



Pengaruh Latihan Teratur Terhadap Kadar *Circulating Endothelial Cells* (Cec) Tikus Strain Wistar

Rias Gesang Kinanti¹, Ahmad Abdullah², Mochammad Yunus³

¹ Prodi Ilmu Keolahragaan, Fakultas Ilmu keolahragaan, Universitas Negeri Malang

² Prodi Ilmu Keolahragaan, Fakultas Ilmu keolahragaan, Universitas Negeri Malang

³ Prodi Pendidikan Kepeleatihan Olahraga, Fakultas Ilmu keolahragaan, Universitas Negeri Malang
rias.gesang.fik@um.ac.id, ahmad.abdullah.fik@um.ac.id, moch.yunus.fik@um.ac.id

Abstract

Circulating endothelial cells (CEC) have been identified as an indication of vascular damage in several diseases, one of which is atherosclerosis coronary heart disease. This study aims to see the effect of regular exercise on CEC levels. The sample used are male rats of the type *rattus norvegicus wistar* strain, aged 8-10 weeks, body weight 80-110 grams. Healthy rats are taken from specially recommended farms. The total sample consisted of 10 rats, divided into two groups in which the control group consisted of 5 rats and the regular exercise treatment group consisted of 5 rats. Treatment of regular exercise (swimming) for 12 weeks. The finding of this study is that regular exercise can affect the number of Circulating Endothelial Cells (CEC), but the decrease is not significant ($p=0.116$) compared to the control group. Regular exercise improves endothelial function, characterized by a decrease in the number of CEC.

Keywords: Circulating endothelial cells, regular exercise, endothelial function.

Abstrak

Circulating endothelial cells (CEC) diidentifikasi sebagai penanda kerusakan vaskular pada beberapa penyakit, salah satunya penyakit jantung koroner aterosklerosis. Penelitian ini bertujuan untuk melihat pengaruh latihan teratur terhadap kadar CEC. Sampel yang digunakan adalah tikus jantan berjenis *rattus norvegicus strain wistar*, usia 8-10 minggu, berat badan 80-110 gram. Tikus sehat diambil dari peternakan khusus yang direkomendasikan. Sampel keseluruhan berjumlah 10 ekor dibagi menjadi dua kelompok, kelompok kontrol berjumlah 5 ekor dan kelompok perlakuan olahraga teratur berjumlah 5 ekor. Perlakuan olahraga teratur (tikus direnangkan) selama 12 minggu. Temuan dari penelitian ini adalah pemberian latihan teratur dapat mempengaruhi jumlah *Circulating Endothelial Cells* (CEC), namun penurunannya tidak signifikan ($p=0.116$) dibanding kelompok kontrol. Latihan teratur meningkatkan fungsi endotel, ditandai dengan penurunan jumlah CEC.

Kata kunci: *Circulating endothelial cells*, latihan teratur, fungsi endotel.



This is an open access article distributed under the Creative Commons Attribution-ShareAlike 4.0 International License ©2022 by author

PENDAHULUAN

Aterosklerosis adalah penyakit inflamasi kronis pada arteri dan sebagai penyebab utama (50%) kematian di negara barat (Pahwa & Jialal, 2021). Data NHANES, diperkirakan 16,5 juta orang Amerika selama 20 tahun menderita penyakit jantung koroner (PJK). Tahun 2018, sebanyak 720.000 orang Amerika akan mengalami kejadian koroner baru (*infark miokard* atau kematian PJK), dan 335.000 akan mengalami kejadian berulang. Diperkirakan di tahun 2035 yang akan datang, >130 juta orang dewasa (45,1%) diproyeksikan memiliki *cardiovascular disease* (CVD), dengan total biaya yang dikeluarkan diperkirakan mencapai 1,1 triliun US dollar (Benjamin et al., 2018). Diperkirakan diseluruh dunia, PJK pada tahun 2020 menjadi pembunuh pertama tersering yakni sebesar 36% dari seluruh kematian, angka ini dua kali lebih tinggi dari angka kematian akibat penyakit kanker (PERKI 2019). Kematian akibat CVD disebabkan oleh penyakit jantung koroner aterosklerotik (Aengevaeren & Eijsvogels, 2020).

