

## PERANAN FAKTOR PERTUMBUHAN TERHADAP PENYEMBUHAN LUKA DIABETES: REVIEW

**Arvenda Rezky Pratama, Nasrul Wathoni, Taofik Rusdiana**

Departemen Farmasetika dan Teknologi Farmasi

Fakultas Farmasi Universitas Padjadjaran

Jl. Raya Bandung Sumedang KM 21, Jatinangor 45363 - Indonesia

### Abstrak

Diabetes merupakan penyakit yang disebabkan oleh insulin. Salah satu komplikasi kronis yang disebabkan oleh diabetes adalah *diabetic foot ulcer* (DFU) yang disebabkan oleh neuropati perifer dan terganggunya penyembuhan luka. DFU yang parah dapat menyebabkan biaya rumah sakit yang tinggi bahkan hingga amputasi. Tahap-tahap penyembuhan luka yang terdiri dari hemostatis, inflamasi, proliferasi dan remodeling. Pada review ini dijelaskan peranan hormon pertumbuhan untuk mempercepat penyembuhan luka dan contoh aplikasinya.

**Kata Kunci:** Diabetes, *diabetic foot ulcer* (DFU), neuropati perifer, hormon pertumbuhan

### Pendahuluan

Gangguan penyembuhan luka adalah masalah kesehatan yang utama. Diabetes adalah penyebab paling umum dari amputasi tubuh bagian bawah yang tidak traumatis dan 15-20% dari semua luka kaki pada akhirnya akan memerlukan amputasi [1]. Diabetic foot ulcer (DFU) merupakan hal umum dan salah satu komplikasi diabetes yang paling serius karena frekuensi dan penurunan penyembuhan luka yang tinggi. Diperkirakan bahwa risiko terkena ulkus kaki pada pasien diabetes adalah 25%. Cacat pada sirkulasi mikro yang biasanya disertai dengan neuropati perifer dan arterial perifer berpengaruh terhadap perkembangan masalah DFU. Selain itu, diabetes mengubah respon imun dan menurunkan resistensi terhadap infeksi.

Dengan demikian, infeksi luka diabetes semakin mengganggu penyembuhan melalui beberapa mekanisme [2]. Pada review ini akan dirangkum mengenai peranan faktor pertumbuhan terhadap penyembuhan luka diabetes.

### Luka

Luka dapat digambarkan sebagai cacat atau pecahnya kulit, akibat kerusakan fisik atau kerusakan termal atau akibat adanya kondisi medis atau fisiologis yang mendasarinya. Menurut Wound Healing Society, luka adalah hasil dari 'terganggunya struktur dan fungsi anatomi normal' [3]. Luka dapat diklasifikasikan menjadi dua yaitu akut dan kronik. Luka akut adalah kerusakan jaringan yang dapat sembuh total, dengan waktu penyembuhan 8-12 minggu [4].

Luka kronik adalah kerusakan jaringan yang lama penyembuhannya, berkisar waktu lebih dari 12 minggu dan dapat terulang [5]. Luka tersebut gagal sembuh karena adanya kerusakan jaringan yang berulang atau kondisi fisiologis yang mendasarinya [6] seperti diabetes dan keganasan, infeksi persisten, perawatan primer yang buruk dan faktor-faktor terkait pasien lainnya. Hal ini mengakibatkan terganggunya proses penyembuhan luka.

### **Proses Penyembuhan Luka**

Proses penyembuhan luka dibagi menjadi 4 tahapan yaitu: Hemostasis, Inflamasi, proliferasi, dan remodeling

