

## **PENGARUH MSC-CM TERINDUKSI SERUM INFLAMASI DOSIS TINGGI TERHADAP PENURUNAN DIAMETER PADA LUKA**

**(Studi Eksperimental *In Vivo Mesenchymal Stem Cell Conditioned Medium* Terhadap Tikus Galur *Wistar* Model Luka Eksisi)**

Rizky Aslia Kusuma Putri \*, Durrotul Djannah\*\*, Agung Putra\*\*\*

\* Mahasiswa Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (Unissula) Semarang

\*\* Bagian Ilmu Syaraf Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (Unissula) Semarang

\*\*\*Bagian Ilmu Patologi Anatomi Fakultas Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung (UNISSULA) Semarang

Korespondensi : Rizky Aslia Kusuma Putri, Mahasiswa Kedokteran Universitas Islam Sultan Agung, Jl Kaligawe KM 4 Semarang 50012 Telp (+6224) 6583584 Fax (+6224) 6594366, email : kiky.aslia@yahoo.co.id

### **ABSTRAK**

**Latar Belakang** : Terapi MSC menjadi semakin penting dalam pengobatan regeneratif. Kemampuannya dalam mensekresi berbagai faktor tropik menunjukkan kemampuannya yang menjanjikan dalam berbagai model penyakit pada hewan coba. Namun, hambatan terjadi pada pengaplikasian terapi MSC terhadap kasus-kasus klinik. Kondisi ini disebabkan karena kualitas dan keterbatasan yang ada pada MSC sehingga menyebabkan terapi yang masih belum optimal. Berbagai pengembangan terapi MSC saat ini semakin beragam, seperti MSC-CM menjadi alternatif pengganti dari penggunaan terapi *stem cell* itu sendiri. VEGF yang berperan dalam migrasi sel endothelial dan komponen-komponen penyembuhan luka ke area luka. Penelitian ini untuk mengetahui pengaruh pemberian *mesenchymal stem cellconditioned medium* (MSC-CM) terhadap kadar VEGF pada penyembuhan luka eksisi kulit tikus putih jantan galur *Wistar*

**Metode** : Penelitian ini merupakan penelitian *in vivo* dengan jenis penelitian *Post Test Only Control Group Design*. Penelitian ini dilakukan pada 15 ekor tikus dengan menggunakan model luka eksisi yang dibagi menjadi 3 kelompok penelitian, yaitu kelompok kontrol (pemberian gel tanpa MSC-CM), kelompok perlakuan 1 (pemberian gel MSC-CM dosis 25%), kelompok perlakuan 2 (pemberian gel MSC-CM dosis 50%).Selanjutnya darah diambil dari tikus pada hari ke-3 selanjutnya dibuat serum dan kadar VEGF diperiksa menggunakan ELISA setelah itu dianalisis dengan uji *One Way Anova* kemudian dilanjutkan dengan *Post Hoc Test*.

**Hasil** : Penelitian ini didapatkan rerata kadar VEGF antara kelompok kontrol ( $83,62 \pm 2,83$  pg/ml), kelompok perlakuan 1 ( $100,52 \pm 4,98$  pg/ml), dan perlakuan 2 ( $112,88 \pm 8,60$  pg/ml). Hasil dianalisis menggunakan uji One Way Anova dengan hasil yang signifikan ( $p < 0,05$ ), dilanjutkan dengan Post Hoc LSD dengan hasil signifikan ( $p < 0,05$ ) pada setiap kelompok.

**Kesimpulan** : Penelitian ini menunjukkan terdapat terdapat pengaruh pemberian MSC-CM terhadap kadar VEGF dalam penyembuhan luka eksisi..