Endotel vaskular memiliki peran penting dalam mempertahankan homeostasis vaskular dan mengatur fungsi pembuluh darah. Endotelium adalah pengatur utama aliran darah melalui sifat vasodilatornya terutama produksi *nitric oxide* (NO), termasuk prostasiklin (PGI₂) dan *endothelium-derived hyperpolarizing factor* (EDHF), sebagai respons terhadap berbagai zat kimia (misalnya, bradikinin, asetilkolin, serotonin), dan rangsangan fisik (*shear stress*). Endotelium normal juga berfungsi sebagai anti-platelet, anti-koagulan, fibrinolitik, anti-inflamasi dan antiproliferatif. Produksi dan pelepasan NO endotel memainkan peran utama dalam menjaga sifat anti-trombogenik dari lapisan endotel (Lanza et al., 2020). Penurunan produksi NO menyebabkan disfungsi endotel, merupakan indikasi adanya penyakit kardiovaskular yang berhubungan dengan kondisi patologis seperti vasokonstriksi, trombosis, dan keadaan inflamasi (Godo & Shimokawa, 2017). Karakterisasi awal disfungsi endotel pada aterogenesis, berfokus pada hilangnya integritas anatomi lapisan intima (endotel), seperti *Response-to-Injury Hypothesis* dari Ross dan Glomset, bahwa peristiwa awal proses aterogenik adalah beberapa bentuk cedera nyata pada lapisan endotel intima, yang disebabkan oleh zat berbahaya seperti kolesterol teroksidasi, asap rokok, hiperhomosistemia, dan hiperglikemia atau perubahan gaya hemodinamik (gangguan aliran darah).

Deskuamasi endotel fokal mungkin sebagai stimulus pemicu adhesi trombosit dan pelepasan lokal dari *platelet-derived growth factors*, dan menimbulkan migrasi, proliferasi, dan modulasi fenotip sel otot polos medial, sehingga menghasilkan plak fibromuskular (Gimbrone & García-Cardena, 2016).

Disfungsi endotel terlibat dalam beberapa penyakit kardiovaskular, merupakan parameter diagnostik yang penting dan berguna untuk pencegahan penyakit kardiovaskular. Gangguan fungsi endotel juga terdapat pada berbagai kondisi penyakit tidak menular seperti diabetes, penyakit ginjal kronis, dan hipertensi. *circulating endothelial cells* (CEC) diidentifikasi sebagai penanda kerusakan vaskular pada beberapa penyakit. Penambahan jumlah CEC berkorelasi dengan aktivitas penyakit. CEC ditemukan dalam aliran darah karena berbagai faktor-faktor seperti cedera mekanis, subendotel, molekul adhesi, pengikatan protein matriks cacat dan faktor risiko aterosklerosis (Wihastuti dkk., 2014). Peningkatan kadar *circulating endothelial cells* (CECs) digunakan sebagai biomarker disfungsi endotel. CEC telah dipakai untuk menilai integritas dan fungsi endotel, dan identitasnya telah dideteksi dengan menggunakan antibodi spesifik (Farinacci et al., 2019).

Olahraga teratur merupakan gaya hidup sehat, dihubungkan dengan penurunan kejadian kardiovaskular dan peningkatan kualitas hidup (Souza et al., 2019). Olahraga selama 15 menit perhari menurunkan 14% semua penyebab kematian, sebaliknya kurang olahraga penyebab 12% kematian penyakit kardiovaskular. Sehingga olahraga salah satu cara efektif mengurangi faktor risiko penyakit kardiovaskular, khususnya penyakit jantung koroner (PJK) aterosklerosis sebagai penyebab utama kematian di seluruh dunia (± 18 juta kematian per tahun atau $\pm 31\%$ dari total kematian (Aengevaeren & Eijsvogels, 2020). Produksi *reactive oxygen species* (ROS) yang tinggi dalam sel menyebabkan gangguan redoks yang menyebabkan kerusakan oksidatif pada komponen seluler. Kerusakan oksidatif kronis dihubungkan dengan patogenesis penyakit kardiovaskular, diabetes mellitus, hipertensi, dan beberapa penyakit neurodegeneratif. Menariknya, olahraga teratur bermanfaat meningkatkan kesehatan, dan faktanya olahraga berat dan/atau lama dapat meningkatkan produksi ROS dengan

peningkatan biomarker kerusakan oksidatif pada darah dan otot rangka (Powers et al., 2020).