#### **Hemostatis**

Perdarahan biasanya terjadi saat kulit terluka dan berfungsi untuk membersihkan bakteri dan/atau antigen dari luka. Selain itu, pendarahan mengaktifkan haemostasis yang diawali oleh komponen darah seperti faktor pembekuan [7]. Trombosit memerankan peran penting pada hemostatis, yang merupakan tahap pertama pada perbaikan jaringan. Paparan Trombosit yang beredar ke jaringan kolagen yang cedera menyebabkan aktivasi, agregasi dan adhesi pada endotelium yang rusak [8]. Setelah aktivasi proses koagulasi, fibrinogen diubah menjadi fibrin. Fibrinogen dalam daerah luka memunculkan mekanisme penggumpalan sehingga

menghasilkan koagulasi (darah tanpa sel dan trombosit) dan, bersamaan dengan pembentukan jaringan fibrin, menghasilkan pembekuan pada luka yang menyebabkan pendarahan berhenti. Pembekuan tersebut mengering untuk membentuk matriks ekstraselular dan memberi kekuatan dan dukungan pada jaringan yang terluka [7, 9]. Selain itu, trombosit darah yang telah teraktivasi melepaskan protein yang menginduksi migrasi dan adhesi neutrofil dan monosit, serta beberapa faktor pertumbuhan yang meningkatkan penyembuhan luka [10]

#### **Inflamasi**

Fase inflamasi terjadi hampir bersamaan dengan haemostasis, kadang-kadang dari beberapa menit luka sampai 24 jam dan berlangsung selama sekitar 3 hari. Pada fase inflamasi melibatkan respons seluler dan vaskular. Proses yang ditempuh untuk dapat terjadinya fagositosis yaitu neutrofil menginfiltrasi ke dalam jaringan yang terluka. Molekul adhesif pada permukaan endotel vaskular disekitar jaringan yang rusak teraktivasi sehingga neutrofil dapat menempel pada endotelium. Neutrofil kemudian bergerak melalui kapiler yang pecah atau melalui celah antar sel endotel [10, 11]. Neutrofil memainkan peran utama dalam pengendalian infeksi jaringan. Neutrofil juga terlibat dalam proses penyembuhan luka,

karena neutrofil menghasilkan beberapa faktor pertumbuhan yang mendorong proliferasi dan protease sel yang menurunkan matriks ekstraselular [12]. Inflamasi kemudian dimulai, karena monosit yang bersirkulasi cepat berdiferensiasi menjadi makrofag matang saat memasuki celah jaringan. Makrofag yang aktif atau makrofag pro-inflamasi (M1 makrofag) menghilangkan bakteri, benda asing, neutrofil yang mengalami apoptosis dan komponen jaringan yang rusak dari luka melalui fagositosis. Makrofag juga mengekspresikan berbagai mediator proinflammatory dan sitokin [13]. Sel mast juga merespon dengan cepat terhadap luka pada jaringan dan memainkan peran penting dalam proses penyembuhan luka. Sel mast mengalami degranulasi, dan melepaskan beberapa sitokin yang menginduksi pengaliran neutrofil, serta proteinase yang menurunkan matriks ekstraselular [14].

### **Proliferasi**

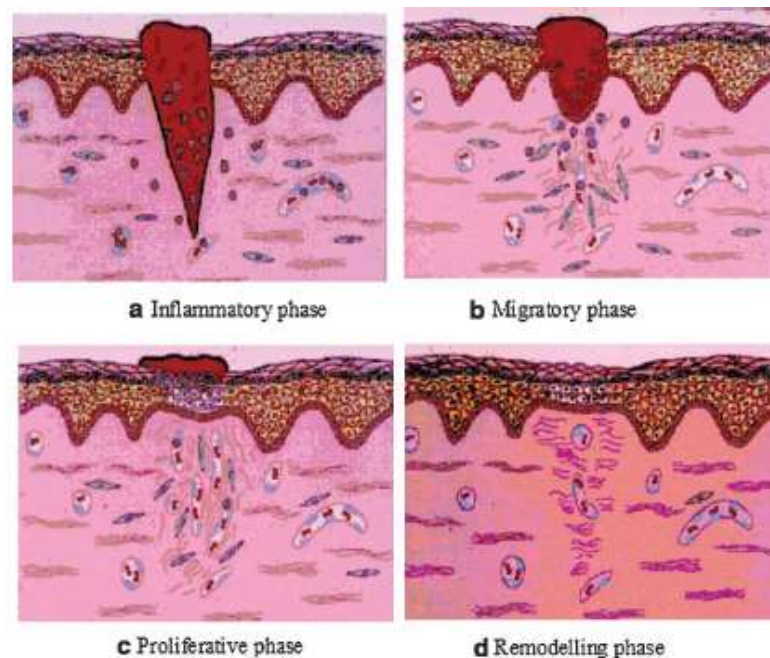
Ketika proses inflamasi selesai dan makrofag berubah menjadi teraktivasi atau menjadi antiinflamasi. Makrofag antiinflamasi (M2 Makrofag) mengekspresikan berbagai mediator antiinflamasi, enzim protease dan protease inhibitor, serta growth factor seperti *vascular endothelial growth factor* (VEGF) dan TGF- $\beta$  yang mendukung proliferasi sel