**Kata Kunci** : luka, MSC-CM, parakrin, VEGF

## **ABSTRACT**

**Background** : MSC therapy is becoming more important in regenerative medicine. Its ability to secrete various trophic factors shows its promising ability in various models of disease in experimental animals. However, barriers occur in applying MSC therapy to clinical cases. This condition is caused by the quality and limitations that exist in MSC which causes therapy that is still not optimal. Various developments in MSC therapy are now increasingly diverse, such as MSC-CM as an alternative to the use of stem cell therapy itself. VEGF which plays a role in endothelial cell migration and healing components of wounds to the wound area. This study was to determine the effect of mesenchymal stem cell medium (MSC-CM) on VEGF levels in the healing of excision wounds of male white rat skin Wistar strain.

**Method** : This research is an in vivo study with the type of Post Test Only Control Group Design. This study was conducted on 15 rats using excision wound models which were divided into 3 study groups, namely the control group (giving gel without MSC-CM), treatment group 1 (giving MSC-CM gel dose 25%), treatment group 2 (administration MSC-CM gel dose 50%) Next blood was taken from mice on the third day and serum and VEGF levels were examined using ELISA after that was analyzed by One Way Anova test then followed by Post Hoc Test.

**Result** : The results of this study obtained mean VEGF levels between the control group ( $83.62 \pm 2.83$  pg / ml), treatment group 1 ( $100.52 \pm 4.98$  pg / ml), and treatment 2 ( $112.88 \pm 8.60$  pg / ml). The results were analyzed using the One Way Anova test with significant results ( $p < 0.05$ ), followed by Post Hoc LSD with significant results ( $p < 0.05$ ) in each group.

**Conclusion** : The conclusion of this study shows that there is an effect of giving MSC-CM to VEGF levels in excision wound healing.

**Keywords**: wound, MSC-CM, paracrine, VEGF

## PENDAHULUAN

Terapi *Mesenchymal Stem Cell* (MSC) menjadi semakin penting dalam pengobatan regeneratif. Kemampuannya dalam mensekresi berbagai faktor tropik (sitokin, *growth factor*, mikro RNA, exosomes dan microvesicles) menunjukkan kemampuannya yang menjanjikan dalam berbagai model penyakit pada hewan coba (Schäfer *et al.*, 2016). Namun, hambatan terjadi pada pengaplikasian terapi MSC terhadap kasus-kasus klinik. Kondisi ini disebabkan karena kualitas dan keterbatasan yang ada pada MSC sehingga menyebabkan terapi yang masih belum optimal (Schäfer *et al.*, 2016). Berbagai pengembangan terapi MSC saat ini semakin beragam, seperti *Mesenchymal Stem Cell-Conditioned Medium* (MSC-CM) menjadi alternatif pengganti dari penggunaan terapi *stem cell* itu sendiri (Madrigal *et al.*, 2014 ; Schäfer *et al.*, 2016). MSC-CM menghasilkan berbagai macam faktor pertumbuhan seperti VEGF, IGF, FGF dan HGF (Pawitan, 2014). VEGF yang berperan dalam migrasi sel endothelial dan komponen-komponen penyembuhan luka ke area luka (Bao *et al.*, 2009). Namun sejauh ini, penelitian mengenai pengukuran kadar VEGF pada jaringan luka yang diberikan MSC-CM masih sedikit diteliti.

Berdasarkan data dari Riskesdas 2013, prevalensi luka didominasi oleh luka akut berupa luka lecet/memar sebesar 70,9% dan luka robek sebesar 23,2% (Balitbang Kemenkes RI, 2013). Proses penyembuhan luka akut yang gagal atau berlangsung lama dapat berkembang menjadi luka yang kronis dimana kondisi ini pada dasarnya akibat gangguan proses normal penyembuhan luka. Proses ini ditandai laserasi terbuka dengan berbagai tingkatan keparahan (Nuschke 2014). Luka kronis dapat mengurangi estetika dari kulit sehingga dapat menjadi beban bagi penderitanya. Selain itu dengan keberadaan luka kronis dapat menghabiskan biaya dalam perawatannya dan berdampak kepada pembengkakan biaya kesehatan secara keseluruhan pada suatu negara (Murphy dan Evans, 2012).