Saat ini olahraga banyak digunakan untuk terapi nonfarmakologi dan pencegahan penyakit jantung koroner dalam upaya menurunkan kasus CVD aterosklerosis. Sehingga evaluasi fungsi endotel saat berolahraga penting untuk dilakukan karena relevansinya dengan kasus CVD. Penelitian ini bertujuan untuk mendeteksi pengaruh olahraga teratur terhadap kadar CEC pada tikus wistar sehat yang diberi intervensi renang.

METODELOGI PENELITIAN

Rancangan Penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian eksperimental laboratories, dengan rancangan *randomized control group post test only design*. Sampel menggunakan tikus jantan berjenis *rattus norvegicus strain wistar*, usia 8-10 minggu, berat badan 80-110 gram. Tikus sehat diambil dari peternakan khusus yang direkomendasikan. Sampel keseluruhan berjumlah 10 ekor dibagi menjadi dua kelompok, kelompok kontrol berjumlah 5 ekor dan kelompok perlakuan olahraga teratur berjumlah 5 ekor. Perlakuan dilakukan selama 12 minggu. Pemeliharaan hewan coba di lab. Biologi FMIPA dan proses pembedahan dilakukan di Lab. *Green House* FMIPA Universitas Negeri Malang.

Perlakuan

Setelah aklimatisasi selama 7 hari, tikus direnangkan dengan beban 3% dari berat badan, beban terbuat dari ring yang diikatkan pada pangkal ekor tikus dengan menggunakan tali benang kasar. Perlakuan renang diberikan pada malam hari, selama 20-30 menit dengan frekuensi 3x/minggu. Pengambilan sampel darah setelah intervensi selama 12 minggu, dan hewan coba diistirahatkan selama 12 jam setelah perlakuan terakhir, sampel darah diambil menggunakan spuit 3 cc pada ventrikel kiri organ jantung.

Isolasi dan identifikasi kadar *circulating endothelial cells* (CEC)

Teknik pemeriksaan kadar CEC (*Circulating Endothelial Cells*), dilakukan dengan mengambil darah, menggunakan metode staining dengan sel surface marker (CD45-CD146) dengan alat *flowcytometri*. Antibodi sel surface marker (a) Anti-Human CD45 FITC (Biolegend), (b) Anti-Human CD146PE (Biolegend), dengan *flow cytometry* staining buffer (eBioscience). Pengambilan sampel darah sebanyak 3 cc, pelet sel dicuci dengan sel staining buffer 1 kali. Kemudian disentrifus pada kecepatan 2500 rpm, 3 menit, suhu 4 derajat. Supernatan dibuang dan Pelet sel yang terbentuk siap untuk distaining dengan antibodi sel surface marker (5 uL per sampel yang telah diencerkan 1:10 dalam sel staining buffer). Antibodi yang telah diencerkan kemudian diambil sebanyak 50 µl dan di campurkan dengan pelet sel dan dihomogenkan. Pelet sel yang telah diberi antibodi diinkubasi selama 20 menit dalam gelap di suhu ruang. Setelah inkubasi ditambahkan 500 uL sel staining buffer dan dihomogenkan kembali, dan dilanjutkan tahap intraselular staining.

Analisis Statistik

Data disajikan dalam mean±SD. Semua data dianalisis menggunakan *independent t-test*, dengan tingkat signifikansi $p < 0,05$ menggunakan program SPSS.