dan sintesis protein [13]. Kemudian matrik ekstraseluler digantikan dengan jaringan granulasi. Fibroblast teraktivasi oleh faktor pertumbuhan yang dilepas oleh makrofag dan bermigrasi menuju luka menggunakan matrik ekstraseluler. Kemudian fibroblast memulai berpoliferasi dan menghasilkan kolagen dan molekul matrik ekstraseluler. Selama tahap awal proliferasi, kapiler baru menjangkau ke jaringan mikrovaskular melalui jaringan granulasi. Selama tahap penyembuhan luka akhir, kepadatan pembuluh darah berkurang. Jaringan granulasi merupakan jaringan yang mempunyai karakteristik seperti granul yang disebabkan oleh adanya kapiler baru dan jaringan ikat baru yang terbentuk selama proses penyembuhan dan terdiri dari fibroblast, sel endotel, sel inflamasi, komponen matriks ekstraselular dan pembuluh darah baru [11].

### **Remodeling**

Fase remodeling mulai pada sekitar minggu ke 2-3 setelah terjadinya luka dan granulasi jaringan berubah menjadi jaringan gores bekas luka. Kepadatan pembuluh darah berkurang dan kolagen terbentuk. Selama fase remodeling terbentuk sintesis kolagen baru dan degradasi kolagen yang terus berlanjut, yang diimbangi dengan aktivitas matriks metaloproteinase (MMPs) [8, 9, 11]. Pada fase ini susunan dari jaringan sel yang

tersambung dan kekuatan dari epitel baru menentukan bekas luka.



**Gambar 1. Tahapan penyembuhan luka**

### **Patofisiologi luka diabetes**

Pada pasien diabetes, proses penyembuhan luka ini dipengaruhi oleh hiperglikemia, peradangan kronis, disfungsi microvaskuler dan makrovaskuler, hipoksia, neuropati sensorik dan sensorik dan sinyal neuropeptida yang terganggu.

Hiperglikemia menyebabkan glikasi atau pengerasan dari kolagen dan protein lain dan produk akhir susunan glikasi yang dapat menurunkan kelarutan matriks ekstraseluler [8, 9].

Hipoksia menyebabkan kurangnya asupan oksigen menyebabkan lamanya penyembuhan luka, karena oksigen dibutuhkan sel untuk metabolisme dan

produksi energi. Hipoksia dapat memperlama penyembuhan luka dengan meningkatkan kadar radikal oksigen bebas [9].

### **Macam-macam Faktor Pertumbuhan dan Pengaruhnya terhadap Penyembuhan luka**

#### **PDGF**

*Platelet derived growth factor* (PDGF) berperan pada setiap fase pada proses penyembuhan luka. PDGF dilepaskan dari degranulasi trombosit pada luka dan terdapat pada cairan luka [15]. PDGF menstimulasi mitogenesis dan kemotaksis neutrofil, makrofag, fibroblas, dan sel otot polos ke lokasi luka dengan menginisiasi respon inflamasi [16]. Selama proses penyembuhan

luka fase epitalisasi, PDGF meregulasi atau mengatur produksi insulin growth factor 1 (IGF-1) dan thrombospondin -1 [17]. PDGF juga meningkatkan proliferasi fibroblas dan yang mengakibatkan produksi ECM [18], menginduksi fenotipe myofibroblast dan menstimulasi fibroblast untuk membuat matriks kolagen [19]. PDGF mengalami penurunan kadar pada luka kronis karena kerentanannya pada lingkungan proteolitik yang ditemukan pada luka kronis; [20, 21].

