

# **Pelatihan Fisik Berlebih Menurunkan Jumlah *Hematopoietic Stem Cells* (HSCs) Dibandingkan Pelatihan Fisik Seimbang pada Tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar Jantan**

<sup>1</sup>Zenitalia, <sup>2</sup>Alex Pangkahila, <sup>2</sup>Wimpie Pangkahila, <sup>3</sup>Ferbian M. Siswanto

<sup>1</sup>Program Pascasarjana Anti-Aging Medicine Universitas Udayana Denpasar

<sup>2</sup>Departemen Andrologi dan Seksologi Fakultas Kedokteran Universitas Udayana Denpasar

<sup>3</sup>Department of Biomedical Chemistry, Kwansai Gakuin University, Sanda, Hyogo, Japan  
E-mail: nitapasongka@gmail.com

**Abstract:** This study was aimed to prove that balanced physical exercise increased mobilization of hematopoietic stem cells (HSCs) compared to excessive physical exercise in male Wistar rats (*Rattus norvegicus*). This was an experimental study with the randomized pretest-posttest control group design. Subjects were 24 male Wistar rats (*Rattus norvegicus*), 2.5-3 months old, weighing 180-200 g, healthy (active and did not show any anatomical abnormality), divided into two groups of 12 rats each. One group (P0) was treated with balanced physical exercise and the other group (P1) was treated with excessive physical exercise. Before (pretest) and 4 weeks after treatment (posttest), peripheral blood of 1 ml was drawn through medial canthus sinus orbitalis for examination of HSCs number in peripheral blood quantitatively. The results showed that the number of HSCs in the P0 group was increased from  $1.60 \pm 0.70 \times 10^6$  cell/ $\mu$ l before treatment to  $2.70 \pm 0.62 \times 10^6$  cells/ $\mu$ l after 4-week treatment ( $P < 0.05$ ). Meanwhile, in the P1 group, the number of HSCs was decreased from  $1.74 \pm 0.68 \times 10^6$  cells/ $\mu$ l before treatment to  $1.34 \pm 0.55 \times 10^6$  cells/ $\mu$ l after 4-week treatment ( $P < 0.05$ ). **Conclusion:** Excessive physical exercise decreased number of hematopoietic stem cells (HSCs) compared to balanced physical exercise in male Wistar rats (*Rattus norvegicus*).

**Keywords:** balanced physical exercise, excessive physical exercise, hematopoietic stem cells (HSCs)

**Abstrak:** Tujuan penelitian ini ialah untuk membuktikan bahwa pelatihan fisik berlebih menurunkan jumlah *hematopoietic stem cells* (HSCs) dibandingkan pelatihan fisik seimbang pada tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar jantan. Jenis penelitian ini ialah eksperimental dengan *randomized pre-post test control group design*. Subyek penelitian ialah 24 ekor tikus Wistar (*Rattus norvegicus*) jantan, umur 2,5-3 bulan, berat badan 180-200 gr, sehat (aktif dan tidak menunjukkan abnormalitas anatomi) yang dibagi menjadi dua kelompok yaitu P0 dan P1, masing-masing berjumlah 12 ekor. Kelompok P0 diberikan pelatihan seimbang dan kelompok P1 diberi pelatihan fisik berlebih. Sebelum (*pretest*) dan 4 minggu setelah perlakuan (*posttest*), darah diambil sebanyak 1 ml melalui *medial canthus sinus orbitalis* untuk pemeriksaan kadar HSCs darah tepi secara kuantitatif. Hasil penelitian menunjukkan bahwa pada kelompok P0 terjadi peningkatan jumlah HSCs dari  $1,60 \pm 0,70 \times 10^6$  sel/ $\mu$ l *pretest* menjadi  $2,70 \pm 0,62 \times 10^6$  sel/ $\mu$ l *posttest* ( $P < 0,05$ ). Pada kelompok P1 terjadi penurunan jumlah HSCs dari  $1,74 \pm 0,68 \times 10^6$  sel/ $\mu$ l *pretest* menjadi  $1,34 \pm 0,55 \times 10^6$  sel/ $\mu$ l *posttest* ( $P < 0,05$ ). **Simpulan:** Pelatihan fisik berlebih menurunkan jumlah *hematopoietic stem cells* (HSCs) dibandingkan pelatihan fisik seimbang pada tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar jantan.

