

PERAN HEPARIN DALAM ANGIOGENESIS, EPITELIALISASI DAN PENYEMBUHAN LUKA BAKAR

Ruby Riana A*

Abstract

Heparin was initially used in small doses as an anticoagulant in the treatment of burns. It turned out that in addition to the anticoagulant, heparin in larger doses can be used as an anti-inflammatory, accelerate angiogenesis (Polykratis, et al., 2004), cell growth and development (Sasisekharan and Venkataraman, 2000) so as to accelerate wound healing (Saliba, 2001; Galvan, 1996). In some countries heparin has been used as a standard therapy treatment of burns (Saliba, 2001).

Heparin is one of highest endogenous glycosaminoglycans (GAGs) besides heparan sulfate (HS), keratin sulfate, dermatan sulfate, chondroitin 4-sulfate, chondroitin 6-sulfate and hyaluronic acid. Heparin are the most acid and are highly sulfated, is the most GAGs widely used in burns as anti-inflammatory, to reduce edema, enhance angiogenesis and accelerate epithelialization (Saliba, 2001). Several studies have revealed the role of heparin in the treatment of burns.

Keywords : Heparin, angiogenesis, epithelialization, treatment of burns

PENDAHULUAN

Heparin pertama kali ditemukan oleh Jay Mclean (1916) yang bekerja dibawah pimpinan William Howell di Universitas John Hopkins, dalam usahanya mencari zat yang dapat menyebabkan koagulasi darah, Mclean mengisolasi heparin dari jaringan mamalia. Ternyata zat yang ditemukannya malah mencegah koagulasi darah (Islam dan Linhardt, 2003).

Heparin lebih dikenal sebagai antikoagulan. Heparin bergabung dengan antithrombin III (ko-faktor heparin) menghasilkan efek antikoagulan, mencegah trombosis dengan inaktivasi faktor X, sehingga mencegah perubahan protrombin menjadi trombin dan mencegah pembentukan fibrinogen menjadi fibrin. (Saliba, 2001).

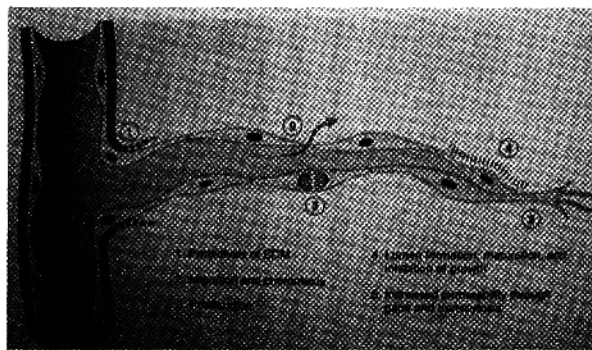
Ternyata selain sebagai antikoagulan, heparin dalam dosis yang lebih besar dapat dipakai sebagai anti inflamasi, mempercepat angiogenesis (Polykratis, et al., 2004), pertumbuhan dan perkembangan sel (Sasisekharan dan Venkataraman, 2000) sehingga mempercepat penyembuhan luka (Saliba, 2001; Galvan, 1996). Di beberapa negara heparin telah dipakai sebagai terapi standar pengobatan luka bakar (Saliba, 2001).

Tinjauan pustaka ini bermaksud mengulas peran heparin dalam angiogenesis, epitelialisasi dan penyembuhan luka bakar.

Angiogenesis

Angiogenesis atau neovaskularisasi merupakan proses pembentukan pembuluh darah baru akibat pembuluh darah yang sudah ada mengeluarkan kuncup atau tunas pembuluh darah baru. Proses pembentukan pembuluh darah yang lain adalah vaskulogenesis, yaitu pembentukan jaringan vaskuler primitif pada masa perkembangan embrio dari prekursor sel endotelial yang disebut angioblas (Cotran, et al., 1999).

Gambar 1. Serangkaian langkah pembentukan pembuluh kapiler baru (Cotran, et al., 1999).