Aplikasi topikal rhPDGF secara signifikan mempercepat laju reepitelisasi dibandingkan dengan kelompok yang diobati dengan yang tidak diobati pada 7 hari setelah diberi luka. Hasil ini menunjukkan bahwa penerapan rhPDGF meningkatkan proliferasi sel, dan memperbaiki perbaikan jaringan dermal pada lesi kulit diabetes tikus, yang mungkin sebagian dimediasi oleh aktivasi ERK dan ekspresi protein c-fos [22].

Pada studi klinis terdapat bukti bahwa rh-PDGF efektif untuk mengobati luka pada diabetes pada luka tingkat jaringan subkutan [23]. Namun, mengingat biaya dan variabilitasnya dalam jumlah yang dibutuhkan untuk mengobati untuk mencapai penyembuhan, ini adalah pilihan yang masuk akal dalam luka-luka yang belum sembuh setelah perawatan konservatif yang optimal. Selain itu, ada juga manfaat untuk

menggunakan rh-PDGF pada pasien dengan stadium lanjut PU. Ulkus vena kurang berhasil dengan pengobatan dengan topikal rh-PDGF, namun munculnya terapi gen baru karena kendaraan untuk manajemen faktor pertumbuhan memiliki hasil yang menjanjikan. Uji coba terkontrol acak yang lebih besar diperlukan untuk menguji keefektifannya pada PU dan VU. Selain itu, penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menguji keefektifan rh-PDGF dalam pengobatan DFU kimiawi, dan obat-obatan yang tidak melampaui dermis [23]

## VEGF

*Vascular endothelial growth factor* (VEGF) terdiri dari beberapa anggota yaitu (VEGF-A, VEGF-B, VEGF-C, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E) (Saaristo *et al.*, 2006; Barrientos *et al.*, 2008). VEGF-A diproduksi oleh sel endotel, keratinosit, sel halus fibroblast, trombosit neutrofil dan makrofag [24-30]. VEGF-A Memfasilitasi perbaikan jaringan dengan meningkatkan permeabilitas vaskular, sehingga memungkinkan sel-sel inflamasi masuk ke lokasi cedera, dan meningkatkan migrasi dan proliferasi sel endotel yang ada sebelumnya [31].

Faktor pertumbuhan endotel vaskular (VEGF)-A, anggota keluarga faktor pertumbuhan dengan peran penting dalam pertumbuhan dan pola vaskular dan limfatik,

telah terbukti berkurang pada luka diabetes eksperimental dan klinis [32].

VEGF bekerja melalui setidaknya dua reseptor yaitu, diekspresikan terutama pada sel endotel, bersama dengan sitokin vaskular lainnya [faktor pertumbuhan fibroblas (FGF), PDGF, dan angiopoietin] untuk menginduksi dan mempertahankan pembuluh darah [33]

Gen rekombinan manusia-VEGF (rh-VEGF) yang membawa plasmid, VEGF165, telah digunakan pada pasien dengan luka diabetes dan iskemik. Transfer gen intramuskular VEGF165 ke pasien dengan ulkus iskemik dan atau *rest pain* akibat penyakit arteri perifer mengakibatkan hilangnya rasa pada anggota tubuh secara signifikan mengurangi *rest pain* [34].

Uji coba secara randomized controlled telah dilakukan untuk mengetahui mengenai keefektifan aplikasi topikal rh-VEGF (Telbermin) pada pasien dengan DFU neuropatik. Dalam satu penelitian, subjek dengan diabetes melitus tipe 1 dan 2 diacak untuk menerima pengobatan Telbermin topikal (72 mcg / cm<sup>2</sup>) atau plasebo ke permukaan ulkus kaki [35]. Subject mendapatkan perlakuan 72 mcg/cm<sup>2</sup> setiap 42 hari hingga 6 minggu. Hasilnya terdapat tren positif yang menunjukkan sinyal potensial aktivitas biologis yang diamati untuk kejadian penyembuhan ulkus

(pengobatan 41,4% vs plasebo 26,9%) dan waktu untuk menyelesaikan penyembuhan ulkus adalah (32,5 hari pengobatan vs 43 hari plasebo) [34].

