

The Effect of Hiperbaric Oxygen Therapy on Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) level of Diabetic Ulcer patient

Akbar MR, Kaligis RWM, Kasim M

Background. Hyperbaric oxygen therapy (HBOT) increase endothelial oxygenation and stimulates *vascular endothelial growth factor* (VEGF) as the most specific and potent growth factor for angiogenesis, and increases wound healing process. The aim of the study is to know if five days HBOT can increase the level of VEGF in diabetic ulcer patients.

Methods and results. Clinical experimental study was conducted on 12 diabetic ulcer patients who received HBOT 30 minutes, 3 times a day for 5 days (HBOT group) and 10 diabetic ulcer patients as a control group who did not receive HBOT (non-HBOT group). The VEGF level in both groups was measured on days 1 and 5. In HBOT group the mean level of VEGF on day 1 was 1241.325 ± 237.6533 pg/ml and became 1244.458 ± 264.5641 pg/ml ($p = 0.583$) on day 5, while in non-HBOT group the mean level of VEGF on day 1 was 1262.350 ± 227.9603 pg/ml and became 1112.460 ± 220.3795 pg/ml ($p = 0.093$) on day 5. There were no significant differentiation of VEGF level between HBOT group and non-HBOT group both on day 1 ($p = 1$) and day 5 ($p = 0.872$)

Conclusions. Hyperbaric oxygen therapy for 5 days did not increase the VEGF level of diabetic ulcer patients

(J Kardiol Ind 2007; 28:53-59)

Keywords: Hyperbaric oxygen therapy (HBOT); vascular endothelial growth factor (VEGF); Diabetic ulcer

Department of Cardiology and
Vascular Medicine, Medical Faculty
University of Indonesia
National Cardiovascular Center,
Harapan Kita, Jakarta.

Pengaruh Terapi Oksigen Hiperbarik terhadap kadar Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) pada pasien Ulkus Diabetik

Akbar MR, Kaligis RWM, Kasim M

Latar Belakang. Terapi oksigen hiperbarik (TOHB) dapat meningkatkan oksigenasi endotel dan merangsang produksi *vascular endothelial growth factor* (VEGF), yang merupakan faktor pertumbuhan paling spesifik dan poten untuk proses angiogenesis; sehingga dapat mempercepat proses penyembuhan luka. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui apakah TOHB yang diberikan selama lima hari berpengaruh terhadap peningkatan kadar VEGF pasien ulkus diabetik.

Metoda dan hasil. Dilakukan penelitian uji klinis eksperimental dari bulan Februari 2006 sampai April 2006 terhadap 12 pasien ulkus diabetik yang mendapat TOHB 3 kali 30 menit per hari selama 5 hari (kelompok TOHB), dan 10 pasien ulkus diabetik yang tidak mendapat TOHB (kelompok non-TOHB) sebagai kelompok kontrol. Kadar VEGF pada kedua kelompok diukur pada hari pertama dan hari kelima. Pada kelompok TOHB kadar VEGF hari pertama menunjukkan nilai rerata $1241,325 \pm 237,6533$ pg/ml, dan setelah lima hari nilai rerata menjadi $1244,458 \pm 264,5641$ pg/ml, ($p = 0,583$). Sedangkan pada kelompok non-TOHB kadar VEGF hari pertama menunjukkan nilai rerata $1262,350 \pm 227,9603$ pg/ml, kemudian pada hari kelima nilai rerata menjadi $1112,460 \pm 220,3795$ pg/ml, ($p = 0,093$). Tidak ada perbedaan yang bermakna antara nilai rerata kadar VEGF kelompok TOHB dan kelompok non-TOHB baik pada hari pertama ($p = 1$) maupun pada hari kelima ($p = 0,872$).

Kesimpulan. Terapi oksigen hiperbarik selama lima hari tidak meningkatkan kadar VEGF pada pasien ulkus diabetik.