Gambar 1 menunjukkan serangkaian langkah pembentukan pembuluh kapiler baru selama angiogenesis yaitu :

1. Degradasi proteolitik membrana basalis pembuluh darah induk sehingga dapat terbentuk kuncup kapiler dan migrasi sel

* Staff Pengajar Lab. Ilmu Bedah Pada Fakultas Kedokteran Universitas Muhammadiyah Malang

2. Migrasi sel endotelial ke arah stimulus angiogenik
3. Proliferasi sel endotelial
4. Maturasi sel endotelial, pembentukan lumen dan hambatan pertumbuhan
5. Pengerahan sel periendotel, (termasuk *pericytes* untuk kapiler kecil dan *vascular smooth muscle cells* untuk pembuluh yang lebih besar) (Cotran, *et al.*, 1999).

Semua merupakan hasil interaksi *Growth factor* (GF), sel vaskuler dan *extra cellular matrix* (ECM).

Growth factor yang banyak berperan dalam angiogenesis adalah *Vascular Endothelial Growth Factors* (VEGF) dan angiopoietin. Faktor tersebut banyak dihasilkan oleh sel stroma dan mesenkim, namun reseptor mereka sebagian besar terbatas pada endotelium. VEGF berperan sejak pembentukan vaskuler pada embriogenesis sampai angiogenesis pada dewasa (Cotran, *et al.*, 1999).

VEGF pada masa awal perkembangan vaskuler berikatan dengan salah satu reseptornya (VEGF-R2) pada angioblas dan menginduksi pembentukan dan proliferasi sel endotel. Kemudian VEGF berikatan dengan reseptor lain (VEGF-R1) menginduksi karakteristik pembentukan tubulus pada kapiler. Perjalanan angiogenesis selanjutnya dikontrol oleh angiopoietin (Ang1 dan Ang2). Ang1 berinteraksi dengan reseptor pada sel endotel, disebut Tie2, mengerahkan sel periendotel untuk menjaga stabilisasi pembuluh yang baru terbentuk. Interaksi Ang1/Tie2 menyebabkan maturasi pembuluh darah dari tubulus endotel yang simple menjadi struktur vaskuler yang lebih rumit dan menjaga keseimbangan endotel (Cotran, *et al.*, 1999; Iozzo dan Antonio, 2001).

Berlawanan dengan itu, Ang2 juga berikatan dengan Tie2, melonggarkan sel endotel sehingga menjadi lebih responsif terhadap rangsangan GF seperti VEGF, atau bila tidak ada VEGF, menjadi lebih responsif terhadap inhibitor angiogenesis (Iozzo dan Antonio, 2001).

Faktor angiogenesis yang juga penting adalah *basic Fibroblast Growth Factor* (bFGF), yang mampu menimbulkan pembentukan pembuluh darah baru. *Fibroblast Growth Factor* (FGF) juga berpartisipasi dalam migrasi sel makrofag, fibroblast dan endotel pada jaringan yang rusak dan migrasi

epitel untuk membentuk epidermis baru (Iozzo dan Antonio, 2001).

Epitelialisasi

Fungsi utama diferensiasi epitel adalah sebagai barier antara lingkungan dalam dan luar. Kerusakan lapisan epitel menyebabkan cairan keluar dan bakteri dapat memasuki kulit. Migrasi epitel pada luka seluruh tebal kulit berasal dari tepi luka. Epitel bergerak dari tepi luka dengan sel tepi luka bersifat fagositik untuk membersihkan debris dan plasma (Glat dan Longaker, 1997).

Mitosis sel epitel dimulai sejak 48-72 jam setelah trauma. Kecepatan penutupan epitel meningkat bila luka bersih dan tidak membutuhkan *debridement*, bila lamina basalis utuh dan bila luka tetap dalam kondisi lembab. Adanya eskar kering memperlambat kecepatan epitelialisasi. Luka sebagian ketebalan kulit seperti donor *skin graft* akan lebih cepat mengalami epitelialisasi bila dipertahankan dalam kondisi lembab (Glat dan Longaker, 1997).