Penyembuhan luka akut merupakan proses fisiologis kompleks yang diatur oleh berbagai jenis sel, faktor pertumbuhan, sitokin, dan kemokin (Nuutila *et al.*, 2014). VEGF merupakan faktor pertumbuhan yang sangat penting dalam proses penyembuhan luka karena jika VEGF tidak dikeluarkan secara maksimal pada saat terjadi luka maka akan memperpanjang proses penyembuhan luka (Reinke dan Sorg, 2012). Selama penyembuhan luka, VEGF disekresikan oleh trombosit, makrofag, fibroblas, dan keratinosit dan memiliki efek parakrin pada sel endotel, menginduksi proses angiogenesis luka (Borena *et al.*, 2015). Selain itu, VEGF juga mampu dihasilkan oleh sel MSC terutama bila distimulasi dengan lingkungan proinflamasi sehingga mengaktifkan jalur p38-MAPK, sehingga menghasilkan mediator-mediator untuk perbaikan jaringan selain VEGF (Kwon, 2013). Aplikasi VEGF topikal mempercepat perbaikan luka diabetes pada model tikus melalui peningkatan epitelisasi,

angiogenesis, deposisi jaringan granulasi dan pembentukan bekas luka yang minimal (Borenaet *al.*, 2015). Penelitian yang dilakukan oleh Tan *et al.* (2014), telah menggunakan kolagen *scaffold* yang ditambahkan VEGF dalam model tikus diabetes yang dibuat luka dan menemukan bahwa perawatan menghasilkan tingkat penyembuhan yang baik, peningkatan vaskularisasi dan peningkatan tingkat VEGF dalam jaringan granulasi.

## **METODE PENELITIAN**

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental dengan menggunakan rancangan "*post test only control group design*". Variabel dalam penelitian ini adalah variabel bebas yaitu dosis *Mesenchymal Stem Cell Conditioned Medium* diperoleh dari hasil *secretome* kultur MSC dari *Umbilical Cord* yang diaktivasi dengan serum tikus *injury* dan diinkubasi selama 48 jam. Dan variabel tergantungan yaitu Kadar VEGF pada luka eksisi merupakan suatu protein yang dihasilkan oleh isolasi serum tikus luka eksisi yang sebelumnya diberikan perlakuan gel MSC-CM dan dianalisis dengan ELISA.

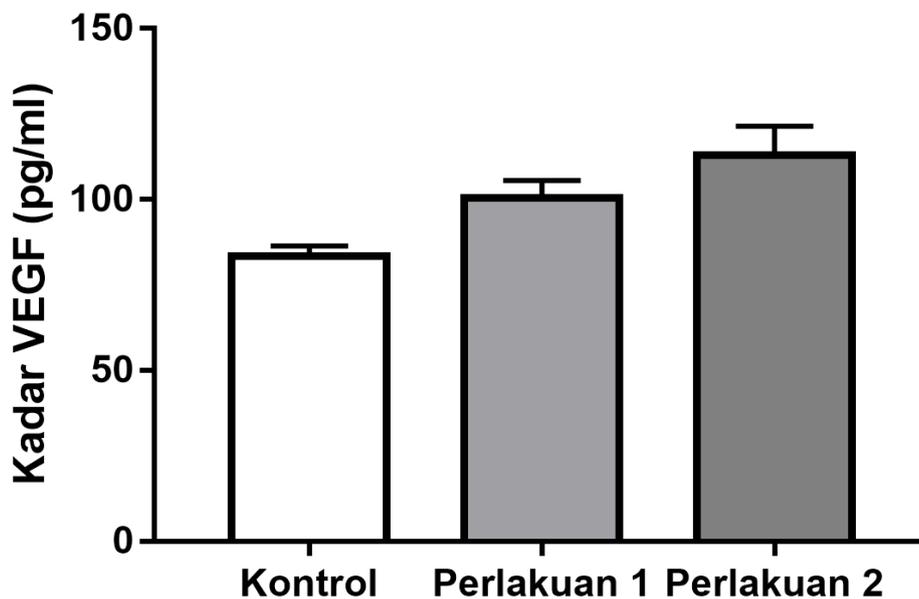
Data yang dihasilkan diolah secara komputerisasi. Semua data dilakukan uji deskriptif terlebih dahulu untuk mengetahui nilai mean dan standar deviasi. Selanjutnya dilakukan uji normalitas menggunakan *Saphiro-Wilk test* dan uji homogenitas menggunakan *Levene test* sebagai syarat uji parametrik. Didapatkan sebaran data normal dan homogen, maka dilanjutkan uji *one-way Anova* dan dilanjutkan uji *Post Hoc* untuk membandingkan antar kelompok perlakuan.