**Kata kunci:** pelatihan fisik seimbang, pelatihan fisik berlebih, *hematopoietic stem cells* (HSCs)

Kebugaran fisik dapat tercapai bila dilakukan pelatihan fisik yang aktif dan seimbang. Aktivitas fisik dan olahraga merupakan salah satu faktor dari pola hidup yang amat penting. Kualitas dan kuantitas aktivitas fisik yang dilakukan seseorang amat menentukan terjadinya proses penuaan dan kematian. Penelitian menunjukkan bahwa olahraga teratur akan menurunkan risiko kematian tiga kali lebih rendah dibandingkan yang tidak melakukan olahraga.<sup>1</sup> Sebaliknya, olahraga yang dilakukan berlebihan akan berdampak buruk.<sup>2</sup>

Dewasa ini banyak diperbincangkan mengenai manfaat dan peran sel punca (*stem cell*) sebagai agen terapi pada penyakit degeneratif dan mencegah proses penuaan. Terapi penyakit degeneratif dengan menggunakan sel punca umumnya dilakukan dengan cara injeksi sel punca eksogen, baik yang bersifat *autograft* maupun *allograft* dengan terlebih dahulu dikultur secara *in vitro*. Belakangan ini telah banyak penelitian mengenai dampak olahraga dan pelatihan fisik terhadap aktivitas *endogenous stem cell*.<sup>3</sup>

Penelitian telah membuktikan bahwa pelatihan fisik dapat meningkatkan aktivitas dan mobilisasi sel punca endogen, seperti sel bermarka CD34<sup>+</sup> pada darah tepi,<sup>4</sup> *haematopoietic stem cell* (HSCs),<sup>5</sup> *satelite cell* (*muscle stem cell*) dan *mesenchymal stem cell* pada otot,<sup>6</sup> *mesenchymal stem cell* pada darah tepi,<sup>7</sup> dan *endogenous neural stem cell*.<sup>8</sup>

Fakta di lapangan menunjukkan bahwa hingga saat ini banyak sekali pelatihan fisik berlebih yang justru akan memperburuk kesehatan. Estimasi angka kejadian *overtraining* ialah 7-20% dari jumlah atlet yang melakukan pelatihan.<sup>9</sup> Peneliti lain memperkirakan bahwa 10-20% dari semua atlet yang terlibat dengan program pelatihan olahraga intensif mengalami *overtraining syndrome*.<sup>10</sup> Lebih dari dua per tiga atlet lari pernah mengalami gejala dan tanda-tanda *overtraining syndrome*, dimana angka risiko tertinggi terdapat pada atlet lari, balap sepeda, dan renang. Dilaporkan bahwa 6% pelari jarak jauh, 21% perenang dan lebih dari 50% pemain sepak bola Australia telah

mengalami *overtraining*.<sup>11</sup> Hasil penelitian lain menyebutkan bahwa 70% dari atlet daya tahan tingkat tinggi telah *overtraining* selama karir mereka.<sup>12</sup> *Overtraining syndrome* sering terjadi pada individu yang memiliki motivasi tinggi dan *goal-oriented*, juga pada atlet yang merancang pelatihan fisiknya sendiri tanpa berkonsultasi dengan ahlinya. Risiko dari *overtraining syndrome* antara lain performa buruk berkepanjangan, trauma, penyakit, dan pensiun dini.<sup>13</sup>

Telah banyak dilakukan penelitian bahwa pelatihan fisik berlebih mempercepat terjadinya penuaan melalui peningkatan radikal bebas dan ketidakseimbangan kadar hormon. Pelatihan fisik berlebih dapat memberikan beban yang berat terutama pada sistem homeostasis yang diatur oleh sistem endokrin dan susunan saraf, yang dapat menyebabkan masalah kesehatan.<sup>14,15</sup> Hal ini disebabkan oleh terbentuknya asam laktat dan radikal bebas, karena latihan merupakan *stressor* bagi tubuh yang dapat memengaruhi semua sistem. Terbentuknya asam laktat merupakan akibat aktivitas latihan dengan intensitas tinggi dan latihan dalam waktu yang lama (*prolonged exercise*). Radikal bebas terbentuk karena terjadi peroksidasi (auto-oksidasi) lemak yang ditandai dengan terbentuknya *reactive oxygen spesies* (ROS).<sup>16</sup>