Beberapa GF memulai epitelialisasi. *Epithelial Growth Factor* (EGF) dan *Epithelial Growth Factor Receptor* (EGFR) adalah stimulator utama mitogenesis epitel dan kemotaksis, diekspresikan secara luas oleh epitel dan mesenkim (Wells, 1999). Peningkatan jumlah EGF meningkatkan kecepatan sintesis *de novo* EGFR, sehingga jumlah EGFR juga meningkat (Sizemore, *et al.*, 1996). EGFR yang meningkat akan mempercepat *signaling* proliferasi dan migrasi, sehingga mendorong penyembuhan luka dan mencegah timbulnya parut (Wells, 1999). Aktivasi EGFR sendiri bukan hanya oleh EGF namun juga oleh *Transforming Growth Factor- α* (TGF α), *amphiregulin* dan *Heparin-Binding EGF* (HB-EGF), sehingga EGFR lebih cocok dipakai sebagai parameter epitelialisasi (Wells, 1999).

Faktor lain seperti FGF dan *keratinocyte growth factor* (KGF) juga merangsang proliferasi epitel (Glat dan Longaker, 1997).

Penyembuhan Luka

Penyembuhan luka terdiri dari 3 fase yaitu fase inflamasi atau eksudatif, fase proliferasi atau granulasi dan fase *remodeling* atau kontraksi. Fase inflamasi dimulai segera sampai 4-5 hari setelah trauma (Marzoeki, 1993). Pembuluh darah yang

terbuka menyebabkan keluarnya serum protein, trombosit, faktor-faktor pembekuan darah dan kolagen. Mekanisme pertama untuk mencegah kehilangan darah adalah dengan hemostasis dan pembentukan pembekuan darah serta pembentukan matriks luka dengan mengisi defek yang disebabkan oleh trauma. Luka akan dibersihkan oleh sel inflamasi. Trombosit diaktivasi untuk mengeluarkan GF, fibrinogen dan fibronectin yang merangsang terjadinya migrasi sel ke dalam luka (Cohen dan Diegelmann, 1994).

Fase proliferasi atau granulasi dimulai sejak hari ke 3-7, matriks luka akan ditempati oleh sel endotelial yang berproliferasi. Sel tersebut akan membentuk pembuluh darah baru, dilanjutkan dengan produksi matriks ekstraseluler sementara dan migrasi dari tepi luka membentuk suatu lapisan yang akan menutupi permukaan luka (Cohen dan Diegelmann, 1994). Pembentukan jaringan granulasi yang didominasi proses angiogenesis mulai berkurang sejak hari ke 10 (Cotran, *et al.*, 1999).

Matriks yang baru terbentuk ini adalah serat kolagen yang membentuk anyaman silang untuk menyangga *tensile strength* dan membentuk jaringan parut serta serabut elastin untuk membentuk jaringan yang membantu elastisitas kulit. Selain itu luka dipenuhi dengan substansi lain seperti proteoglikan dan glikoprotein (Cohen dan Diegelmann, 1994).

Fibroblas mulai mensintesis kolagen sejak hari ke 5-7 setelah trauma dan meningkat secara linear selama 2-3 minggu (Glat dan Longaker, 1997). Peningkatan jumlah fibroblast dan mitosis sel epitel (epitelialisasi) dan angiogenesis disertai dengan peningkatan sintesis kolagen ekstrasel dan proteoglikan, merupakan ciri khas fase kedua dari penyembuhan luka.

Fase *remodeling* atau kontraksi, ditandai dengan peningkatan jumlah kolagen dan anyaman serat sehingga membentuk kekuatan baru pada parut. Selain itu terjadi penurunan jumlah fibroblast, makrofag dan angiogenesis. Yang berperan pada kontraksi luka adalah miofibroblas yang menarik tepi luka 0.6 sampai 0.75 mm perhari (Cohen dan Diegelmann, 1994).

Heparin

Heparin merupakan salah satu glikosaminoglikan (GAGs) endogen terbanyak selain heparan sulfat (HS), keratin sulfat, dermatan sulfat, chondroitin 4-sulfat, chondroitin-6-sulfat dan hyaluronic acid. Heparin yang paling asam dan bersifat *highly sulfated*, merupakan GAGs paling banyak dipakai pada luka bakar sebagai anti inflamasi, mengurangi edema, meningkatkan angiogenesis dan mempercepat epitelialisasi (Saliba, 2001).