## **HASIL**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium *Stem Cell and Research Cancer* FK Unissula Semarang. Sampel penelitian yang digunakan dalam penelitian ini adalah 15 ekor tikus jantan galur *Wistar* yang diambil secara random dengan berat badan 200-250 gram. Pada 15 tikus jantan galur *Wistar* dilakukan pengelompokan menjadi 3 kelompok perlakuan yaitu kelompok kontrol (pemberian gel tanpa MSC-CM), kelompok perlakuan 1 (pemberian gel MSC-CM dosis 25%), kelompok perlakuan 2 (pemberian gel MSC-CM dosis 50%).

Penelitian ini diawali dengan mencukur bulu punggung dan membuat luka eksisi sedalam dermis dengan *punch biopsy* ukuran diameter 8 mm. Pembuatan luka dianggap menjadi hari ke 0. Perlakuan diberikan sesuai dengan kelompok dimana pemberian perlakuan dilakukan pada hari ke 1 dengan cara mengoleskan gel sekitar luka eksisi. Pengukuran kadar VEGF menggunakan ELISA pada hari ke 3.

Rerata kadar VEGF pada tiga kelompok ditunjukkan oleh gambar 1.



**Gambar 1.** Rerata kadar VEGF pada tiap kelompok (kelompok kontrol sebesar 83,62±2,83pg/ml; perlakuan 1 sebesar 100,52±4,98 pg/ml dan perlakuan 2 sebesar 112,88±8,60 pg/ml)

Berdasarkan gambar 1 didapatkan rerata kadar VEGF pada kelompok kontrol (83,62±2,83 pg/ml), kelompok perlakuan 1 (100,52±4,98 pg/ml), dan perlakuan 2 (112,88±8,60 pg/ml). Data kadar VEGF selanjutnya dianalisis dengan uji *Shapiro Wilk* untuk mengetahui sebaran datanya dan uji *Levene* untuk mengetahui homogenitas variannya. Uji *Shapiro Wilk* menghasilkan nilai signifikansi 0,754 ( $p > 0,05$ ) untuk kelompok kontrol; 0,493 ( $p > 0,05$ ) untuk kelompok perlakuan 1; 0,426 ( $p > 0,05$ ) dan untuk kelompok perlakuan 2. Hasil uji *Shapiro Wilk* menunjukkan semua kelompok memiliki data yang terdistribusi normal (Tabel 4.1). Hasil uji homogenitas menggunakan uji *Levene* didapatkan nilai  $p = 0,134$  ( $p > 0,05$ ) sehingga datanya adalah homogen (Tabel 4.1).