HASIL PENELITIAN

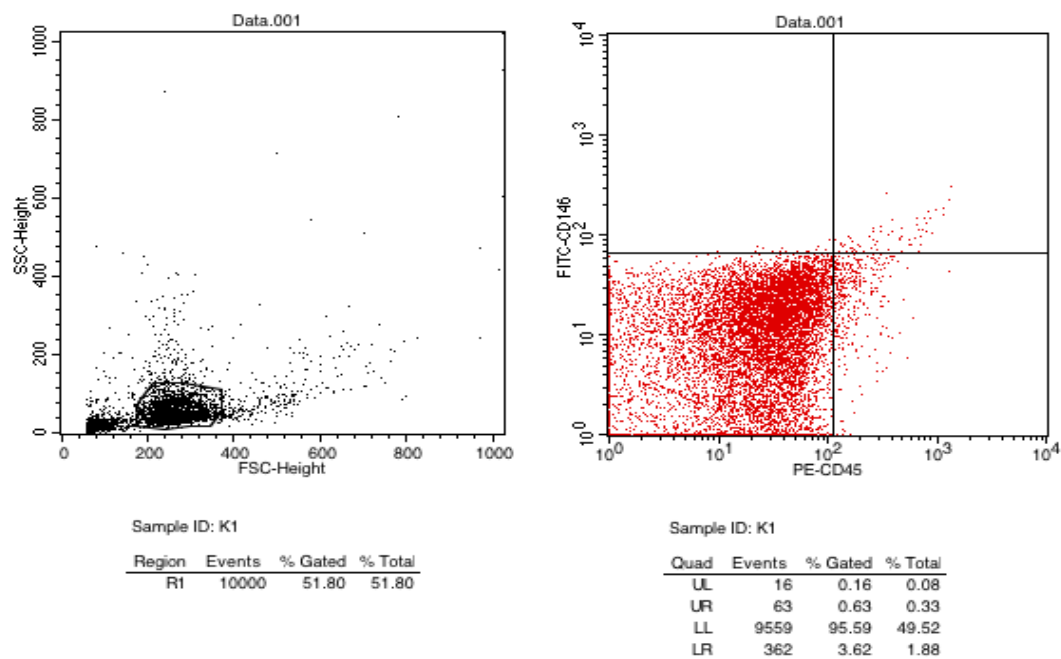
Pengaruh pemberian latihan teratur pada jumlah *Circulating Endothelial Cells*

Pemberian latihan teratur mempengaruhi jumlah *Circulating Endothelial Cells* (CEC), seperti yang ditunjukkan pada tabel.1. Tingkat *Circulating Endothelial Cells* menurun pada kelompok perlakuan latihan teratur dibandingkan dengan kelompok kontrol. Namun pemberian latihan teratur tidak secara signifikan ($p > 0,05$) menurunkan jumlah *Circulating Endothelial Cells* dibandingkan dengan kelompok kontrol.

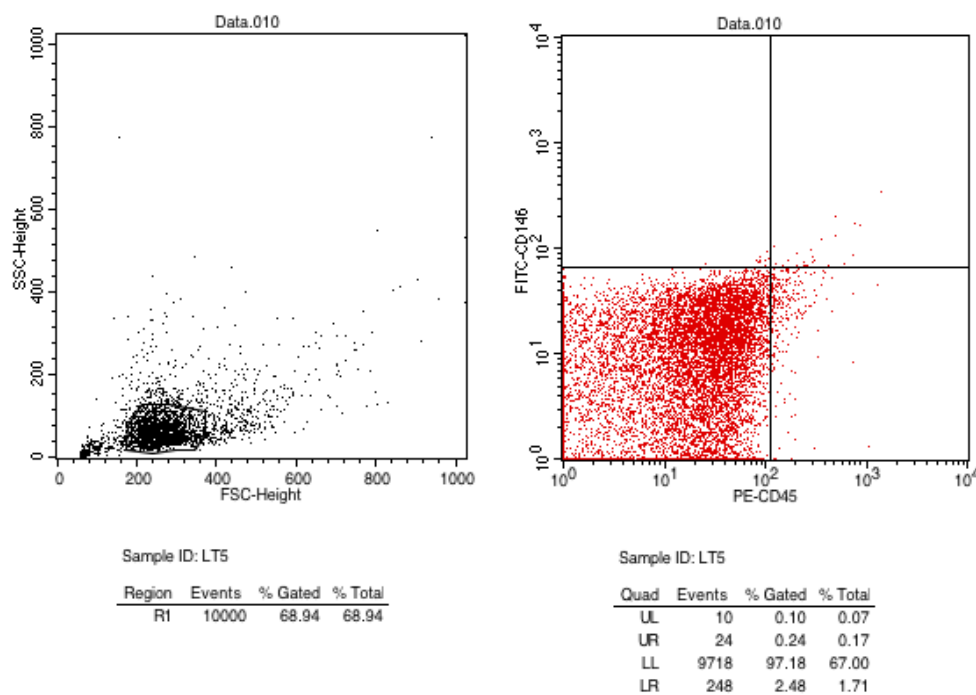
Tabel 1. Perbandingan kadar *Circulating Endothelial Cells* (%) diantara kelompok kontrol dan latihan teratur