Glikosaminoglikan adalah satu atau lebih polisakarida bermuatan negatif, bersifat amat asam, seringkali berikatan kovalen dengan *core protein* membentuk *proteoglycan* (PG) (Islam dan Linhardt, 2003). Merupakan senyawa rantai panjang terdiri dari ulangan unit disaccharida yang memiliki group karboksil dan satu atau lebih sulfat, salah satu gulanya adalah N-asetilgalaktosamin atau N-asetilglukosamin.

Proteoglikan merupakan salah satu dari 3 komponen ECM selain *fibrous structural proteins* seperti kolagen dan elastin, dan glikoprotein seperti fibronectin dan laminin (Cotran, *et al.*, 1999). Proteoglikan dapat bergabung dengan membran protein dan menjadi modulator pertumbuhan dan differensiasi sel. Contoh keluarga *syndecan*, *core protein*nya menjangkau plasma membran dan terdiri dari *cytosolic domain* pendek dan *external domain* panjang tempat ikatan sejumlah rantai heparan sulfat. *Syndecan* mengikat kolagen, fibronectin dan trombospondin dalam ECM dan memodulasi aktivitas GF. Contoh ikatan FGF dengan rantai heparan sulfat pada *syndecan* memudahkan FGF berikatan dengan reseptornya (Iozzo dan Antonio, 2001).

Heparin dan heparan sulfat glikosaminoglikan (HS-GAGs) adalah *acidic complex polysaccharides* yang ditemukan pada permukaan sel dan dalam ECM. Heparin/HS-GAGs diketahui berperan penting dalam interaksi antar sel, ikatannya dengan bermacam protein dan menempatkan protein-protein tersebut di permukaan sel (Islam dan Linhardt, 2003). Keduanya dapat berikatan dengan lebih dari 100 protein yang berbeda termasuk enzim, protease inhibitor, lipoprotein, GF, kemokin, *selectins*, protein ECM, reseptor protein,

viral coat proteins dan protein nukleus (Sasisekharan dan Venkataraman, 2000).

Peran heparin/HS-GAGs makin banyak diketahui dalam pertumbuhan dan perkembangan

sel (Sasisekharan dan Venkataraman, 2000), angiogenesis (Polykratis, et al., 2004), antiinflamasi selain sebagai antikoagulan seperti tampak pada tabel 1.

Tabel 1. Contoh molekul yang aktivitas biologisnya dimodulasi oleh ikatannya dengan rantai heparan sulfat (Sumber dari Varki, 2002)

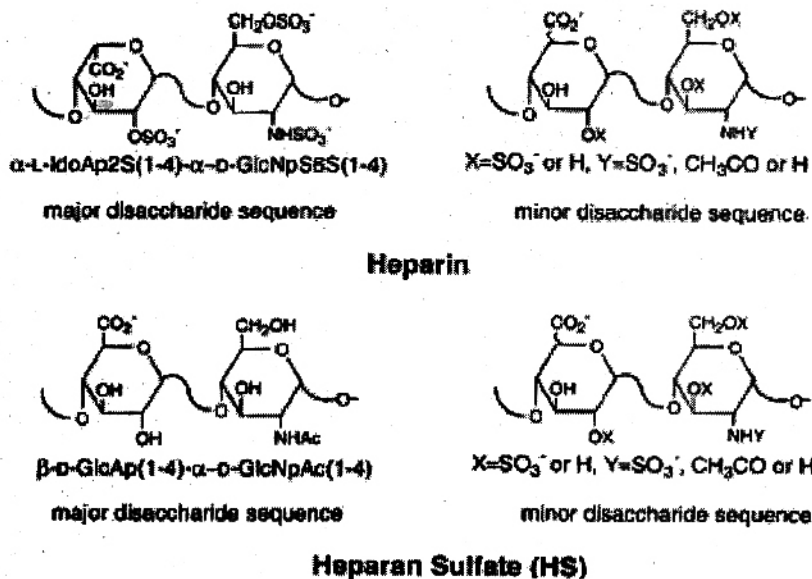
Angiogenesis	Angiostatin, endostatin, VEGF
Interaksi matrik sel	Laminin, fibronektin, thrombospondin, kolagen tipe I, II, dan V, fibrillin, tenaskin, vitronektin
Koagulasi - fibrinolisis	Antithrombin III, heparin kofaktor II, <i>tissue factor pathway inhibitor</i> , thrombin, protein C inhibitor, <i>tissue plasminogen activator</i> , <i>plasminogen activator inhibitor-1</i>
Morphogen GF	Fibroblast <i>growth factors</i> (FGFs) dan receptor FGF, faktor Wingless (Wnts), Hepatosit <i>growth factor</i> (HGF, <i>scatter factor</i>), TGF 1 dan 2, <i>bone morphogenic proteins</i> (BMPs) 2, 3, 4, dan 7, faktor Hedgehog
Inflamasi	Kemokin (MIP-1b); sitokin (IL-2, -3, -4, -5, -7, -8, dan 12); L- dan P-Selectins, <i>antimicrobial peptides</i>
Metabolisme lipid	Lipoprotein lipase, hepatic lipase, apolipoprotein E