Pada penelitian mengenai topikal VEGF mempercepat penyembuhan luka diabetes, menunjukkan bahwa terapi farmakologis VEGF pada penderita diabetes meningkatkan neovaskularisasi di tempat cedera dengan efek klinis yang signifikan. Mekanisme untuk efek ini adalah melalui stimulasi angiogenesis lokal, peningkatan ekspresi faktor pertumbuhan termasuk PDGF dan FGF-2, dan mobilisasi sistemik dari sel induk yang diturunkan dari sumsum tulang. Kombinasi efek ini kemungkinan bertanggung jawab atas peningkatan perfusi, peningkatan neuropati perifer, dan peningkatan pembentukan collateral yang terlihat setelah terapi VEGF pada penelitian lain [36-39]. Karena VEGF secara unik dapat meningkatkan angiogenesis lokal dan memobilisasi endotel progenitor ke dalam sirkulasi, menunjukkan bahwa terapi VEGF dapat dikembangkan untuk meningkatkan perbaikan jaringan pada berbagai macam luka akut dan kronis, terutama pada kondisi seperti diabetes atau penuaan [36].

Kombinasi VEGF, IGF dan FGF dibandingkan dengan EGF menunjukan bahwa penyembuhan luka pada kombinasi

faktor pertumbuhan dapat sedikit lebih baik daripada hanya dengan menggunakan faktor pertumbuhan tunggal. Pada pengujian makroskopis, penggunaan faktor pertumbuhan menghasilkan penyembuhan dan penurunan jaringan granulasi lebih cepat pada hari ke tujuh dan 15; (Pengurangan luka kontrol sebesar 80,31% vs 83,24% pada luka epitel vs 100% pada luka campuran) [40].

### EGF

*Epidermal growth factor* (EGF) menginduksi proliferasi jaringan epidermis dan epitel pada mamalia [41]. EGF diproduksi oleh berbagai sumber, termasuk trombosit memainkan peran penting dalam proses ini dengan merangsang sintesis fibronectin, angiogenesis, fibroplasia dan aktivitas kolagenase. Ini juga memiliki efek mitogenik pada sel epitel, sel endotel, dan fibroblas. Setelah pembentukan plasme hemostatik dalam fase inflamasi, EGF mengatur proses ini dengan memulai penyembuhan luka [42, 43]. Anggota keluarga Epidermal Growth Factor (EGF), termasuk EGF sendiri, EGF yang terikat heparin, dan mengubah transforming growth factor- $\alpha$ , telah dianggap sebagai regulator utama untuk pertumbuhan sel, proliferasi, dan diferensiasi [7, 44]. EGF dapat mengikat bagian ekstraseluler dari reseptor EGFR (EGFR) pada permukaan sel, dan transduksi sinyal intraselular yang

bersamaan menghasilkan sintesis DNA dan proliferasi sel [44-46]. Karena fungsinya yang luar biasa pada percepatan regenerasi epidermal, EGF telah banyak diteliti sebagai agen penyembuhan luka untuk pengobatan luka bedah, luka bakar dan ulkus diabetes (5-7) [47-49]. penelitian menunjukkan bahwa administrasi topikal EGF secara signifikan mempercepat re-epithelialization dengan mempromosikan mitogenesis keratinosit dan migrasi setelah cedera akut [50].

Bukti menunjukan bahwa pasien diabetes mengalami penurunan konsentrasi faktor pertumbuhan di jaringan mereka, terutama faktor pertumbuhan epidermal (EGF). Menyuntikkan EGF ke bagian dalam luka dan konturnya mendorong respons yang lebih efektif dalam hal pertumbuhan jaringan granulasi dan penutupan luka [51].

Penggunaan topikal *low-molecular-weight protamine-Epidermal Growth Factor* (rLMWP-EGF) secara signifikan mempercepat tingkat penutupan luka dengan ketebalan penuh dan juga model luka diabetes yang paling mungkin terjadi karena permeasi kulit yang disempurnakan. Temuan ini menunjukkan potensi terapeutik rLMWP-EGF sebagai obat penyembuhan luka topikal baru dan konjugasi LMWP spesifik pada peptida atau protein oleh rekombinasi genetik sebagai metode yang berguna untuk

mempersiapkan biomedis yang sangat efektif [49]. Penggunaan EGF secara topikal pada bentuk formulasi sediaan salep [52, 53] atau pada formulasi sediaan cair [48] merupakan hal yang sulit dilakukan pada area luka yang lembab selama proses penyembuhan dan EGF yang diberikan dengan mudah terdegradasi di lingkungan proteolitik pada luka [54, 55].