Kelompok populasi	CEC (%)	
	Mean \pm SD	95% CI for mean
Kelompok kontrol	0.45 \pm 0.15	0.26 – 0.63
Kelompok latihan teratur	0.30 \pm 0.10	0.17 – 0.43
p=0.116*		

Keterangan : *Independent t-test



Gambar 1. *Flowcytometry* CEC menggunakan penanda CD45-FITC dan CD146-PE pada sampel kelompok kontrol



Gambar 2. *Flowcytometry* CEC menggunakan penanda CD45-FITC dan CD146-PE pada sampel kelompok latihan teratur

PEMBAHASAN

Circulating endothelial cells (CEC) adalah penanda noninvasif kerusakan vaskular dan penanda seluler langsung adanya kerusakan atau disfungsi endotel, sel endotel yang terlepas dari monolayer endotel. Dua teknik utama untuk menghitung jumlah CEC adalah dengan cara isolasi *flow cytometry* dan *immunomagnetic bead* (IB), dimana keduanya mengukur jumlah CEC secara akurat. (Goon et al., 2006). CEC sangat rendah jumlahnya pada subyek yang sehat, dan akan meningkat jumlahnya sebagai respons terhadap berbagai kondisi patologis, termasuk infark miokard akut (IMA), penyakit jantung koroner, penyakit menular, gangguan imunologi, dan penyakit kanker (Li et al., 2013). Sel endotel dapat diaktivasi oleh berbagai stimuli, seperti sitokin proinflamasi, *growth factors*, agen infeksius, lipoprotein atau stress oksidatif. Hilangnya integritas lapisan endotel yang ireversibel akhirnya menyebabkan pelepasan sel dari sel-sel apoptosis atau nekrotik (Erdbruegger et al., 2006).

Endotel vaskular memiliki peran yang luar biasa dalam mempertahankan homeostasis vaskular dan mengatur fungsi pembuluh darah. Endotelium adalah pengatur utama aliran darah melalui sifat vasodilatornya, dengan melepaskan *nitric oxide* (NO), prostasiklin (PGI₂) dan *endothelium-derived hyperpolarizing factor* (EDHF), sebagai respons terhadap berbagai zat kimia (misalnya, bradikinin, asetilkolin, serotonin), dan rangsangan fisik (*shear stress*). Selain itu endotelium normal juga berfungsi sebagai anti-platelet, anti koagulan, fibrinolitik, anti inflamasi dan antiproliferatif. Produksi dan pelepasan NO endotel memainkan peran utama dalam efek menguntungkan ini, khususnya dalam menjaga sifat anti trombogenik dari lapisan endotel (Krüger-Genge et al., 2019). Karena peran pentingnya terhadap homeostasis vaskular, dan hubungannya dengan faktor risiko berbagai penyakit maka menjaga sel endotel tetap normal adalah salah satu upaya yang perlu dilakukan. Olahraga merupakan salah satu aktivitas fisik yang terbukti dapat meningkatkan fungsi endotel. Di antara terapi non-farmakologis, latihan aerobik telah terbukti meningkatkan fungsi endotel pada pasien dengan *cardiovascular risk factors* (CVRFs) termasuk hipertensi dan diabetes, baik di arteri besar dan mikrosirkulasi. Latihan aerobik dapat memberikan efek yang menguntungkan dengan memodifikasi pola aliran pada tingkat titik cabang arteri, yang mengarah ke aliran yang kurang turbulen (Lanza et al., 2020). Hasil temuan sebelumnya, peningkatan fungsi endotel sebagian besar independen jenis program latihan. Latihan aerobik, termasuk berjalan di atas treadmill vs. sepeda, serta pelatihan terus menerus vs. interval. Latihan fisik berefek menguntungkan tergantung pada volume dan intensitas latihannya. (Norton & Sadgrove, 2009).