Struktur heparin

Heparin adalah polisakarida yang linear, *highly sulfated* dan *polydisperse* yang terdiri dari pengulangan ikatan 1â4 asam uronat dan residu

glukosamin. Meskipun telah dipakai sebagai antikoagulan selama lebih dari 70 tahun, strukturnya belum diketahui secara pasti. Hal ini disebabkan sifat dasarnya yang amat kompleks (Islam dan Linhardt, 2003).

Gambar 2. Struktur heparin dan HS GAG (Islam dan Linhardt, 2003).



Gambar 2 menunjukkan perbedaan antara heparin dengan HS-GAGs. Meskipun struktur HS-GAGs mirip dengan struktur heparin, inti protein dari proteoglycan heparan sulfat berbeda dengan heparin. HS terutama ditemukan di ECM dan membran sel, sedangkan heparin hanya di dalam sel. HS dan heparin memiliki perbedaan rasio N-acetyl terhadap O-sulfo group, dan terdapat perbedaan sensitivitas terhadap heparin lyase (Islam dan Linhardt, 2003).

Fungsi biologis dan biosintesis heparin

Heparin disintesis dalam sel mast jaringan ikat, bagian dari proteoglikan (PG) *serglycin* (Lindahl, et al., 1994). Heparan sulfat diproduksi oleh sebagian besar sel hewan dan berikatan dengan berbagai *core protein* yang cocok dengan PG *syndecan*, *glypican*, *perlecan* dan *agrin* (Lindahl, et al., 1994; Iozzo dan Antonio, 2001).

PG heparin terutama ditemukan di dalam granula sel mast. Ketika terjadi degranulasi sel mast, heparin dilepas sebagai GAG heparin setelah diproses oleh protease dan endo- β -glucuronidase. Meskipun GAG heparin tersebut telah menunjukkan aktivitas antikoagulan, perannya masih belum jelas. Tidak ada bukti bahwa heparin endogen sel mast berperan dalam menjaga aliran darah (Islam dan Linhardt, 2003).

Aktivitas HS PG terutama dihasilkan dari interaksi spesifik rantai GAG nya dengan protein. Beberapa fungsi *syndecan*, sebuah HS PG, adalah : (1) organisasi ECM, melalui ikatan dengan kolagen, fibronektin, trombospondin, tenaskin dll; (2) organisasi epitel, (3) membuat permukaan endotel vaskuler yang non-trombogenik, melalui ikatannya dengan anti-trombin III (AT III), protein C dan protease nexins, (4) sebagai reseptor FGF dan (5) regulasi perkembangan embriogenesis dini dan pada kanker (Iozzo dan Antonio, 2001).