**Tabel 1.** Hasil Uji Normalitas dan Homogenitas Kadar VEGF

Kelompok	Nilai p uji <i>Shapiro Wilk</i> kepadatan kolagen	
	Sig	Keterangan
K I	0,754	Data terdistribusi normal
K II	0,493	Data terdistribusi normal
K III	0,426	Data terdistribusi normal
Homogenitas	0,134	Data homogen

Keterangan:  $p > 0,05$  = distribusi data normal dan varian homogen

Berdasarkan hasil uji normalitas dan homogenitas, data bersifat parametrik, sehingga uji beda menggunakan uji parametrik lebih dari dua

kelompok yaitu uji *One Way Anova*. Berdasarkan analisis menggunakan uji beda *One Way Anova* menunjukkan nilai  $p = 0,000$  yang berarti lebih kecil dari  $\alpha (0,05)$  sehingga hipotesis kerja penelitian ini diterima. Nilai  $p$  menunjukkan bahwa terdapat perbedaan yang bermakna (signifikan) setidaknya pada dua kelompok. Untuk mengetahui kelompok mana saja yang berbeda, dilanjutkan uji lanjut dari *One Way Anova* yaitu uji *Post Hoc LSD* seperti terlihat pada tabel 2.

**Tabel 2.** Hasil Uji *Post Hoc LSD* Antar Kelompok

Pebandingan kelompok	Probabilitas	Keterangan
Kontrol dan Perlakuan 1	0,001	Ada perbedaan
Kontrol dan Perlakuan 2	0,000	Ada perbedaan
Perlakuan 1 dan Perlakuan 2	0,007	Ada perbedaan

Dari hasil uji *Post Hoc LSD* berdasarkan tabel 2. dapat disimpulkan bahwa perbedaan antar kelompok berbeda secara bermakna ( $p < 0,05$ ) didapatkan pada semua kelompok yaitu kontrol dengan perlakuan 1 ( $p = 0,001$ ), kontrol dengan perlakuan 2 ( $p = 0,000$ ), dan perlakuan 1 dengan perlakuan 2 ( $p = 0,007$ ). Dari hasil ini dapat diketahui bahwa terdapat pengaruh pemberian *mesenchymal stem cell conditioned medium* (MSC-CM) terhadap kadar VEGF pada penyembuhan luka eksisi kulit tikus putih jantan galur *Wistar*.

## PEMBAHASAN PENELITIAN

Hasil uji statistik deskriptif dalam penelitian ini menunjukkan terjadi peningkatan kadar VEGF paling tinggi secara berurutan pada kelompok kontrol, perlakuan 1, dan perlakuan 2. Berdasarkan hasil uji beda *One Way Anova* diperoleh nilai  $p < 0,05$  yang menunjukkan adanya perbedaan yang bermakna terhadap jumlah fibroblas dan hasil *Post Hoc LSD* menunjukkan terdapat perbedaan yang bermakna pada semua kelompok ( $p < 0,05$ ). Hal ini menunjukkan bahwa terdapat pengaruh pemberian *mesenchymal stem cell conditioned medium* (MSC-CM) terhadap kadar VEGF pada penyembuhan luka eksisi kulit tikus putih jantan galur *Wistar* dibandingkan dengan kontrol.

MSC-CM mengeluarkan berbagai macam faktor seperti VEGF, FGF-2, Ang-1, IGF-1, HGF, TGF- $\beta$ , MCP-1, IL-6, SDF-1 $\alpha$ , IL-10 dan M-CSF (Pankajakshandan Agrawal, 2014). Senyawa bioaktif ini memiliki efek parakrin yang membantu angiogenesis dan penyembuhan luka jaringan (Tamama dan Kerpedjieva, 2012). Pada penelitian ini, terjadi peningkatan kadar VEGF setelah pemberian gel MSC-CM pada kelompok perlakuan dibandingkan kelompok karena berbagai kandungan senyawa bioaktif pada gel yang terdiri dari berbagai faktor pertumbuhan dan sitokin. Pemilihan hari pengukuran pada hari ke-3 merupakan kondisi dimana faktor pertumbuhan seperti VEGF meningkat secara optimal. Faktor pertumbuhan seperti HGF merupakan faktor angiogenik kuat yang

merangsang motilitas dan pertumbuhan dari sel endotel. Transfer gen HGF dalam model MI tikus menghasilkan perbaikan fungsi miokard dan dikaitkan dengan angiogenesis yang signifikan serta penurunan apoptosis (Pankajakshandan Agrawal, 2014). Penelitian yang dilakukan secara *in vitro* oleh Tomita *et al*(2003) menunjukkan bahwa HGF merangsang ekspresi MMP-1, VEGF, HGF sendiri, dan reseptor putative HGF, pada sel endotel manusia dan sel otot polos pembuluh darah.

