

ARTÍCULO ORIGINAL

EFFECTO CICATRIZANTE DE UNA CREMA FORMULADA A PARTIR DE HOMOGENIZADO DE CORDÓN UMBILICAL HUMANO EN HERIDAS INCISAS INDUCIDAS EN RATONES

Karen Chávez Crisóstomo ¹, Brenda Chang Letona ¹, Daisy Flores Cortez ^{2, 3}, Blanca Briones ¹, Pascual Barrios ¹, Yesenia Cervera ¹, María Curo ¹, Sheyla Cayturo ¹, Carolyn Francisco ¹, Jennifer Herrera ¹

1. Estudiante de obstetricia, Universidad Nacional Mayor de San Marcos
2. Doctora en Ciencias de la Salud
3. Docente de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos

RESUMEN

Objetivos: Determinar el efecto cicatrizante de una crema formulada de homogenizado del cordón umbilical humano en heridas incisas inducidas en ratones. **Material y Métodos:** Estudio experimental en donde se emplearon 24 ratones albinos, a quienes se les practicó mediante el empleo de un sacabocado una incisión de \pm 7mm de diámetro en el dorso previamente depilado. Los animales fueron agrupados y tratados diariamente durante diez días como: Grupo control negativo (crema base); Grupo experimental (crema de homogenizado de cordón umbilical 1%); Grupo control positivo (Crema Hipoglos®). Se valoró el área de lesión al inicio y al término del tratamiento, así como el estudio histológico al término. **Resultados:** El porcentaje de cierre de las heridas en el grupo control negativo, crema de homogenizado de cordón umbilical (CU) e Hipoglos fueron 84.3%; 90.3% y 83.3% respectivamente; aunque el grupo tratado con homogenizado de CU presentó mayor porcentaje de cierre este no fue significativo respecto a los otros grupos ($p=0.18$); sin embargo el estudio histopatológico mostró aumento de fibroblastos y linfocitos en el grupo con homogenizado de CU. **Conclusiones:** La crema formulada con el homogenizado de cordón umbilical 1% mejora la calidad de la cicatrización de heridas en un modelo experimental inducido en ratones.

Palabras clave: Cordón umbilical, Cicatrización, Ratones

Financiamiento

Autofinanciado

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

Recibido

10 de Noviembre del 2017

Correspondencia

Daisy Flores Cortez. Doctora en Ciencias de la Salud.
dafloresc@yahoo.es

Cita bibliográfica

Chávez K, Chang B, Flores-Cortez D, Briones B, Barrios P, Cervera Y y col. Efecto cicatrizante de una crema formulada a partir de homogenizado de cordón umbilical humano en heridas incisas inducidas en ratones. Rev Int Salud Matern Fetal. 2017; 2(4): 8 – 14.

ABSTRACT

Objectives: To determine the healing effect of a formulated homogenized cream of the human umbilical cord in incised wounds induced in mice. **Material and Methods:** An experimental study comprised of 24 albino mice were used, who were practiced by using a punch with an incision of 7mm of diameter in the previously depilated back. The animals were grouped and treated daily for ten days as: Negative control group (base cream); Experimental group (umbilical cord homogenate cream 1%); Positive control group (Hipoglos® Cream). The area of the lesion was assessed at the beginning and at the end of the treatment, as well as the histological study at the end. **Results:** The percentage of wound closure in the negative control group, umbilical cord homogenate (CU) and Hipoglos were 84.3%; 90.3% and 83.3% respectively; although the group treated with homogenate of CU presented a higher percentage of closure, this was not significant with respect to the other groups ($p = 0.18$); however, the histopathological study shows an increase in fibroblasts and lymphocytes in the CU homogenate group. **Conclusions:** The cream formulated with the umbilical cord homogenate 1% improves the quality of healing in an experimental model induced in mice.

Key Words: Human umbilical cord, Healing, Mice

INTRODUCCIÓN

La piel es uno de los órganos más importante del ser humano tanto por su tamaño como por sus funciones. Es un tejido resistente y flexible que cubre todo el cuerpo y que dentro de sus funciones encontramos a la de protección evitando el ingreso de algún tipo de germen del exterior, separando así nuestro medio interno con el ambiente externo. Pero su función no solo es de protección, si no también tiene un efecto de equilibrio térmico, que nos ayuda a conservar la temperatura corporal además de actuar como barrera ante la pérdida de agua. Además que la edad, el sexo, la raza y el clima son factores que pueden modificar ampliamente el aspecto y la constitución de la piel y la hacen más o menos vulnerable frente a diversas patologías ⁽¹⁾.