Temuan dari penelitian ini adalah pemberian latihan teratur dapat mempengaruhi jumlah *Circulating Endothelial Cells* (CEC), dimana jumlah CEC menurun setelah latihan aerobik teratur selama 12 minggu, namun penurunannya tidak signifikan ($p=0.116$) dibanding kelompok kontrol (tanpa perlakuan). Hasil temuan ini berbeda dengan hasil penelitian Sapp et al., tahun 2019, bahwa latihan *moderate intensity continuous* (MOD) dan *high-intensity interval* (HII), tidak ada efek pada jumlah dari CD146⁺/CD31⁺/CD45^{dim/-} CECs ($P > 0.05$). Hal ini kemungkinan disebabkan karena metode penelitian yang dilakukan berbeda seperti jenis partisipan, jenis dan lama intervensi latihannya. Pada penelitian Sapp

et al, menggunakan sampel manusia dengan intervensi latihan akut, sedangkan pada penelitian kami menggunakan sampel hewan coba dengan lama intervensi 12 minggu. Pada segera setelah latihan MOD dan HII akut, tidak ada perubahan nyata pada denudasi sel endotel, apoptosis, atau aktivasi, seperti yang ditunjukkan oleh kurangnya perubahan pada CD146+/CD31+/CD45dim/- CEC, CD31+/ Nomor 42b- EMV, atau CD62E+ EMV (Sapp et al., 2019).

Pada latihan teratur selama 12 minggu, terjadi penurunan jumlah CEC kemungkinan karena terjadi peningkatan sistem antioksidan seluler, penting dalam mengatur keseimbangan redoks (oksidasi/reduksi) untuk kesehatan sel. Semua sel mamalia dilengkapi dengan sistem kontrol untuk mengatur keseimbangan oksidasi/reduksi (redoks). Sel mengandung antioksidan enzimatis dan non-enzimatis yang bekerja sebagai jaringan pengatur kompleks untuk mengontrol kadar ROS. *Superoksida dismutase* (enzim yang diketahui mengkatalisis ROS), khususnya mangan superoksida dismutase (MnSOD) terutama ditemukan di mitokondria telah terbukti meningkat setelah berolahraga (Chacon & Fiani, 2020). Sistem pertahanan antioksidan lain seperti katalase, dan glutathione peroksidase, berperan penting menunda dan mencegah oksidasi biomolekul intraseluler dan ekstraseluler (Kawamura & Muraoka, 2018). Aktivitas fisik teratur bermanfaat meningkatkan kesehatan, olahraga teratur dengan intensitas ringan dan sedang tidak mengubah plasma 8-OHdG dan kadar serum MDA-LDL (indikator stress oksidatif), olahraga intensitas sedang memiliki kecenderungan untuk menurunkan parameter keduanya (Powers et al., 2020). Pada latihan intensitas sedang dapat menyebabkan laminar *shear stress*, yang akan menginduksi ekspresi gen anti koagulan dan anti inflamasi melalui aktivasi proses *transcription factors* (TFs), termasuk *Kruppel-like factor 2* (KLF2) dan *nuclear factor erythroid 2-like 2* (Nrf2), dan juga peningkatan regulasi enzim antioksidan *haem oxygenase 1* dan *endothelial nitric oxide synthase* (eNOS) (Whyte & Laughlin, 2010). Sel endotel yang mengekspresikan KLF2 menunjukkan sifat anti inflamasi, anti trombotik, anti migrasi, anti fibrotik dan anti oksidan, sehingga bersifat ateroprotektif (Agtmaal et al., 2012).