### Simpulan

Luka dibagi menjadi dua yaitu luka akut dan luka kronis. Luka akut adalah luka yang penyembuhannya cepat, sedangkan luka kronis adalah luka yang proses penyembuhannya dalam jangka waktu lama. Proses penyembuhan luka meliputi fase hemostatis, inflamasi, proliferasi dan remodeling. Penyembuhan luka pada luka kronis seperti diabetes foot ulcer (DFU) dapat diatasi dengan menggunakan bermacam-macam hormon pertumbuhan seperti PDGF, VEGF dan EGF. Peran PDGF pada penyembuhan luka adalah menginisiasi respon inflamasi, meningkatkan proliferasi fibroblast. VEGF berperan untuk meningkatkan permeabilitas vaskular, sehingga memungkinkan sel-sel inflamasi masuk ke lokasi cedera, dan meningkatkan migrasi dan proliferasi sel endotel. EGF merupakan pengatur pertumbuhan sel, proliferasi sel dan diferensiasi.

### Daftar Pustaka

1. Mulder, G.D., et al., *Enhanced healing of ulcers in patients with diabetes by topical treatment with glycyl-L-histidyl-L-lysine copper*. Wound Repair Regen, 1994. **2**(4): p. 259-69.
2. Boulton, A.J., *The pathway to foot ulceration in diabetes*. Med Clin North Am, 2013. **97**(5): p. 775-90.
3. Lazarus, G.S., et al., *Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing*. Arch Dermatol, 1994. **130**(4): p. 489-93.
4. Percival, N.J., *Classification of Wounds and their Management*. Surgery (Oxford), 2002. **20**(5): p. 114-117.
5. Harding, K.G., H.L. Morris, and G.K. Patel, *Science, medicine and the future: healing chronic wounds*. BMJ, 2002. **324**(7330): p. 160-3.
6. Moore, K., et al., *Prediction and monitoring the therapeutic response of chronic dermal wounds*. Int Wound J, 2006. **3**(2): p. 89-96.
7. Martin, P., *Wound healing--aiming for perfect skin regeneration*. Science, 1997. **276**(5309): p. 75-81.
8. Pradhan, L., et al., *Inflammation and neuropeptides: the connection in diabetic wound healing*. Expert Rev Mol Med, 2009. **11**: p. e2.
9. Blakytyn, R. and E. Jude, *The molecular biology of chronic wounds and delayed healing in diabetes*. Diabet Med, 2006. **23**(6): p. 594-608.
10. Dinh, T., et al., *Mechanisms involved in the development and healing of diabetic foot ulceration*. Diabetes, 2012. **61**(11): p. 2937-47.
11. Falanga, V., *Wound healing and its impairment in the diabetic foot*. Lancet, 2005. **366**(9498): p. 1736-43.
12. Dovi, J.V., A.M. Szpadarska, and L.A. DiPietro, *Neutrophil function in the healing wound: adding insult to injury?* Thromb Haemost, 2004. **92**(2): p. 275-80.