Peran heparin dan heparan sulfat dalam angiogenesis dan epitelialisasi

Heparin mempunyai beberapa peran dalam angiogenesis. Heparin, yang terkandung dalam sel mast, dapat merangsang migrasi sel endotel. FGF sebagai *angiogenic* GF dapat diaktivasi dan distabilisasi oleh heparin (Polykratis, et al., 2004)

FGF mempunyai multi reseptor dan multi ligan sehingga satu reseptor dapat mengikat beberapa ligan dengan afinitas tinggi. Kumpulan rantai 2FGF-2FGFR-2HS merupakan *signal transduction complex* yang mengakibatkan replikasi sel. Koordinasi interaksi tersebut melalui HS PG yang dapat meningkatkan ataupun menghalangi ikatan GF kepada reseptornya (Iozzo dan Antonio, 2001).

Signaling pathways yang diaktivasi EGF, FGF dan VEGF sangat tergantung pada heparin/HSPG, yang telah dibuktikan dengan kegagalan sel yang mengalami gangguan biosintesis heparan sulfat untuk mengaktifasi jalur ini dan kemampuan heparin/HSPG eksogen untuk mengembalikan fungsi tersebut (Iozzo dan Antonio, 2001).



Gambar 3 Pengaturan ikatan GF (GF) dengan reseptor tirosin kinase (TK) oleh HSPG/heparin. 1) HSPG meningkatkan konsentrasi lokal GF di dekat reseptor TK; 2) HSPG menginduksi penyusunan molekul GF agar lebih mudah berinteraksi dengan reseptor TK; 3) HSPG menginduksi oligomerisasi GF sehingga terjadi dimerisasi dan aktivasi reseptor TK (AIRC, 2005).

Gambar di atas menunjukkan heparin akan memperkuat ikatan GF dan reseptornya, dengan cara meningkatkan konsentrasi lokal GF di sekitar reseptor TK, menginduksi penyusunan molekul GF agar lebih mudah berinteraksi dengan reseptor TK dan menginduksi oligomerisasi GF yang menyebabkan dimerisasi dan aktivasi reseptor TK (AIRC, 2005). Ikatan GF dan reseptornya akan memicu kaskade kompleks yang mendorong sel melewati titik hambatan dan memasuki fase Sintesis (Becker, et al., 2006). Pada akhirnya terjadi aktivasi proliferasi dan diferensiasi fibroblas dan sel epitel (epitelialisasi) dan sel endotel pembuluh darah (angiogenesis) sehingga mempercepat penyembuhan luka (AIRC, 2005).

Salah satu HSPG, *perlecan*, diketahui dapat menginisiasi pertumbuhan sel dan morfogenesis vaskuler tumor melalui ikatannya dengan FGF2.

Perlecan sebagai ko-reseptor afinitas rendah menggiring FGF2 kepada reseptor afinitas tinggi, sehingga perlecan berfungsi sebagai salah satu struktur tangga bagi angiogenesis tumor. Studi lain mengatakan adanya GF yang memiliki afinitas tinggi terhadap heparin, disebut *heparin affin regulatory peptide*, berpengaruh terhadap induksi atau inhibisi angiogenesis (Polykratis, *et al.*, 2004).

Heparin pada terapi luka bakar

Awalnya heparin dipakai dalam dosis kecil pada terapi luka bakar, khususnya sebagai antikoagulan. Namun setelah heparin diketahui mempunyai efek sebagai anti inflamasi, mempercepat angiogenesis (Polykratis, *et al.*, 2004), pertumbuhan dan perkembangan sel (Sasisekharan dan Venkataraman, 2000) sehingga mempercepat penyembuhan luka maka heparin mulai dipakai dalam dosis lebih besar (Demling, *et al.*, 1979; Galvan, 1996; Saliba, 2001).

Kerusakan sel pada luka bakar akibat panas dapat meluas karena proses iskemia sekunder. Kerusakan indirek ini sebagian akibat gangguan pada sirkulasi darah seperti stasis, trombosis, iskemia dan infark. Terjadi aktivasi mediator inflamasi yang akan menginisiasi kerusakan lebih progresif pada sel yang sudah rusak. Hal tersebut menyebabkan luka bakar bertambah dalam. Selain itu terjadi kerusakan jaringan dan pembuluh darah akibat panas yang mengakibatkan trombus (Saliba, 2001).