Pelatihan fisik seimbang dapat meningkatkan jumlah *hematopoietic stem cells* (HSCs), tetapi belum ada penelitian yang mengungkapkan mekanisme terjadinya hal ini. Kemungkinan peningkatan jumlah HSCs disebabkan oleh peningkatan sitokin, *growth factor*, dan sistem imun. Diperlukan penelitian lebih lanjut untuk mengetahui mekanisme peningkatan jumlah HSCs tersebut.<sup>4</sup>

## METODE PENELITIAN

Jenis penelitian ini ialah eksperimental, dengan *randomized pre-post test control group design*. Subjek penelitian ialah tikus strain Wistar yang berumur 2,5-3 bulan dengan berat badan 180-200 gram, dan sehat (aktif dan tidak menunjukkan abnormalitas anatomi). Jumlah subyek

penelitian ialah 12 ekor per kelompok.<sup>17</sup>

Semua tikus diadaptasikan terlebih dahulu selama 7 hari sebelum diberi perlakuan, kemudian dibagi atas dua kelompok yaitu kelompok P0 yang diberi pelatihan fisik seimbang (renang selama ±45 menit yang dilakukan 3 kali seminggu selama 4 minggu) dan kelompok P1 yang diberi pelatihan fisik berlebih (renang selama 60 menit setiap hari selama 4 minggu). Selama periode perlakuan tikus diberi makanan standar secara *ad libitum* sebanyak 15 gr/hari. Sebelum (*pretest*) dan setelah 4 minggu perlakuan (*posttest*), semua tikus diambil serum darahnya sebanyak 1 ml melalui *medial canthus sinus orbitalis*, dengan sebelumnya dilakukan anestesi ketamine 10% (dosis 50 mg/kgBB) dan zylazine 2% (dosis 20mg/kgBB) disuntikkan intramuskular pada bagian paha tikus. Darah yang diambil

diperiksa jumlah HSCs. Pengukuran CD34<sup>+</sup> dilakukan dengan menggunakan alat *flow cytometry*, dengan analisis menggunakan *platform* tunggal sesuai panduan *International Society of Hematotherapy and Graft Engineering* (ISHAGE).

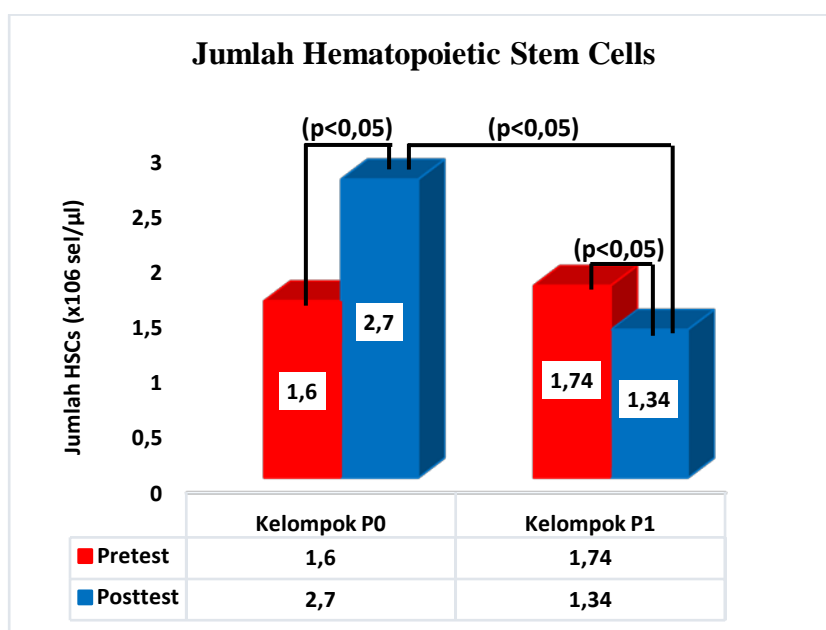
### HASIL PENELITIAN

Hasil penelitian menunjukkan rerata jumlah HSCs sebelum perlakuan (*pretest*) pada kelompok P0 ialah  $1,60 \pm 0,70 \times 10^6$  sel/ $\mu$ l dan pada kelompok P1 ialah  $1,74 \pm 0,68 \times 10^6$  sel/ $\mu$ l ( $P > 0,05$ ). Setelah perlakuan selama 4 minggu, jumlah HSCs pada kelompok P0 yang diberikan pelatihan fisik seimbang ialah  $2,70 \pm 0,62 \times 10^6$  sel/ $\mu$ l sedangkan pada kelompok P1 yang diberikan perlakuan pelatihan fisik berlebih ialah  $1,34 \pm 0,55 \times 10^6$  sel/ $\mu$ l ( $P < 0,05$ ) (Tabel 1, Gambar 1)).