(J Kardiol Ind 2007; 28:53-59)

Kata Kunci: Hyperbaric oxygen therapy (HBOT); vascular endothelial growth factor (VEGF); Diabetic ulcer

Departemen Kardiologi dan
Kedokteran Vaskular, Fakultas
Kedokteran Universitas Indonesia
Pusat Jantung Nasional, Harapan
Kita, Jakarta.

Ulkus diabetik sebagai komplikasi diabetes melitus (DM) menyebabkan angka morbiditas dan mortalitas yang tinggi, sehingga menjadi salah satu masalah utama kesehatan, khususnya di negara maju.^{1,2} Di Amerika Serikat, diperkirakan 25% dari 11 juta pasien DM memiliki masalah pada kaki berkaitan dengan ulkus diabetik. Selain menjadi alasan utama perawatan pasien DM di rumah sakit, ulkus diabetik juga merupakan penyebab 50% amputasi tungkai bawah non-traumatik¹⁻⁵ Di Indonesia, angka kematian akibat ulkus diabetik berkisar 17 - 32%, sedangkan angka amputasi berkisar 15 - 30%.⁶ Ulkus diabetik termasuk kelompok luka kronik yang penyembuhannya lama, bahkan kadang gagal sembuh.⁷ Pengelolaan ulkus diabetik membutuhkan biaya yang tinggi, tetapi hasilnya kurang memuaskan. Terapi oksigen hiperbarik (TOHB) merupakan salah satu metode yang dapat dilakukan sebagai terapi ajuvan pada pasien ulkus diabetik. Pemberian oksigen pada tekanan diatas 1 atmosfer absolut (ATA) mampu menimbulkan hiperoksigenasi pada jaringan dengan perfusi yang buruk. Terapi oksigen hiperbarik yang dilakukan secara teratur, mampu meningkatkan produksi faktor pertumbuhan serta menekan sitokin inflamasi. Selain itu TOHB juga akan meningkatkan aktivasi fibroblast, angiogenesis, efek antibakterial atau meningkatkan kerja antibiotika.⁷

TOHB diharapkan mampu membantu proses penyembuhan luka pada ulkus diabetik, antara lain melalui peningkatan aktivitas angiogenesis (pembentukan pembuluh darah baru dari pembuluh darah yang telah ada). Beberapa faktor pertumbuhan yang diketahui merupakan mediator angiogenesis pada proses penyembuhan luka adalah *vascular endothelial growth factor* (VEGF), *platelet-derived growth factor* (PDGF), *basic fibroblast growth factor* (bFGF), *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), *transforming growth factor beta-1* (TGF- β 1), dll.⁸ Diantara berbagai mediator angiogenik tersebut, VEGF merupakan faktor pertumbuhan yang paling spesifik dan poten untuk proses neovaskularisasi.⁹⁻¹¹ VEGF merangsang angiogenesis dengan menginduksi proliferasi sel dan hipermeabilitas vaskular serta mempertahankan ketahanan hidup vaskular (*vascular survival*).¹⁰ Pada luka akut, ekspresi VEGF telah dimulai sejak timbulnya luka dan terus diproduksi hingga fase proliferasi dari proses penyembuhan luka; produksinya menurun pada fase *remodelling* yang merupakan tahap akhir proses penyembuhan luka.

Sheikh dkk (2000) menunjukkan bahwa kadar VEGF meningkat pada keadaan hiperoksia.¹⁵ Berdasar-