Mediator inflamasi pada luka bakar akan mengaktifasi GF seperti VEGF dan FGF. GF tersebut akan berikatan lemah dengan reseptor di membran sel. Heparin pada ECM memperkuat ikatan GF dengan reseptornya, sehingga mampu memberi sinyal ke dalam inti sel yang mengakibatkan terjadi proliferasi dan diferensiasi fibroblas dan sel epitel (epitelialisasi) dan sel endotel pembuluh darah (angiogenesis) (Iozzo dan Antonio, 2001).

Pemberian heparin pada luka bakar akan memperkuat ikatan antara GF dan reseptornya, dengan cara meningkatkan konsentrasi lokal GF di sekitar reseptor tirosin kinase (TK), menginduksi penyusunan molekul GF agar dapat berinteraksi dengan reseptor TK dan menginduksi oligomerisasi GF sehingga terjadi dimerisasi dan aktivasi reseptor TK (AIRC, 2005). Ikatan GF dan reseptornya akan memicu kaskade kompleks yang mendorong sel melewati titik hambatan dan memasuki fase Sintesis

(Becker, *et al.*, 2006). Terjadi aktivasi proliferasi dan diferensiasi fibroblas dan sel epitel (epitelialisasi) dan sel endotel pembuluh darah (angiogenesis) sehingga mempercepat penyembuhan luka dan mencegah luka bakar bertambah luas akibat perubahan zona stasis menjadi zona koagulasi (Noble, *et al.*, 1977; AIRC, 2005).

Studi pada anjing dengan luka bakar 50% derajat III karena air panas yang diberi heparin dosis kecil, ditemukan bahwa anjing H dapat bertahan hidup 72,2 jam sedangkan anjing kontrol 34,6 jam (Elrod, *et al.*, 1951).

Studi luka bakar pada babi dengan terapi heparin dapat memperkecil luas secara bermakna, sehingga lebih cepat sembuh dibandingkan dengan kontrol yang luka bakarnya bertambah luas pada hari ke 9-11 (Saliba, 2001).

Hasil studi pada pasien luka bakar akut yang diberi terapi heparin secara topikal dan parenteral dosis besar mengurangi rasa nyeri, inflamasi, mempercepat revaskularisasi dan penyembuhan (Saliba, 2001; Reyes, *et al.*, 2001).

Penelitian oleh penulis sendiri mendapatkan pemberian heparin subkutan setiap hari selama 5 dan 10 hari meningkatkan jumlah VEGF dan EGFR sehingga meningkatkan angiogenesis dan mempercepat epitelialisasi dan penyembuhan luka bakar derajat IIB dan III *Rattus norvegicus strain Wistar*.

PENUTUP

Peran heparin dalam angiogenesis dan epitelialisasi makin banyak diketahui, namun sampai saat ini pemakaiannya dalam penyembuhan luka bakar masih sangat terbatas. Penelitian tentang peran heparin dalam penyembuhan luka masih terus berkembang. Masih dimungkinkan suatu saat nanti heparin menjadi alternatif terapi dalam penyembuhan luka bakar dan luka pada umumnya.

DAFTAR PUSTAKA

- AIRC, 2005. *Special Project Angiogenesis – Interactions of angiogenic growth factors with heparin/ HS*, 2005. available from <http://www.med.unibs.it/~airc/gfs.html>. Last updates December 15, 2005
- Becker WM, Kleinsmith LJ, Hardin J, 2006. *The cell cycle, DNA replication and mitosis*. In : The