Selain HGF, faktor pertumbuhan yang berperan dalam peningkatan VEGF adalah TGF- $\beta$ , dimana TGF- $\beta$  termasuk faktor angiogenik yang kuat dikeluarkan oleh MSC (Pankajakshandan Agrawal, 2014). TGF- $\beta$  mempertahankan kelangsungan dari sel endotel dan menginduksi pematangan pembuluh darah, mempromosikan deposisi membran basal, dan meningkatkan interaksi antara sel endotel dan sel mural (Wang *et al.*, 2007). Selain itu, TGF- $\beta$  mengatur angiogenesis dengan mempengaruhi peningkatan ekspresi dan aktivitas faktor angiogenik lainnya VEGF dan PDGF yang merupakan gen target langsung dari TGF- $\beta$  melalui protein Smad (Pankajakshandan Agrawal, 2014). Penelitian yang dilakukan oleh Herrmann *et al.* (2010) menunjukkan bahwa TGF- $\beta$  meningkatkan produksi VEGF dari MSC *in vitro* dan, ke tingkat yang lebih besar dengan kombinasi dengan TNF- $\alpha$  atau hypoxia. Peningkatan VEGF dipengaruhi oleh HGF dan TGF- $\beta$  melalui jalur PI3K / Akt dan MAPK (Kwon *et al.*, 2014).

VEGF merupakan glikoprotein yang berperan penting dalam vaskulogenesis selama masa embrionik dan membantu pembentukan pembuluh darah baru (angiogenesis) pada penyembuhan luka dan fungsi reproduksi wanita dewasa. Pada proses penyembuhan luka, VEGF berperan penting dalam angiogenesis dengan menstimulasi proliferasi, migrasi dan organisasi sel endotel untuk membentuk tubulus pembuluh (Ferrara, 2009). Penelitian ini membuktikan bahwa secara MSC-CM meningkatkan kadar VEGF dibandingkan dengan kontrol pada penyembuhan luka eksisi. Penelitian ini sama dengan penelitian yang dilakukan oleh Tan *et al.* (2014), dimana menggunakan kolagen *scaffold* yang ditambahkan VEGF dalam model tikus diabetes yang dibuat luka dan didapatkan tingkat penyembuhan yang baik, peningkatan vaskularisasi dan peningkatan tingkat VEGF dalam jaringan granulasi dibandingkan dengan kelompok kontrol.

## KESIMPULAN

Berdasarkan data penelitian tentang pengaruh pemberian *mesenchymal stem cellconditioned medium* (MSC-CM) terhadap kadar VEGF pada penyembuhan luka eksisi kulit tikus putih jantan galur *Wistar*, dapat ditarik kesimpulan bahwa:

1. Terdapat pengaruh pemberian *mesenchymal stem cellconditioned medium* (MSC-CM) terhadap kadar VEGF dalam penyembuhan luka eksisi.

2. Rerata kadar VEGF pada kelompok kontrol dalam penyembuhan luka eksisi adalah  $83,62 \pm 2,83$  pg/ml.
3. Rerata kadar VEGF pada kelompok perlakuan 1 dalam penyembuhan luka eksisi adalah  $100,52 \pm 4,98$  pg/ml.
4. Rerata kadar VEGF pada kelompok perlakuan 2 dalam penyembuhan luka eksisi adalah  $112,88 \pm 8,60$  pg/ml.

## DAFTAR PUSTAKA

Balitbang Kemenkes RI, 2013, *Riset Kesehatan Dasar; RISKESDAS*, Balitbang Kemenkes RI, Jakarta.