Sinyal-sinyal shear stress yang berasal dari latihan teratur akan ditransmisikan melalui sitoskeleton ke daerah intima pada permukaan basal endothelial. Hal tersebut menyebabkan integrin mengalami fosforilase dan mengaktifkan suatu kompleks tirosin kinase non-reseptor (FAK, c-Src, Shc, paxillin dan p130CAS), protein-protein adaptor dan *guanine nucleotide exchange factors* (Sos, C3G), sehingga terjadi aktivasi *Ras family GTPase*. Ras yang aktif akan mengaktifkan kaskade berbagai macam downstream pararel dari serine kinase dalam suatu fosforilasi '*chain reaction*' yang kemudian mengaktifasi MAPKs. Mekanisme molekular ini mengakibatkan *stress induced upregulation* gen yang memediasi efek anti aterogenik dengan cara meningkatkan sinyal-sinyal anti-apoptosis dan anti-proliferasi, melalui peningkatan bioavailibilitas NO pembuluh darah dan *remodeling* vaskular (Sarvasti dkk., 2011). Latihan fisik yang dilakukan secara teratur dapat memperbaiki struktur dan fungsi pembuluh darah, dan peningkatan kapasitas regenerasi endothelium dengan ditandai peningkatan jumlah sel-sel progenitor endotel di dalam sirkulasi (Ross, 2018).

KESIMPULAN

Latihan teratur dapat meningkatkan fungsi endotel dengan menurunkan jumlah *circulating endothelial cells* (CEC) sebagai tanda kerusakan atau disfungsi endotel. Dengan demikian, aktivitas fisik tertatur dapat digunakan sebagai salah satu pencegahan serta rehabilitasi penyakit jantung vaskular. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terhadap pengetahuan di bidang olahraga kesehatan.

DAFTAR PUSTAKA

- Aengevaeren, V. L., & Eijsvogels, T. M. H. (2020, August 1). Coronary atherosclerosis in middle-aged athletes: Current insights, burning questions, and future perspectives. *Clinical Cardiology*, Vol. 43, pp. 863–871. <https://doi.org/10.1002/clc.23340>
- Agtmaal, E. L. van, Bierings, R., Dragt, B. S., Leyen, T. A., Fernandez-Borja, M., Horrevoets, A. J. G., & Voorberg, J. (2012). The Shear Stress-Induced Transcription Factor KLF2 Affects Dynamics and Angiopoietin-2 Content of

- Weibel-Palade Bodies. *PLOS ONE*, 7(6), e38399.
<https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0038399>
- Benjamin, E. J., Virani, S. S., Callaway, C. W., Chamberlain, A. M., Chang, A. R., Cheng, S., ... Muntner, P. (2018). Heart disease and stroke statistics - 2018 update: A report from the American Heart Association. *Circulation*, 137(12), E67–E492.
<https://doi.org/10.1161/CIR.0000000000000558>
- Chacon, D., & Fiani, B. (2020). A Review of Mechanisms on the Beneficial Effect of Exercise on Atherosclerosis. *Cureus*, 12(11).
<https://doi.org/10.7759/cureus.11641>
- Erdbruegger, U., Haubitz, M., & Woywodt, A. (2006, November). Circulating endothelial cells: A novel marker of endothelial damage. *Clinica Chimica Acta*, Vol. 373, pp. 17–26. <https://doi.org/10.1016/j.cca.2006.05.016>
- Farinacci, M., Krahn, T., Dinh, W., Volk, H.-D., Dungen, H.-D., Wagner, J., ... von Ahsen, O. (2019). Circulating endothelial cells as biomarker for cardiovascular diseases. *Research and Practice in Thrombosis and Haemostasis*, 3(1), 49–58. <https://doi.org/10.1002/rth2.12158>
- Gimbrone, M. A., & García-Cardena, G. (2016). Endothelial Cell Dysfunction and the Pathobiology of Atherosclerosis. *Circulation Research*, 118(4), 620–636.
<https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.115.306301>
- Godo, S., & Shimokawa, H. (2017, September 1). Endothelial Functions. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology*, Vol. 37, pp. e108–e114.
<https://doi.org/10.1161/ATVBAHA.117.309813>
- Goon, P. K. Y., Boos, C. J., Stonelake, P. S., Blann, A. D., & Lip, G. Y. H. (2006). Detection and quantification of mature circulating endothelial cells using flow cytometry and immunomagnetic beads: A methodological comparison. *Thrombosis and Haemostasis*, 96(1), 45–52. <https://doi.org/10.1160/TH06-04-0185>
- Kawamura, T., & Muraoka, I. (2018). Exercise-induced oxidative stress and the effects of antioxidant intake from a physiological viewpoint. *Antioxidants*, Vol. 7. <https://doi.org/10.3390/antiox7090119>
- Krüger-Genge, A., Blocki, A., Franke, R.-P., & Jung, F. (2019). Vascular Endothelial Cell Biology: An Update. *International Journal of Molecular Sciences 2019*, Vol.