kan penelitian Brauchle dkk (1996), diduga paparan hiperoksia merangsang reseptor PDGF dan oksidan hidrogen peroksida menstimulasi sel endotel dan keratinosit untuk melepaskan VEGF.¹⁶ Selain dipengaruhi oleh oksigen, produksi VEGF juga dipengaruhi oleh kadar glukosa. Keadaan hipoglikemi akan meningkatkan ekspresi VEGF yang timbul akibat efek tidak langsung dari keadaan hipoksia.¹⁴ Selain hipoglikemi, ternyata keadaan hiperglikemia juga dapat merangsang produksi VEGF secara langsung melalui mekanisme protein kinase C. Secara *in vitro* Natarajan dkk (1997), memperlihatkan peningkatan produksi VEGF pada kadar glukosa yang tinggi.¹⁸ Hovind dkk (2000), membuktikan adanya peningkatan kadar VEGF plasma pada penderita DM.¹⁹ Meskipun TOHB sering diaplikasikan untuk membantu proses penyembuhan ulkus diabetik, namun manfaat TOHB secara pasti masih menjadi perdebatan, karena beragamnya hasil penelitian yang ada, sebagaimana dipaparkan diatas.²⁰ Kendala yang timbul dalam mengendalikan berbagai parameter pada proses pembentukan ulkus diabetik, serta terbatasnya penelitian acak mengenai efek terapi oksigen pada ulkus diabetik, menyebabkan TOHB masih sulit diterima sebagai terapi standar ulkus diabetik.

Berdasarkan uraian diatas, maka kami melakukan penelitian mengenai pengaruh TOHB selama 5 hari terhadap proses angiogenesis pada penyembuhan ulkus diabetik, dengan melihat perubahan kadar VEGF.

Subyek dan metoda

Penelitian ini bersifat uji klinis eksperimental. Dilakukan pengamatan terhadap perubahan kadar VEGF sebagai petanda angiogenesis, pada pasien ulkus diabetik setelah paparan oksigen tekanan tinggi selama 5 hari berturut-turut, dibandingkan dengan yang tidak mendapat perlakuan. Penelitian dilakukan mulai bulan Februari 2006 hingga bulan April 2006.

Populasi penelitian adalah pasien DM dengan ulkus diabetik yang berobat ke fasilitas ruangan udara bertekanan tinggi (RUBT) Lembaga Kesehatan Kelautan (Lakesla) Dinas Kesehatan Angkatan Laut, Surabaya dan pasien ulkus diabetik yang dirawat di ruang perawatan Sub Departemen Endokrinologi, Departemen Ilmu Penyakit Dalam, Rumah Sakit Angkatan Laut dr. Ramelan, Surabaya. Pasien memenuhi kriteria inklusi dan eksklusi. Metode pengambilan sampel dilakukan menurut pasien yang

datang berurutan (*sampling from consecutive admissions*), hingga tercapai jumlah sampel yang telah ditetapkan. Pasien yang memenuhi kriteria inklusi dibagi menjadi dua kelompok, yaitu kelompok TOHB (kelompok perlakuan) yang mendapat oksigenasi hiperbarik dengan dosis 2, 4 ATA, 3 kali 30 menit per-hari, dan kelompok non-TOHB (kelompok kontrol) yang tidak mendapat paparan oksigen tekanan tinggi. Penelitian dilakukan setelah mendapat persetujuan Komite Etik Lakesla Dinas Kesehatan Angkatan Laut, Surabaya. Sebelum penelitian dimulai, subyek diminta untuk menandatangani surat *informed consent*, sebagai bukti kesediaan mengikuti penelitian. Pemeriksaan kadar VEGF dilakukan terhadap serum pasien menggunakan paket Quantikine[®] Human VEGF Immunoassay produksi *R & D systems, Inc*, dengan *sample value* (serum) : 62-707 pg/ml. Sampel diambil pada hari pertama sebelum dilakukan TOHB, dan hari kelima setelah selesai TOHB. Perbedaan nilai rerata kadar VEGF hari pertama dan hari kelima pada setiap kelompok, diuji dengan *Wilcoxon signed rank test*, sedangkan perbedaan nilai rerata kadar VEGF antara kelompok TOHB dan non-TOHB diuji dengan menggunakan *Mann Whitney U test*. Untuk menilai beda proporsi antara kelompok non-TOHB dan kelompok TOHB dilakukan dengan uji *chi square*. Batas kemaknaan yang diambil adalah $p < 0,05$. Analisis data dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak computer program SPSS 14 for Windows.