Bao P., Kodra A., Tomic-Canic M., Golinko M.S., Ehrlich H.P., Brem H., 2009, The role of vascular endothelial growth factor in wound healing, *J Surg Res.* 153(2): 347–358.

Borena B.M., Martens A., Broeckx S.Y., Meyer E., Chiersg K., Duchateau L., Spaas J.H., 2015, Regenerative skin wound healing in mammals: state-of-the-art on growth factor and stem cell based treatments, *Cell Physiol Biochem* 36:1-23.

Ferrara N., 2009, Vascular endothelial growth factor, *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 29:789-91.

Herrmann J.L., Wang Y., Abarbanell A.M., Weil B.R., Tan J., Meldrum D.R., 2010, Preconditioning mesenchymal stem cells with transforming growth factor-alpha improves mesenchymal stem cell-mediated cardioprotection, *Shock* 33:24-30.

Kwon H.M., Hur S.M., Park K.Y., Kim C.K., Kim Y.M., Kim H.S., Shin H.C., Won M.H., Ha K.S., Kwon Y.G., Lee D.H., Kim Y.M., 2014, Multiple paracrine factors secreted by mesenchymal stem cells contribute to angiogenesis, *Vascul Pharmacol* 63(1):19-28.

Kwon, Y.W., Heo S.C., Jeong G.O., Yoon J.W., Mo W.M., Lee M.J., Jang I.H., Kwon S.M., Lee J.S., Kim J.H., 2013. Tumor necrosis factor- $\alpha$ -activated mesenchymal stem cells promote endothelial progenitor cell homing and angiogenesis, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1832(12).

Madrigal M., Rao K.S., Riordan N.H., 2014, A review of therapeutic effects of mesenchymal stem cell secretions and induction of secretory modification by different culture methods, *Journal of Translational Medicine* 2014, 12:260.

- Murphy P.S., Evans G.R.D., 2012, Advances in wound healing: A review of current wound healing products, *Plast Surg Int.* 2012: 190436.
- Nuschke A., 2014, Activity of mesenchymal stem cells in therapies for chronic skin wound healing, *Organogenesis* 10:1, 29-37.
- Pankajakshan D., Agrawal D.K., 2014, Mesenchymal stem cell paracrine factors in vascular repair and regeneration, *J Biomed Technol Res.* 1(1):10.19104
- Pawitan J.A., 2014, Prospect of Stem Cell Conditioned Medium in Regenerative Medicine, *BioMed Research International* (2014).
- Reinke J.M., Sorg H, 2012, *Wound Repair and Regeneration*, European Surgical Research, Department of Plastic, Hand and Reconstructive Surgery, Hannover Medical School, Hannover, Germany, p. 38 – 40.
- Ribeiro C.A., Salgado A.J., Fraga J.S., Silva N.A., Reis R.L., Sousa N., 2011, The secretome of bone marrow mesenchymal stem cell-conditioned media varies with time and drives a distinct effect on mature neurons and glial cells (primary cultures), *J Tissue Eng Regen Med.* 5(8):668-72.
- Schäfer R., Spohn G., Patrick C. Baer P.C., 2016, Mesenchymal Stem/Stromal Cells in Regenerative Medicine: Can Preconditioning Strategies Improve Therapeutic Efficacy?, *Transfus Med Hemother* 43:256–267.
- Tan Q., Chen B., Yan X., Lin Y., Xiao Z., Hou X., Dai J., 2014, Promotion of diabetic wound healing by collagen scaffold with collagen-binding vascular endothelial growth factor in a diabetic rat model, *J Tissue Eng Regen Med* 8:195-201.
- Tomita N., Morishita R., Taniyama Y., Koike H., Aoki M., Shimizu H., Matsumoto K., Nakamura T., Kaneda Y., Ogihara T., 2003, Angiogenic property of hepatocyte growth factor is dependent on upregulation of essential transcription factor for angiogenesis, ets-1, *Circulation* 107(10):1411-7.