Después de un traumatismo en la piel se forma una herida y el proceso de curación se inicia de inmediato. En función del tipo de herida, la epidermis y la dermis pueden quedar destruidas y tienen que ser restauradas mediante la reparación tisular. Este es un proceso muy complejo que hoy día es todavía objeto de una investigación intensiva. La cicatrización es un mecanismo que depende de la hemostasis y de un estado inflamatorio inicial, causado por la lesión. Posteriormente entra en una fase proliferativa de células epidermales, endoteliales y de fibroblastos, que generarán un tejido de granulación inicial. Finalmente sobreviene se presenta neovascularización, generación de una nueva matriz de colágeno que forma una escara y se produce el remodelamiento del tejido de granulación, con la generación de nuevas fibras de colágeno y la diferenciación de los fibroblastos en miofibroblastos, que aumentan la fuerza tensil y permiten la aproximación de los bordes de la lesión ⁽²⁾.

El proceso de la cicatrización de las heridas es una respuesta natural a las injurias destinada a restaurar la integridad tisular en todos los órganos y sistemas y su normal desarrollo constituye la piedra fundamental sobre la cual descansan diversas especialidades médicas. El tiempo necesario para la cicatrización espontánea de las heridas es variable, de manera que una lesión compleja o crónica presenta un tiempo de curación excesivamente largo. Los tratamientos tradicionales establecen entre 150 a 180 días, para lograr una curación efectiva en porcentajes de pacientes ^(2,3).

El tratamiento de las heridas se encuentra desde tiempos remotos en el Papiro de Smith, donde se describen el empleo de grasa de animal, miel y fibras

de algodón. De esta manera curaban la herida, empíricamente a través de mecanismos antibacterianos, osmóticos y enzimáticos⁽⁴⁾. Los esfuerzos de la investigación actual en esta área están dirigidos a establecer acciones terapéuticas más eficaces y de bajo costo ya que no existe un tratamiento ideal. A nivel comercial existen diversos productos farmacéuticos y naturales conteniendo fármacos, vitaminas, minerales, plantas medicinales, que han buscado un efecto mejorado en el proceso de cicatrización. Así mismo se observa un mayor interés en el uso del ácido hialurónico por su efecto en la reparación de heridas de difícil cicatrización ⁽⁵⁾.

El cordón umbilical es un elemento indispensable en la viabilidad de la gestación, aunque una vez finalizado esta etapa forma parte de los productos de desecho, junto con la placenta y las membranas amnióticas. Es también conocido que diversos elementos que componen este tejido se emplearon de antaño en la curación empírica de procesos ulcerosos dérmicos. En la década de los años sesenta, ya se había documentado los beneficios del mismo, debido al desarrollo de un proceso de granulación que conducía a una epitelización satisfactoria ⁽⁶⁾. Así también el cordón umbilical posee células madres que tienen la capacidad de formar glóbulos rojos, leucocitos y plaquetas; elementos muy útiles para mejorar la cicatrización de heridas ⁽⁷⁻⁹⁾. Además se ha reportado el alto porcentaje de ácido hialurónico en el cordón umbilical; sin embargo es fundamental ofrecer mayores evidencias científicas de su eficacia en el proceso de cicatrización para elevar el uso de derivados de cordón umbilical a un nivel clínico ⁽¹⁰⁾.

El objetivo de nuestra investigación es evaluar el efecto cicatrizante de una crema formulada a partir del homogenizado de cordón umbilical en heridas incisas inducidas en ratones.

MATERIAL Y MÉTODOS

ANIMALES

Se emplearon 24 ratones adultos de la especie *Mus musculus*, de sexo masculino, con una edad de dos meses y un peso promedio de 24 g, procedentes del Instituto Nacional de Salud (INS). Se sometieron a un periodo de adaptación de siete días, con agua y alimentación ad libitum, bajo condiciones controladas de temperatura (24°C), humedad relativa (70%) y con un foto-período de 12h de ciclo de luz y 12h de

ciclo de luz y 12h de oscuridad. El proyecto se realizó en el Bioterio de la Facultad de Medicina Humana de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos.