Hasil

Dalam kurun waktu penelitian, ada 22 pasien yang memenuhi kriteria inklusi, terdiri dari 10 pasien kelompok kontrol dan 12 pasien kelompok perlakuan. Pada setiap penderita dilakukan pencatatan terhadap jenis kelamin, usia, berat badan, tinggi badan, indeks massa tubuh (IMT) dan faktor-faktor yang mempengaruhi perjalanan penyakit, seperti: lama menderita DM, jenis terapi DM, kebiasaan merokok, tekanan darah, EKG, kadar HbA1c, kolesterol total, kolesterol HDL, dan kolesterol LDL.

Diskusi

Pada penelitian ini dibandingkan kadar VEGF antara kelompok pasien ulkus diabetik yang mendapat TOHB selama 5 hari dengan kadar VEGF kelompok

pasien ulkus diabetik yang tidak mendapat TOHB. Tidak ada perbedaan bermakna berkaitan dengan karakteristik subyek penelitian (jenis kelamin, usia, berat badan, tinggi badan, indeks masa tubuh, lama menderita DM, tekanan darah, kadar HbA1c dan profil lipid) kelompok TOHB dengan kelompok non-TOHB ($p > 0,05$).

Karakteristik subyek penelitian disajikan pada tabel 1. Data disajikan dalam bentuk nilai rerata \pm simpangan baku, serta nilai proporsi. Selanjutnya dilakukan uji homogenitas (kesetaraan) dari setiap variabel pada masing-masing kelompok. Hal ini dimaksudkan untuk menunjukkan tidak adanya perbedaan bermakna pada variabel-variabel yang diteliti antara kedua kelompok tersebut, sehingga dianggap berasal dari populasi yang homogen. Hasil uji homogenitas, disajikan pula pada **Tabel 1**. Kadar VEGF sebelum dan sesudah TOHB disajikan dalam bentuk nilai rerata \pm simpangan baku, seperti disajikan pada **Tabel 2**. Tidak ada perbedaan yang bermakna kadar rerata VEGF hari pertama antara kelompok non-TOHB dan kelompok TOHB ($p = 1$), maupun kadar rerata VEGF hari kelima antara kelompok non-TOHB dan kelompok TOHB ($p = 0,872$). Kadar VEGF pada penelitian ini jauh diatas angka normal yang pernah dilaporkan dalam beberapa penelitian. Baba dkk (2001) yang meneliti kadar VEGF pada pasien DM dengan kadar HbA1c $> 7,5\%$ dan rata-rata menderita DM selama 13 tahun, menunjukkan angka dasar (*baseline*) kadar VEGF 33-37 pg/ml.¹² Dantz dkk (2002) melakukan penelitian mengenai pengaruh hipoglikemi terhadap VEGF, ia membuktikan bahwa kadar VEGF pria dewasa normal sebelum perlakuan sebesar $86,1 \pm 13,4$ pg/ml.²¹ Beberapa penelitian lain berkaitan dengan VEGF pada penyakit keganasan menunjukkan kadar normal VEGF < 300 pg/ml (berkisar antara $8,11 \pm 1,60$ ng/ml sampai $294,20 \pm 23,40$ ng/L), dan ada perbedaan berdasarkan umur dan jenis kelamin.²²⁻²⁴

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa terjadi peningkatan nilai rerata kadar VEGF pada kelompok TOHB setelah diberi terapi oksigen hiperbarik selama 5 hari berturut-turut sedangkan pada kelompok non-TOHB, nilai rerata kadar VEGF setelah 5 hari menunjukkan penurunan, seperti yang terlihat pada **gambar 1**. Namun, secara statistik perubahan yang terjadi pada nilai rerata kadar VEGF baik pada kelompok TOHB maupun kelompok non-TOHB tidak bermakna ($p = 0,583$ dan $p = 0,093$). Demikian halnya dengan nilai rerata antar kelompok, tidak terdapat perbedaan bermakna nilai rerata kadar VEGF hari