- 20, Page 4411, 20(18), 4411. <https://doi.org/10.3390/IJMS20184411>
- Lanza, G. A., Golino, M., Villano, A., Lanza, O., Lamendola, P., Fusco, A., & Leggio, M. (2020). Cardiac Rehabilitation and Endothelial Function. *Journal of Clinical Medicine*, 9(8), 2487. <https://doi.org/10.3390/jcm9082487>
- Li, C., Wu, Q., Liu, B., Yao, Y., Chen, Y., Zhang, H., ... Ge, S. (2013). Detection and Validation of Circulating Endothelial Cells, a Blood-based Diagnostic Marker of Acute Myocardial Infarction. *PLOS ONE*, 8(3), e58478. <https://doi.org/10.1371/JOURNAL.PONE.0058478>
- Norton, K., Norton, L., & Sadgrove, D. (2009). Position statement on physical activity and exercise intensity terminology. *Journal of Science and Medicine in Sport*, 13, 496–502. <https://doi.org/10.1016/j.jsams.2009.09.008>
- Pahwa, R., & Jialal, I. (2021). Atherosclerosis. *Medicine (Spain)*, 13(36), 2063–2070. Retrieved from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK507799/>
- Powers, S. K., Deminice, R., Ozdemir, M., Yoshihara, T., Bomkamp, M. P., & Hyatt, H. (2020). Exercise-induced oxidative stress: Friend or foe? *Journal of Sport and Health Science*, 9(5), 415–425. <https://doi.org/10.1016/j.jshs.2020.04.001>
- Press Release, World Heart Day PERKI 2019 - News & Event | Perhimpunan Dokter Spesialis Kardiovaskuler Indonesia (PERKI). (n.d.). Retrieved April 22, 2021, from http://www.inaheart.org/news_and_events/news/2019/9/26/press_release_world_heart_day_perki_2019
- Ross, M. D. (2018). Endothelial Regenerative Capacity and Aging: Influence of Diet, Exercise and Obesity. *Current Cardiology Reviews*, 14(4), 233–244. <https://doi.org/10.2174/1573403X14666180726112303>
- Sapp, R. M., Evans, W. S., Eagan, L. E., Chesney, C. A., Zietowski, E. M., Prior, S. J., ... Hagberg, J. M. (2019). The effects of moderate and high-intensity exercise on circulating markers of endothelial integrity and activation in young, healthy men. *Journal of Applied Physiology*, 127(5), 1245–1256. <https://doi.org/10.1152/jappphysiol.00477.2019>
- Souza, L. V., De Meneck, F., Oliveira, V., Higa, E. M., Akamine, E. H., & do Carmo Franco, M. (2019). Beneficial impact of moderate to vigorous physical activity program on circulating number and functional capacity of endothelial

progenitor cells in children: The crucial role of nitric oxide and VEGF-A. *Pediatric Exercise Science*, 31(3), 322–329.
<https://doi.org/10.1123/pes.2018-0178>

Whyte, J. J., & Laughlin, M. H. (2010). The effects of acute and chronic exercise on the vasculature. *Acta Physiologica (Oxford, England)*, 199(4), 441.
<https://doi.org/10.1111/J.1748-1716.2010.02127.X>

Wihastuti, T. A., Sargowo, D., Agoes, A., & Heriansyah, T. (n.d.). *Level of Circulating Endothelial Cells and Expression of Nuclear Factor Kappa Beta of Human's Peripheral Blood Mononuclear Cells in Subjects with Certain Conditions*