13. Koh, T.J. and L.A. DiPietro, *Inflammation and wound healing: the role of the macrophage*. Expert Rev Mol Med, 2011. **13**: p. e23.
14. Weller, K., et al., *Mast cells are required for normal healing of skin wounds in mice*. FASEB J, 2006. **20**(13): p. 2366-8.
15. Trengove, N.J., H. Bielefeldt-Ohmann, and M.C. Stacey, *Mitogenic activity and cytokine levels in non-healing and healing chronic leg ulcers*. Wound Repair Regen, 2000. **8**(1): p. 13-25.
16. Heldin, C.H. and B. Westermark, *Mechanism of action and in vivo role of platelet-derived growth factor*. Physiol Rev, 1999. **79**(4): p. 1283-316.
17. Rabhi-Sabile, S., et al., *Proteolysis of thrombospondin during cathepsin-G-induced platelet aggregation: functional role of the 165-kDa carboxy-terminal fragment*. FEBS Lett, 1996. **386**(1): p. 82-6.
18. Lin, H., et al., *The effect of collagen-targeting platelet-derived growth factor on cellularization and vascularization of collagen scaffolds*. Biomaterials, 2006. **27**(33): p. 5708-14.
19. Rhee, S. and F. Grinnell, *P21-activated kinase 1: convergence point in PDGF- and LPA-stimulated collagen matrix contraction by human fibroblasts*. J Cell Biol, 2006. **172**(3): p. 423-32.
20. Mast, B.A. and G.S. Schultz, *Interactions of cytokines, growth factors, and proteases in acute and chronic wounds*. Wound Repair Regen, 1996. **4**(4): p. 411-20.
21. Robson, M.C., *The role of growth factors in the healing of chronic wounds*. Wound Repair Regen, 1997. **5**(1): p. 12-7.
22. Cheng, B., et al., *Recombinant human platelet-derived growth factor enhanced dermal wound healing by a pathway involving ERK and c-fos in diabetic rats*. J Dermatol Sci, 2007. **45**(3): p. 193-201.
23. Wieman, T.J., J.M. Smiell, and Y. Su, *Efficacy and safety of a topical gel formulation of recombinant human platelet-derived growth factor-BB (becaplermin) in patients with chronic neuropathic diabetic ulcers. A phase III randomized placebo-controlled double-blind study*. Diabetes Care, 1998. **21**(5): p. 822-7.
24. Barrientos, S., et al., *Growth factors and cytokines in wound healing*. Wound Repair Regen, 2008. **16**(5): p. 585-601.
25. Walder, C.E., et al., *Vascular endothelial growth factor augments muscle blood flow and function in a rabbit model of chronic hindlimb ischemia*. J Cardiovasc Pharmacol, 1996. **27**(1): p. 91-8.
26. Jazwa, A., et al., *Effect of heme and heme oxygenase-1 on vascular endothelial growth factor synthesis and angiogenic potency of human keratinocytes*. Free Radic Biol Med, 2006. **40**(7): p. 1250-63.
27. Berse, B., et al., *Vascular permeability factor (vascular endothelial growth factor) gene is expressed differentially in normal tissues, macrophages, and tumors*. Mol Biol Cell, 1992. **3**(2): p. 211-20.
28. Gaudry, M., et al., *Intracellular pool of vascular endothelial growth factor in human neutrophils*. Blood, 1997. **90**(10): p. 4153-61.
29. Nissen, N.N., et al., *Vascular endothelial growth factor mediates angiogenic activity during the proliferative phase of wound healing*. Am J Pathol, 1998. **152**(6): p. 1445-52.
30. Banks, R.E., et al., *Release of the angiogenic cytokine vascular endothelial growth factor (VEGF) from platelets: significance for VEGF measurements and cancer biology*. Br J Cancer, 1998. **77**(6): p. 956-64.
31. Lee, R.J., et al., *VEGF gene delivery to myocardium: deleterious effects of unregulated expression*. Circulation, 2000. **102**(8): p. 898-901.
32. Frank, S., et al., *Regulation of vascular endothelial growth factor expression in*