TABEL 1. KARAKTERISTIK SUBYEK PENELITIAN

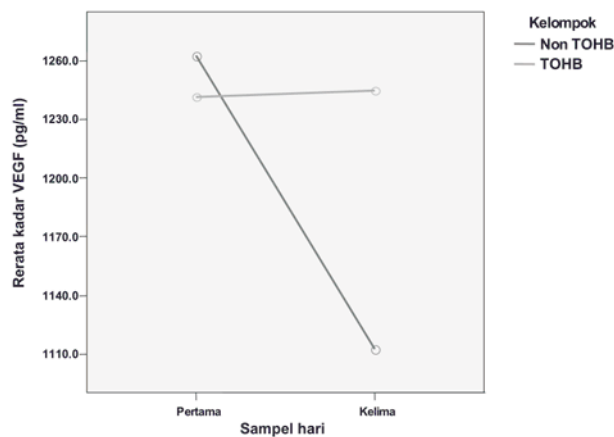
Variabel	Kelompok		P
	Non-TOHB (n = 10)	TOHB (n = 12)	
Jenis kelamin			0,746
• Pria	4 (40%)	4 (33%)	
• Wanita	6 (60%)	8 (67%)	
Umur (tahun)	59,20 ± 8,417	57,83 ± 8,820	0,399
Berat badan (kg)	66,40 ± 10,222	63,42 ± 9,337	0,998
Tinggi badan (cm)	161,70 ± 6,001	160,08 ± 6,529	0,928
IMT (kg/m ²)	25,250 ± 2,4825	24,758 ± 2,2996	0,833
Gambaran EKG			0,350
• Dalam batas normal	10 (100%)	11 (92%)	
• Tidak normal	0 (0%)	1 (8%)	
TD sistolik (mmHg)	123,00 ± 16,364	135,00 ± 13,143	0,579
TD diastolik (mmHg)	75,00 ± 9,718	85,42 ± 6,557	0,060
Lama diabetes (tahun)			0,922
• < 5	3 (30%)	4 (33%)	
• 5-10	2 (20%)	3 (25%)	
• > 10	5 (50%)	5 (42%)	
HbA1c (%)	10,100 ± 2,5425	10,367 ± 2,5780	0,960
Kolesterol total (mg/dl)	145,30 ± 48,888	179,92 ± 50,814	0,131
LDL-kol (mg/dl)	92,20 ± 41,117	115,17 ± 43,409	0,579
HDL-kol (mg/dl)	29,40 ± 11,635	34,5 ± 8,688	0,347

TABEL 2. RERATA KADAR VEGF HARI KE-1 DAN KE-5

Kelompok	Rerata kadar VEGF (pg/ml)		P
	Hari ke-1	Hari ke-5	
Non-TOHB	1262,350 ± 227,9603	1112,460 ± 220,3795	0,093
TOHB	1241,325 ± 237,6533	1244,458 ± 264,5641	0,583

pertama antara kelompok TOHB dengan kelompok non-TOHB (p = 1), maupun nilai rerata kadar VEGF hari kelima antara kelompok TOHB dan kelompok non-TOHB (p = 0,872). Hasil yang diperoleh pada penelitian ini berbeda dengan hasil penelitian Sheikh dkk (2000) yang menunjukkan peningkatan kadar VEGF secara bermakna setelah pemberian TOHB.¹⁵ Namun hasil penelitian ini sesuai dengan hasil penelitian Kang dkk (2004) yang menyatakan bahwa pada pemberian TOHB sebanyak 7 sesi kenaikan kadar VEGF hanya sedikit dan tidak bermakna²⁵ Penelitian ini dilakukan terhadap ulkus diabetik yang termasuk kelompok luka kronis. Secara umum telah diketahui bahwa sifat luka kronis ber-beda dengan luka akut. Proses penyembuhan luka kronis seringkali tidak dapat