OBTENCIÓN Y PROCESAMIENTO DEL CORDÓN UMBILICAL

Las muestras de cordón umbilical residual fueron obtenidas de una donante atendida en el Servicio de Gineco-Obstetricia de una Institución de salud, previo consentimiento de la paciente. Las condiciones que debió cumplir la donante fueron: gestación a término, catalogado de bajo riesgo obstétrico, controles prenatales completos, pruebas de VIH, Hepatitis, sífilis y TORCH negativo. Se realizó la separación de la placenta del cordón umbilical, luego se procedió a la exanguinación del cordón.

El cordón umbilical fue seccionado en trozos de aproximadamente 2 cm de longitud y congelado a -4°C . Posteriormente se mezcló a una razón de 1000g de tejido/4L de disolución de cloruro de sodio 0,2% p/v, y se homogenizó empleando un homogenizador de tejido. Finalmente se realizó la centrifugación a una velocidad de 7000 rpm.(9) A partir de un producto base se formuló una crema conteniendo el sobrenadante del homogenizado de cordón umbilical.

DISEÑO EXPERIMENTAL

Investigación de tipo experimental, que mide el efecto del homogenizado de cordón umbilical (variable independiente) en el área de la herida, presencia de células inflamatorias, fibroplasia y la neovascularización de las heridas (variables dependientes).

Los ratones fueron anestesiados con ketamina 50ml/kg, IP, se depilaron el área del lomo de todos los animales. Veinticuatro horas después se desinfectaron las áreas depiladas y se les practicó una incisión en el lomo en un área aproximada de 7mm de diámetro empleando un biótomo en sacabocado de acero quirúrgico.

Los ratones fueron tratados aleatoriamente como: Grupo control negativo (n=8): Crema base; Grupo experimental(n=8): crema de homogenizado de cordón umbilical (CU) y Grupo control positivo(n=8): Crema Hipoglós®. Los tratamientos se realizaron diariamente durante 10 días. El volumen empleado por cada animal fue 0.1cc.

Se tomaron imágenes fotográficas de las heridas los días 1 y 10 del experimento. Las lesiones fueron analizadas y sus áreas medidas con el programa de autoCAD 2010®. Se determinó el área de la lesión el día 0 y el día 11. Así mismo se determinó el área de cierre de la herida al final del tratamiento.

PROCESAMIENTO Y EVALUACIÓN HISTOPATOLÓGICA

Al décimo un día de inducida la lesión, se realizó la eutanasia de todos los roedores mediante una sobredosis de pentobarbital sódico intraperitoneal (100mg/kg de peso). Inmediatamente después se tomó una muestra de tejido, por escisión quirúrgica. La fijación de la misma se realizó con formol neutro buffer al 10% por 24 horas, procesándose por la técnica clásica de inclusión en parafina. Las muestras se cortaron a un espesor de 5-8 micrómetros, coloreándose con hematoxilina-eosina. Las observaciones histopatológicas se realizaron por microscopía óptica a través de un microscopio óptico en 2 aumentos: 10X y 40X.

Las imágenes capturadas permitieron evaluar la reepitelización, presencia de fibroblastos, tejido de granulación y respuesta inflamatoria tisular.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Para el análisis de los datos se utilizó el software IBM SPSS v20.0, a fin de determinar las medidas cuantitativas así como sus valores de tendencia central. Se evaluó la normalidad mediante la prueba de Shapiro-Wilk y la diferencia mediante la prueba paramétrica ANOVA y prueba T para muestras relacionadas. El nivel de confianza fue determinado en un 95%.

ASPECTOS ÉTICOS

Se tomaron en cuenta las recomendaciones éticas para el manejo de animales de experimentación según el Instituto Nacional de Salud del Perú (INS) ⁽¹¹⁾. El método de eutanasia empleado fue inducido por Pentobarbital 60 mg/kg; considerado un método aceptable para roedores por el Report of the AVMA Panel on Eutanasia (1993) y el Euthanasia of Experimental Animals, de la Unión Europea (1995) ⁽¹²⁾.