- World of the Cell, 6th ed. San Francisco : Pearson Benjamin Cummings, pp 596-7
- Cen Y, Luo P, Liu XX, 2000. *The effect of heparin on wound healing of second-degree burned rats.* Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi. Sep;14(5):264-7
- Cohen IK, Diegelmann RF, 1994. *Wound Care and Wound Healing.* Principles of Surgery, 3rd ed. Philadelphia : Mc Graw Hill Inc., pp. 279-303
- Cotran RS, Kumar V, Collins T, 1999. *Tissue repair : cellular growth, fibrosis and wound healing.* In : Robbins Pathologic Basis of Disease, 6th ed. Philadelphia : WB Saunders Company, pp 89-138
- Demling RH, Mazes R, Hanson J, Wolberg W, 1979. *Effect of heparin on of edema after second- and third-degree burns.* Journal of Surgical Research 26 : 27-32
- Galvan L, 1996. *Effects of heparin on wound healing.* Journal Wound Ostomy Continence Nursing 23 (4) : 224-6
- Glat PM, Longaker MT, 1997. *Wound Healing.* In : Grabb and Smith's Plastic Surgery (eds :Aston SJ, Beasley RW, Thorne CHM), 5th ed. Philadelphia : Lippincott-Raven Publisher, pp 5-7
- Iozzo RV, Antonio JD, 2001. *Heparan sulfate proteoglycans: heavy hitters in the angiogenesis arena.* Journal Clinical Investigation 108:349-55
- Islam T, Linhardt RJ, 2003. *Chemistry, biochemistry and pharmaceutical potentials of glikosaminoglikan and related saccharides.* In (*Chi-Huey Wong ed*). Carbohydrate-based Drug Discovery, vol 1. Weinheim: Wiley-VCH, pp 407-33
- Josh F, Dososaputro I, Perdanakusuma DS, 2003. *Evaluasi kinerja Unit Luka Bakar GBPT RSU Dr. Soetomo dari September 1999 hingga Desember 2002.* Jurnal Bedah Plastik Indonesia; 1(4) : hal. 124-132
- Lindahl U, Lidholt K, Spillmann D, Kjellen, 1994. *More to "heparin" than anticoagulation.* Thrombosis research 75 (1) : 1-32
- Marzoeki Dj, 1993. Ilmu Bedah : *Luka dan Perawatannya (Luka, Asepsis/Antiseptis, Disinfeksi dan Luka Bakar).* Surabaya : Airlangga University Press, hal 29-33
- McCarthy DW, et al., 1996. *Production of heparin-binding epidermal growth factor-like growth factor (HB-EGF) at sites of thermal injury in pediatric patients.* J Invest Dermatol 106 : 49-56
- Mercandetti M, Cohen AJ, 2005. *Wound Healing, healing and repair.* Available from : <http://www.emedicine.com/plastic/topic411.htm>. last updates August 1, 2005
- Moenedjat Y, 2001. *Luka Bakar Pengetahuan Klinis Praktis* ed II. Jakarta : Balai Penerbit FKUI, hal 1-7
- Noble HGS, Robson MC, Krizek TJ, 1977. *Dermal ischemia in the Burn Wound.* Journal Of Surgical Research 23, 117- 25
- Polykratis A, 2004. *Identification of heparin affin regulatory peptide domains with potential role on angiogenesis.*The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 36 :1954-66
- Reyes AE, Astiazaran JA, Chaves CC, Jaramillo F, Saliba MJ, 2001. *Burns treated with and without heparin : controlled used in a thermal disaster.* Annals of Burns and Fire Disasters XIV (4) : 183-94
- Saliba MJ Jr, 2001. *Heparin in the treatment of burns : a review.* Journal International Society for Burn Injuries 27 : 349-58
- Sasisekharan R, Venkataraman G, 2000. *Heparin and heparan sulfate : biosynthesis, structure and function.* Current Opinion in Chemical Bilogy 4 : 626-31
- Sizemore N, Wright DS, Mueller WT, Kuo B, 1996. *Impact of receptor downregulation on clearance of two human EGFs with different receptor binding activity.* Peptides, 17(7) :1229-36
- Varki A , 2002. *Six blind men and the elephant—the many faces of heparan sulfate.* PNAS 99(2) : 543-45
- Wells A, 1999. *Molecules in focus EGF receptor.* The International Journal of Biochemistry & Cell Biology 31: 637-43
- Yagmurdur MC, et al., 2005. *Effects of heparin on bacterial translocation and gut epithelial apoptosis after burn injury in the rat: Dose-dependent inhibition of the complement cascade.* Burns 31 (2005) 603-9