RERATA KADAR VEGF HARI KE-1 & HARI KE-5



GAMBAR 1. GRAFIK PERUBAHAN RERATA KADAR VEGF

diduga, dan tidak mengikuti perjalanan alami proses penyembuhan luka seperti halnya luka akut. Luka kronis pada pasien DM juga seringkali disertai infeksi sekunder akibat bakteri. Penelitian yang dilakukan oleh Power dkk (2001) membuktikan bahwa, dinding sel bakteri akan memproduksi substansi yang bersifat menghambat ekspresi VEGF pada luka. Beberapa

penelitian menunjukkan bahwa produksi VEGF pada luka dimulai hari ketiga, dan akan turun pada hari ketujuh.^{9,10,26} Namun pada luka yang dalam, penurunan produksi VEGF terjadi pada hari ketigabelas, dan setelah tiga minggu produksi VEGF kembali normal.⁹ Proses angiogenesis pada ulkus diabetik juga berbeda dengan proses angiogenesis penyembuhan luka secara umum. Hal tersebut disebabkan oleh penurunan produksi faktor pertumbuhan pada fase awal penyembuhan luka, dan penurunan sekresi faktor pertumbuhan angiogenik termasuk PDGF, IGF-1 dan VEGF.¹⁰ Oleh karena itu, VEGF yang terlihat pada pasien ulkus diabetik lebih rendah dibanding pasien non-diabetik. Walaupun secara statistik peningkatan nilai rerata kadar VEGF pada kelompok TOHB tidak bermakna, namun secara klinis sebagian besar pasien kelompok TOHB menunjukkan kecenderungan perbaikan luka setelah TOHB selama 5 hari. Jadi, tampaknya proses angiogenesis yang melibatkan VEGF bukan satu-satunya faktor yang berperan dalam proses penyembuhan ulkus diabetik. Berdasarkan data karakteristik subyek penelitian, diketahui kadar HbA1c diatas 8%. Data ini menunjukkan bahwa kadar gula darah belum terkontrol baik atau pengendalian kadar gula darah yang buruk. Keadaan hipoglikemi dapat meningkatkan ekspresi VEGF yang diduga terjadi melalui efek tidak langsung, berkaitan dengan keadaan hipoksia daerah luka. Bila kadar glukosa kembali normal maka produksi VEGF akan kembali pula pada keadaan normal.¹² Walaupun beberapa peneliti membuktikan peran hiper-glikemi terhadap ekspresi VEGF pada luka, namun ternyata hipoglikemi mempunyai peran lebih besar.^{12,16} Pada penelitian ini jumlah sampel untuk kelompok perlakuan ada 12 orang, sedangkan untuk kelompok kontrol 10 orang. Melihat bahwa hasil penelitian menunjukkan kecenderungan peningkatan nilai rerata kadar VEGF pada kelompok TOHB (gambar 1), maka penambahan jumlah sampel penelitian diharapkan akan meningkatkan kemaknaan nilai kadar VEGF pada pasien ulkus diabetik yang mendapat TOHB selama 5 hari. Faktor yang mungkin mempengaruhi perubahan kadar VEGF setelah pemberian TOHB, adalah lama (jumlah sesi) TOHB. Pada penelitian ini dilakukan TOHB 2,4 ATA, 3 kali 30 menit per-hari selama 5 hari berturut-turut (5 sesi). TOHB untuk tujuan penyembuhan ulkus diabetik dapat mencapai 20-50 sesi.¹²

Di *Hyperbaric Medical Centre* Rumah Sakit Angkatan Laut dr. Mintohardjo, Jakarta selama periode tahun 2004 dari 88 kasus ulkus diabetes, kesembuhan mulai diperoleh setelah mendapatkan TOHB rerata 8