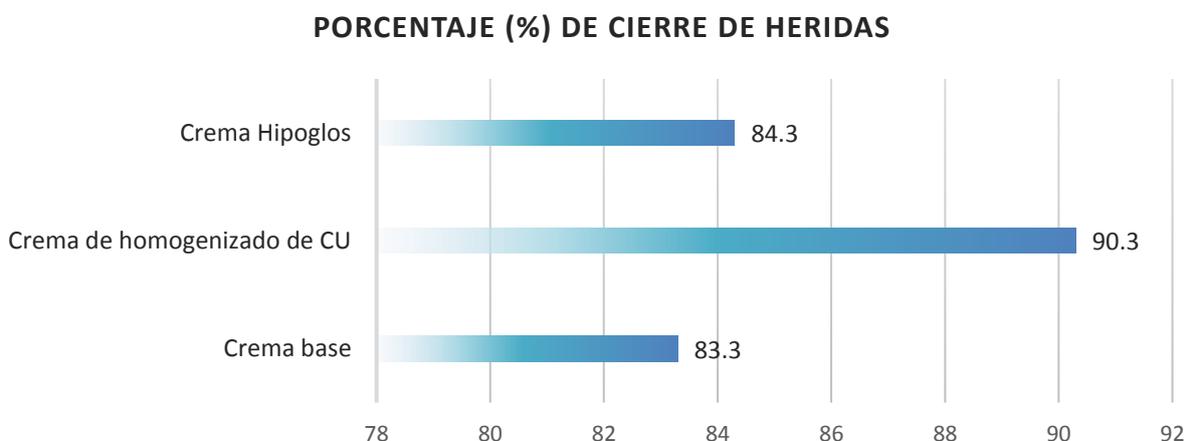
RESULTADOS

En la tabla 1 se observan las áreas de las lesiones en el lomo de los roedores en cada grupo de tratamiento. No se observa diferencias significativas en el área de las lesiones el día 0; sin embargo en el día 11 se obtiene un $p < 0.05$ demostrándose diferencias entre los grupos al final del tratamiento. Así mismo se observa que el 12.5% de los animales del grupo tratado con homogenizado de CU presentaron cicatrización completa de la herida; en contraste a los otros grupos. El p valor de la prueba t para muestras relacionadas obtenidas es < 0.01 para todos los grupos. En todos los casos se demuestra cierre significativo de la lesión en el día 11 de tratamiento.

Tabla 1. Área de lesión de los roedores al inicio y término del tratamiento

Tratamiento	Área de la lesión (mm ²)		p valor
	Día 0	Día 11	
Crema base	0.69 ± 0.21	0.11 ± 0.05	< 0.01
Crema de homogenizado de CU	0.56 ± 0.25	0.05 ± 0.04	< 0.01
Crema Hipoglos®	0.58 ± 0.10	0.09 ± 0.05	< 0.01
p valor entre los tratamientos	0.43	0.03	

Medidas reportadas: Media y Desviación estándar

**Figura 1.** Porcentaje de cierre de heridas al finalizar el tratamiento

El mayor porcentaje de cierre de heridas fue evidenciado en el grupo tratado con homogenizado de CU, donde se observa un 90.3% de reducción en el área de la lesión el día 11 en relación al día 0. El valor p del análisis de varianza de los tres grupos fue 0.18; representado no diferencias significativas entre los tres grupos. (Figura 1)

En relación a los resultados histológicos de las lesiones obtenidas el día 11, en el grupo tratado con crema base se evidencia cantidad de fibroblastos escasa, elevado tejido de granulación. No se encontró presencia de leucocitos. En el grupo tratado con crema de homogenizado de CU se observa notoria cantidad de fibroblastos, habiendo en menor cantidad tejido de granulación y proliferación de linfocitos.

Finalmente en las lesiones tratadas con crema Hipoglos, se muestra que la cantidad de fibroblastos es muy notoria, habiendo en menor cantidad tejido de granulación sin presencia de leucocitos. (Figura 2).

DISCUSIÓN

De acuerdo a los resultados observados en nuestro estudio observamos que el grupo tratado con la crema de homogenizado de CU presentó un mayor porcentaje de cierre de la lesión donde se observa un 90.3% de reducción en el área de la herida el día 11; sin embargo este porcentaje no alcanza significancia ($p=0.18$).

Sin embargo, en la calidad de la cicatrización, evidenciada mediante el estudio histológico, se observa proliferación de fibroblastos, habiendo en menor cantidad tejido de granulación y proliferación de linfocitos. Estos resultados indican una mayor ventaja en la curación de las heridas de este grupo en relación al grupo control.

