en este estudio, se le realizará cualquier otra de las distintas que se utilizan en nuestro servicio por este tratamiento.

DECLARO

Que he sido informado con total claridad por los médicos de los riesgos que conlleva este tratamiento y que me han explicado las posibles alternativas. También he sido informado del tratamiento de los datos clínicos obtenidos de mi caso, así como de las fotografías que puedan tomarme.

Estoy satisfecho con la información recibida, he podido formular todas las preguntas que he creído conveniente y me han aclarado todas las dudas planteadas y en consecuencia:

DOY MI CONSENTIMIENTO

Doy mi consentimiento para tratar la zona donante, resultante de la toma de un autoinjerto necesario para la curación de mi pérdida de sustancia, con los productos mencionados arriba. Doy mi consentimiento para la realización de las pruebas analíticas que se me soliciten. Doy mi consentimiento para la realización de biopsia de la zona intervenida. Doy consentimiento para que los datos clínicos puedan ser utilizados en investigaciones médicas. Doy mi consentimiento para que me sean tomadas fotografías. Doy mi consentimiento para que los datos del estudio puedan ser utilizados en la docencia y formación médicas. Doy mi consentimiento para la publicación de los resultados en los distintos medios de divulgación y revistas científicas.

Firma del paciente

Firma del médico

Nombre del representante legal en caso de incapacidad del paciente con indicación del carácter con el que interviene (padre, madre, tutor, etc.):.....

Firma

D.N.I.

NO DOY/ REVOCO MI CONSENTIMIENTO para tratar la zona donante, resultante de la toma de un autoinjerto necesario para la curación de mi pérdida de sustancia, con los productos mencionados arriba.

Firma del paciente / representante legal

Firma del médico