sesi. Sedangkan di *Hyperbaric Medical Centre* Region Friuli Venezia Giulia, Italy, untuk kasus ulkus diabetik dilakukan TOHB hingga 50 sesi.¹³ Penelitian Teas dkk (2004) menyatakan bahwa peningkatan kadar VEGF-C baru terjadi setelah 20 sesi TOHB. Dengan demikian pemberian TOHB selama 5 sesi pada pasien ulkus diabetik dalam penelitian ini tampaknya belum memadai untuk merangsang produksi VEGF hingga kadar yang cukup tinggi.²⁷ Dalam penelitian ini diketahui bahwa, pasien ulkus diabetik yang tidak mendapat TOHB justru memperlihatkan penurunan kadar VEGF. Secara tidak langsung kenyataan ini menunjukkan adanya hambatan terhadap proses penyembuhan luka akibat penurunan aktivitas angiogenesis. Sebaliknya pasien ulkus diabetik yang mendapat TOHB memperlihatkan sedikit peningkatan kadar VEGF, yang mengindikasikan peningkatan proses angiogenesis sebagai bagian dari proses penyembuhan luka.

Keterbatasan

Keterbatasan penelitian ini adalah, pengukuran sebagian kadar VEGF merupakan hasil perhitungan interpolasi dari kadar VEGF yang sebenarnya; karena kadar VEGF hasil pemeriksaan pada sebagian sampel berada diatas nilai sampel yang dapat dideteksi. Selain itu, waktu penelitian dan biaya juga menjadi kendala yang berpengaruh terhadap penetapan sesi TOHB.

Kesimpulan dan saran

Terapi oksigen hiperbarik selama 5 hari pada pasien ulkus diabetik tidak meningkatkan kadar VEGF secara bermakna. Namun, terlihat ada kecenderungan kenaikan VEGF pada pasien yang mendapat terapi, dan penurunan VEGF pada pasien yang tidak mendapat terapi. Atas dasar hasil penemuan ini, perlu dilakukan penelitian lebih lanjut dengan waktu pemberian TOHB lebih lama (jumlah sesi yang banyak).

Ucapan terima kasih

Berkaitan dengan pelaksanaan penelitian ini, kami ingin mengucapkan terima kasih kepada Kolonel Laut (K) dr. Sakti Hoetama, SpBU, Kepala Lakesla TNI

AL Surabaya; Kolonel Laut (K) dr. Janto Poernomo, SpP, Kepala Lakesla TNI AL Surabaya terdahulu serta Laksamana Pertama TNI dr. HM Guritno S, SMHS, DEA, Kepala RSAL dr. Ramelan Surabaya atas bimbingan, dukungan, kerjasama serta bantuan dan kemudahan fasilitas yang diberikan selama pelaksanaan penelitian.