Como es conocido el proceso de cicatrización de una herida tiene como finalidad la restauración de la integridad física de un tejido, a través de la formación de tejido fibroconectivo. La cicatrización empieza muy

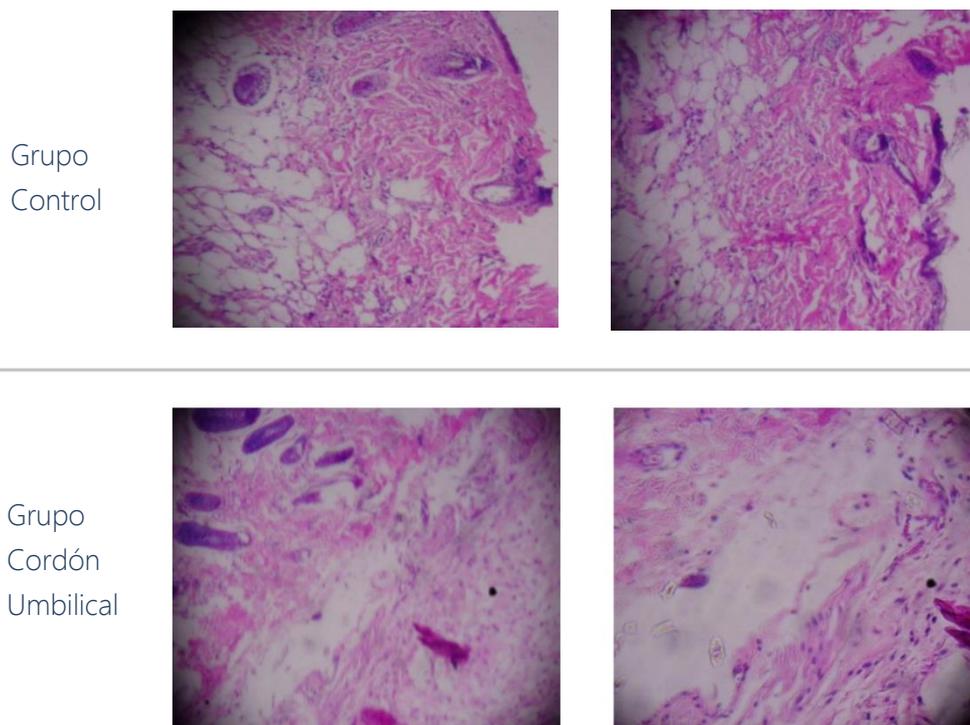


Figura 2. Evaluación histológica de los grupos de tratamiento (10X, 40X)

precozmente en el curso de la inflamación, generalmente, 24 horas después de la lesión proliferan los fibroblastos y las células endoteliales, que forman en un período de 3 a 5 días un tejido especializado, denominado tejido de granulación. La proliferación de fibroblastos en las heridas está relacionado con un rápido proceso de cicatrización ⁽¹³⁾.

El mecanismo por el cual la crema preparada de homogenizado del cordón umbilical humano favoreció a la calidad de cicatrización de las heridas no es del todo claro; sin embargo, existen diversos estudios que plantean posibles hipótesis al respecto.

Alluru et al ⁽¹⁴⁾ plantea que la mejora en la cicatrización es debido a la sangre de cordón umbilical la cual es una fuente rica de células progenitoras hematopoyéticas y no hematopoyéticas que se pueden diferenciar en una variedad de células, que incluyen queratinocitos. Los autores plantean que la transfusión de sangre de cordón puede acelerar la reparación de heridas y quemaduras, y mejorar tanto la morbilidad como la mortalidad por esta causa. Liu et al ⁽¹⁵⁾ sugieren que el trasplante de células mesenquimales de cordón umbilical humano puede mejorar efectivamente la cicatrización de heridas por quemadura en un modelo en ratas, sugiriendo que

podrían ser la base teórica para la aplicación clínica de este compuesto en áreas de quemados. Estos resultados fueron refrendados por otros autores en un modelo experimental murino ⁽¹⁶⁾.

Así mismo estudios similares en modelos animales de ulcera en ratas diabéticas fueron realizados, observándose que diversos componentes de cordón umbilical podrían ofrecer ventajas en la curación de heridas inducidas, aunque los resultados son limitados por la complejidad de esta patología ⁽¹⁷⁻¹⁹⁾.