- cultured keratinocytes. Implications for normal and impaired wound healing. J Biol Chem*, 1995. **270**(21): p. 12607-13.
33. Carmeliet, P., *Mechanisms of angiogenesis and arteriogenesis. Nat Med*, 2000. **6**(4): p. 389-95.
34. Kusumanto, Y.H., et al., *Treatment with intramuscular vascular endothelial growth factor gene compared with placebo for patients with diabetes mellitus and critical limb ischemia: a double-blind randomized trial. Hum Gene Ther*, 2006. **17**(6): p. 683-91.
35. Hanft, J.R., et al., *Phase I trial on the safety of topical rhVEGF on chronic neuropathic diabetic foot ulcers. J Wound Care*, 2008. **17**(1): p. 30-2, 34-7.
36. Galiano, R.D., et al., *Topical vascular endothelial growth factor accelerates diabetic wound healing through increased angiogenesis and by mobilizing and recruiting bone marrow-derived cells. Am J Pathol*, 2004. **164**(6): p. 1935-47.
37. Schratzberger, P., et al., *Reversal of experimental diabetic neuropathy by VEGF gene transfer. J Clin Invest*, 2001. **107**(9): p. 1083-92.
38. Rivard, A., et al., *Rescue of diabetes-related impairment of angiogenesis by intramuscular gene therapy with adeno-VEGF. Am J Pathol*, 1999. **154**(2): p. 355-63.
39. Isner, J.M., A. Ropper, and K. Hirst, *VEGF gene transfer for diabetic neuropathy. Hum Gene Ther*, 2001. **12**(12): p. 1593-4.
40. Joao De Masi, E.C., et al., *The influence of growth factors on skin wound healing in rats. Braz J Otorhinolaryngol*, 2016. **82**(5): p. 512-21.
41. Mu, W., et al., *Epidermal growth factor-induced stimulation of proliferation and gene expression changes in the hypotrichous ciliate, Stylonychia lemnae. Gene*, 2016. **592**(1): p. 186-92.
42. Barrandon, Y. and H. Green, *Cell migration is essential for sustained growth of keratinocyte colonies: the roles of transforming growth factor-alpha and epidermal growth factor. Cell*, 1987. **50**(7): p. 1131-7.
43. Menke, N.B., et al., *Impaired wound healing. Clin Dermatol*, 2007. **25**(1): p. 19-25.
44. Pastore, S., et al., *The epidermal growth factor receptor system in skin repair and inflammation. J Invest Dermatol*, 2008. **128**(6): p. 1365-74.
45. Zhang, X., et al., *An allosteric mechanism for activation of the kinase domain of epidermal growth factor receptor. Cell*, 2006. **125**(6): p. 1137-49.
46. Jorissen, R.N., et al., *Epidermal growth factor receptor: mechanisms of activation and signalling. Exp Cell Res*, 2003. **284**(1): p. 31-53.
47. Hardwicke, J., et al., *Epidermal growth factor therapy and wound healing--past, present and future perspectives. Surgeon*, 2008. **6**(3): p. 172-7.
48. Brown, G.L., et al., *Enhancement of wound healing by topical treatment with epidermal growth factor. N Engl J Med*, 1989. **321**(2): p. 76-9.
49. Choi, J.K., et al., *The effect of epidermal growth factor (EGF) conjugated with low-molecular-weight protamine (LMWP) on wound healing of the skin. Biomaterials*, 2012. **33**(33): p. 8579-90.
50. Shen, C., et al., *Kindlin-1 contributes to EGF-induced re-epithelialization in skin wound healing. Int J Mol Med*, 2017. **39**(4): p. 949-959.
51. Aristides L. Garcia Herrera, M., PhD, , Ridel de Jesús Febles Sanabria, MD, MS, Liliana de los Ángeles Acosta Cabadilla, MD, Miriam Moliner Cartaya, *Curative Metatarsal Bone Surgery Combined with Intralesional Administration of Recombinant Human Epidermal Growth Factor in Diabetic Neuropathic Ulceration of the Forefoot: A*

- Prospective, Open, Uncontrolled, Nonrandomized, Observational Study.* Current Therapeutic Research, 2017.
52. Hong, J.P., et al., *The effect of various concentrations of human recombinant epidermal growth factor on split-thickness skin wounds.* Int Wound J, 2006. **3**(2): p. 123-30.
53. Alemdaroglu, C., et al., *Investigation of epidermal growth factor containing liposome formulation effects on burn wound healing.* J Biomed Mater Res A, 2008. **85**(1): p. 271-83.
54. Kong, H.J. and D.J. Mooney, *Microenvironmental regulation of biomacromolecular therapies.* Nat Rev Drug Discov, 2007. **6**(6): p. 455-63.
55. Ulubayram, K., et al., *EGF containing gelatin-based wound dressings.* Biomaterials, 2001. **22**(11): p. 1345-56.