Daftar Pustaka

- Stone JA, Cianci P. The adjunctive role of hyperbaric oxygen therapy in the treatment of lower extremity wounds in patients with diabetes. *Diabetes spectrum*. 1997;10:118-23.
- Boyko EJ, Ahroni JH, Smith DG, Davignon D. Increased mortality associated with diabetic foot ulcer. *Diabet Med*. 1996;13:967-72.
- Armstrong DG, Lavery LA. Diabetic foot ulcers: prevention, diagnosis and classification. *American Family Physician*. 1998;57:1-10.
- Pinzur MS. Diabetic foot. 2004 . Available from : <http://www.e-medicine.com>
- Frykberg RG. Diabetic foot ulcer: pathogenesis and management. *Am Fam Physician*. 2002;66:1655-62.
- Tambunan M. Perawatan kaki diabetik. Materi penyuluhan. Dalam : Penatalaksanaan Diabetes Melitus Terpadu. Soegondo S, Soewondo P, Subekti I, editors. Balai Penerbit FKUI. Jakarta. 2002:293-8.
- Roeckl-Wiedmann I, Bennett M, Kranke P. Systematic review of hyperbaric oxygen in the management of chronic wounds. *Br J Surg*. 2005;92:24-32.
- Corral CJ, Siddiqui A, Wu L, Farrell CL, Lyons D, Mustoe TA. Vascular endothelial growth factor is more important than basic fibroblast growth factor during ischemia wound healing. *Arch Surg*. 1999;134:200-5.
- Bates DO, Jones ROP. The role of vascular endothelial growth factor in wound healing. *Lower Extremity Wounds*. 2003;2:107-20
- Li VW, Li WW. The biology of PDGF and other growth factors in wound neovascularization. *Contemp Surg*. 2003;(suppl):12-8.
- Werner S, Grose R. Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *Physiol Rev*. 2003;83:835-70.
- Baba T, Shimada K, Neugebauer S, Yamada D, Hashimoto S, Watanabe T. The oral insulin sensitizer, thiazolidinedione, increases plasma, vascular endothelial growth factor in type 2 diabetic patients. *Diabetes Care*. 2001;24:953-4
- Guritno. Cost-effectiveness HBO therapy. In Update on hyperbaric oxygen therapy. Understanding challenges through HBO therapy, from pathology to clinical implication. 2005;3-9
- Felmeden DC, Blann AD, Lip GYH. Angiogenesis: basic pathophysiology and implications for disease. *Eur Heart J*. 2003;24:586-603.
- Sheikh AY, Gibson JJ, Rollins MD, Hopf HW, Hussain Z, Hunt TK. Effect of hyperoxia on vascular endothelial growth factor levels in a wound model. *Arch Surg*. 2000;135:1293-7.
- Brauchle M, Funk JO, Kind P, Werner S. Ultraviolet B and H₂O₂ are potent inducers of vascular endothelial growth factor expression in cultured keratinocytes. *J Biol Chem*. 1996;271:21793-7.
- Wright J. Hyperbaric oxygen therapy for wound healing. Available from : <http://www.worldwidewounds.com/2001/april/Wright/HyperbaricOxygen.html>
- Natarajan R, Bai W, Lanting L, Gonzales N, Nadler J. Effects of high glucose on vascular endothelial growth factor expression in vascular smooth muscle cells. *Heart Circ Physiol*. 1997;42:H2224-31.
- Hovind P, Tarnow L, Oestergaard PB, Parving HH. Elevated vascular endothelial growth factor in type 1 diabetic patients with diabetic nephropathy. *Kidney Int*. 2000;75:S56-S61.
- Kessler L, Bilbault P, Ortega F, Grasso C, Passemard R, Stephan D, Pinget M, Schneider F. Hyperbaric oxygenation accelerates the healing rate of nonischemic chronic diabetic foot ulcers. A prospective randomized study. *Diabetes Care*. 2003;26:2378-82.
- Dantz D, Bewersdorf J, Freuhwald-Schultes B, Kern W, Jelkmann W, Born J, Fehm HL, Peters A. Vascular endothelial growth factor : A novel endocrine defensive response to hypoglycemia. *J Clin Endocrinol Metab*. 2002;87:835-40.
- Ratnadewi N. Hubungan kadar *vascular endothelial growth factor* dengan faktor prognosis pada penderita karsinoma serviks uteri. Tesis program pendidikan dokter spesialis I. Universitas Padjadjaran Bandung. 2001.
- Yamamoto Y, Toi M, Kondo S, Matsumoto T, Suzuki H, Kitamura M, Tsuruta K, et al. Concentrations of vascular endothelial growth factor in sera of normal control and cancer patients. *Clinical Cancer Research*. 1996;2:821-6.
- Zheng A, Xia Y, Sun XF, Zhang CQ, Zhen ZJ, Wang ZH, Wang ZQ. Primary study of relationship between serum level of VEGF and non-Hodgkin's lymphoma in children and adolescent patients. *MedScape Today*. 2004;23(11Suppl):1448-50.
- Kang TS, Gorti GK, Quan SY, Ho M, Koch RJ. Effect of hyperbaric oxygen on the growth factor profile fibroblast. *Arch Facial Plast Surg*. 2004;6:31-5.
- Singer AJ, Clark RAF. Cutaneous wound healing. *N Engl J Med*. 1999;341: 738-46.
- Teas J, Cunningham JE, Cone L, Jansen K, Raghavan SK, Nitcheva DK, et al. Can hyperbaric oxygen therapy reduce breast cancer treatment-related lymphedema ?. A pilot study. *J Women's Health*. 2004;13:1008-18.