Así también otros componentes del cordón umbilical podrían favorecer la cicatrización. Bakhtyar y col ⁽²⁰⁾ aislaron gelatina de Wharton de cordones umbilicales demostrando que este compuesto mejora la cicatrización de heridas in vitro, así como in vivo para las heridas en ratones. La tinción in vivo de las heridas reveló una longitud de herida más pequeña en las heridas tratadas en comparación con el tratamiento control mejorando la migración celular y la diferenciación de fibroblastos in vitro, acortando la fase de proliferación de la cicatrización de heridas.

Son diversas las hipótesis planteadas acerca de los posibles elementos contenidos en el cordón umbilical responsables de la cicatrización; tales como el ácido

hialurónico, las células mesenquimales entre otras. El material gelatinoso del cordón umbilical o gelatina de Wharton es una valiosa fuente de células madre mesenquimales con posibilidad de favorecer la curación de las heridas (9,21–23).

Aunque nuestros resultados son preliminares, es necesario mantener la línea de investigación pues resulta prometedor la formulación de un medicamento innovador cicatrizante de origen biológico, rentable y abundantemente disponible, lo que lo convertiría en una opción de tratamiento muy satisfactorio para el vendaje de la herida y la regeneración de la piel, especialmente en heridas de difícil cicatrización.

En conclusión la crema formulada con el homogenizado de cordón umbilical 1% mejora la calidad de la cicatrización de heridas en un modelo experimental inducido en ratones.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos la colaboración del Lic. Miguel Sandoval y el Mag. Q.F. Carlos Cano quienes participaron en la preparación del homogenizado y formulación de la crema a partir de cordón umbilical.

A nuestra donante anónima por permitir el empleo del cordón umbilical producto de su gestación.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Castrillón Rivera LE, Palma Ramos A, Padilla Desgarenes C. La función inmunológica de la piel. *Dermatología Rev Mex* [Internet]. 2008; 52(5): 211–24. Available from: <http://www.medigraphic.com/pdfs/derrevmex/rmd-2008/rmd085b.pdf>
2. Valencia C. Cicatrización: Proceso de reparación tisular. Aproximaciones terapéuticas. *Investig Andin* [Internet]. 2010; 12(20):85–98. Available from: <http://www.scielo.org.co/pdf/inan/v12n20/v12n20a08.pdf>
3. Fernandez J. Heridas de difícil cicatrización. *Rev Cuba Angiol y Cir Vasc* [Internet]. 2012; 13(1). Available from: http://bvs.sld.cu/revistas/ang/vol13_1_12/ang10112.htm
4. Bencomo M, Carballo J, Rodríguez G. *Historia Antigua Universal: Textos medicos del antiguo Egipto*. 2013.
5. Rueda López J, Muñoz Bueno AM, Guerrero Palmero A, Segovia Gómez T, Bermejo Martínez M. Ácido Hialurónico Una Nueva Tendencia En La Curación De Heridas Cutáneas. *Rev ROL enfermería* [Internet]. Rol; 2005; 28(6):53–7. Available from: <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=1195679>
6. Plaza F, Espinoza L, Colmenares G. Usos de la placenta y del cordón umbilical. *Gac Méd Caraca* [Internet]. 2002; 110(2):166–70. Available from: http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:iVIT_ZX7CX0J:www.scielo.org.ve/scielo.php%3Fscript%3Dsci_arttext%26pid%3DS0367-47622002000200002+&cd=1&hl=es-419&ct=clnk&gl=pe
7. You H-J, Namgoong S, Han S-K, Jeong S-H, Dhong E-S, Kim W-K. Wound-healing potential of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stromal cells in vitro—a pilot study. *Cytotherapy* [Internet]. 2015 Nov; 17(11):1506–13. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1465324915009627>
8. Ramírez É, Quiroz J, Báez J, Martínez J. Efecto del ácido hialurónico en la cicatrización de la anastomosis ureteropélica. Estudio experimental. *Cir Ciruj* [Internet]. 2006 [cited 2017 Jun 6];74(1):41–6. Available from: <http://www.redalyc.org/pdf/662/66274108.pdf>
9. Lago G. Cordones umbilicales residuales, nueva fuente de obtención de ácido hialurónico y sus fracciones [Internet]. Centro de Histoterapia Placentaria; 2007 [cited 2017 Jun 6]. Available from: http://tesis.repo.sld.cu/186/1/Tesis_de_Lago_Guillermo.pdf

10. Lago G, Oruña L, Cremata JA, Pérez C, Coto G, Lauzan E, et al. Isolation, purification and characterization of hyaluronan from human umbilical cord residues. *Carbohydr Polym* [Internet]. 2005 [cited 2017 Jun 6];62(4):321–6. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S014861705001591>
11. Fuentes, F; Mendoza, R; Rosales, A; Cisneros R. Guía de manejo y cuidado de animales de laboratorio: Ratón. Lima; 2008.
12. Close B, Banister K, Baumans V, Bernoth E-M, Bromage N, Bunyan J, et al. Recomendaciones para la Eutanasia de los Animales de Experimentación. *Lab Anim* (NY). 1997;31:1–32. Disponible en: <https://secal.es/wp-content/uploads/2014/11/Eutanasia2.pdf.pdf>
13. Alca M, Del Solar M, Bravo F. Efecto de la xantopterina en la cicatrización de heridas por quemaduras en ratas. *Folia dermatol Peru*. 2009; 20(1):13–7. Disponible en: http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/foolia/vol20_n1/pdf/a03v20n1.pdf
14. Alluru R, Norman E. The Use of Human Umbilical Cord Blood for Wound Healing, Burns, and Brain Injury in Combat Zones. *Mil Med* [Internet]. 2011; 176(4): 361–3. Available from: <http://militarymedicine.amsus.org/doi/pdf/10.7205/MIL-MED-D-10-00229>
15. Liu L, Yu Y, Hou Y, Chai J, Duan H, Chu W, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells transplantation; 9(2):e88348. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0088348>
16. Luo G, Cheng W, He W, Wang X, Tan J, Fitzgerald M, et al. Promotion of cutaneous wound healing by local application of mesenchymal stem cells derived from human umbilical cord blood. *Wound Repair Regen* [Internet]. 2010 Sep 14; 18(5):506–13. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1524-475X.2010.00616.x>
17. Maranda E, Rodriguez L, Badiavas E. Role of Mesenchymal Stem Cells in Dermal Repair in Burns and Diabetic Wounds. *Curr Stem Cell Res Ther* [Internet]. 2017; 12(1):61–70. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/labs/articles/27412677/>
18. Milan PB, Lotfibakhshaiesh N, Joghataie MT, Ai J, Pazouki A, Kaplan DL, et al. Accelerated wound healing in a diabetic rat model using decellularized dermal matrix and human umbilical cord perivascular cells. *Acta Biomater* [Internet]. 2016 Nov; 45:234–46. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1742706116304585>
19. Moon K-C, Lee J-S, Han S-K, Lee H-W, Dhong E-S. Effects of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stromal cells and dermal fibroblasts on diabetic wound healing. *Cytotherapy* [Internet]. 2017 Apr 24 [cited 2017 Jun 6];19(7):821–8. Available from: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1465324917305315>
20. Bakhtyar N, Jeschke MG, Mainville L, Herer E, Amini-Nik S. Acellular Gelatinous Material of Human Umbilical Cord Enhances Wound Healing: A Candidate Remedy for Deficient Wound Healing. *Front Physiol* [Internet]. 2017 Apr 4; 8:200. Available from: <http://journal.frontiersin.org/article/10.3389/fphys.2017.00200/full>
21. Oruña L, Coto G, Lago G, Dorta D. Efecto del ácido hialurónico en la cicatrización de heridas. *Rev CENIC Ciencias Biológicas* [Internet]. 2003; 34(2): 73–8. Available from: <http://revista.cnic.edu.cu/revistaCB/sites/default/files/articulos/CB-2003-2-073-078.pdf>
22. Pinkus H, Perry ET. The influence of hyaluronic acid and other substances on tensile strength of healing wounds. *J Invest Dermatol* [Internet]. 1953 [cited 2017 Jun 6];21:365–74. Available from: http://ac.els-cdn.com/S0022202X15484969/1-s2.0-S0022202X15484969-main.pdf?_tid=71e6cd4c-4b13-11e7-ab1e-00000aacb35f&acdnat=1496793434_7582c0deb9f3c2c4658e62be88bc2c60
23. Neuman MG, Nanau RM, Oruña-Sanchez L, Coto G. Hyaluronic Acid and Wound Healing. *J Pharm Pharm Sci* [Internet]. 2015;18(1):53–60. Available from: <https://journals.library.ualberta.ca/jpps/index.php/jpps/article/viewFile/23862/17888>