**Tabel 1.** Analisis komparasi antar perlakuan

Kelompok	n	Rerata ( $\times 10^6$ sel/ $\mu$ l)	SB	t	p
Kelompok P0 <i>pretest</i>	12	1,60	0,70		
Kelompok P1 <i>pretest</i>	12	1,74	0,68	-0,502	0,621
Kelompok P0 <i>posttest</i>	12	2,70	0,62		
Kelompok P1 <i>posttest</i>	12	1,34	0,55	5,703	0,000

SB = Simpangan baku; t = t-test; P = signifikansi



**Gambar 1.** Perbandingan jumlah HSCs antar kelompok

Analisis efek perlakuan pada kelompok P0 dan kelompok P1 diuji berdasarkan rerata jumlah HSCs masing-masing kelompok sebelum diberikan perlakuan (*pretest*) dan sesudah diberikan perlakuan selama 4 minggu (*post-test*) menunjukkan bahwa pada kelompok P0 terjadi peningkatan jumlah HSCs dari

$1,60 \pm 0,70 \times 10^6$  sel/ $\mu$ l *pretest* menjadi  $2,70 \pm 0,62 \times 10^6$  sel/ $\mu$ l *posttest* ( $P < 0,05$ ). Namun sebaliknya pada kelompok P1 terjadi penurunan jumlah HSCs dari  $1,74 \pm 0,68 \times 10^6$  sel/ $\mu$ l *pretest* menjadi  $1,34 \pm 0,55 \times 10^6$  sel/ $\mu$ l *posttest* ( $P < 0,05$ ) (Tabel 2, Gambar 1)).

**Tabel 2.** Rerata nilai variabel masing-masing kelompok sebelum dan sesudah perlakuan

Kelompok	Rerata <i>pretest</i>	Rerata <i>posttest</i>	t	P
Kelompok P0	1,60 $\pm$ 0,70	2,70 $\pm$ 0,62	-3,874	0,003
Kelompok P1	1,74 $\pm$ 0,68	1,34 $\pm$ 0,55	2,227	0,048

t = t hitung; P = signifikansi

## BAHASAN

### Pelatihan fisik seimbang meningkatkan jumlah HSCs

Kebugaran fisik seseorang merupakan salah satu faktor yang sangat menentukan tingkat kesehatannya. Kebugaran fisik sangat berkaitan dengan *anti aging* dan dapat dicapai dengan aktivitas fisik yang baik. Suatu aktivitas fisik yang kurang maupun kelebihan akan menyebabkan pengeluaran hormon yang tidak seimbang sehingga ketidakseimbangan inilah yang akan menyebabkan seseorang mengalami kerusakan sel.<sup>18</sup>

Hasil penelitian ini membuktikan bahwa pada kelompok P0 yang diberikan pelatihan fisik seimbang terjadi peningkatan jumlah HSCs dari  $1,60 \pm 0,70 \times 10^6$  sel/ $\mu$ l sebelum perlakuan menjadi  $2,70 \pm 0,62 \times 10^6$  sel/ $\mu$ l setelah perlakuan selama 4 minggu ( $P < 0,05$ ). Hal ini disebabkan karena pelatihan fisik seimbang dapat merangsang peningkatan jumlah HSCs dari tempat HSCs tersebut diproduksi yaitu sumsum tulang kemudian menuju peredaran darah tepi.

Hasil penelitian ini didukung oleh penelitian yang telah dilakukan sebelumnya. Pelatihan fisik dapat meningkatkan sirkulasi sel progenitor sumsum tulang seperti sel bermarga CD34<sup>+</sup> pada darah tepi.<sup>4</sup> Pelatihan fisik secara teratur dapat meningkatkan kadar HSCs dan memperbaiki kondisi jantung pada penderita infark

miokardium akut.<sup>5</sup> Pelatihan beban dengan kontraksi otot maksimal mampu meningkatkan aktivitas *satellite cell* (*muscle stem cell*) dan *mesenchymal stem cell* pada otot.<sup>6</sup> Selain itu, penelitian yang dilakukan pada 14 orang wanita penderita osteoporosis pasca menopause menunjukkan bahwa latihan jalan kecepatan sedang selama 30 menit, 3x/minggu, selama 3 minggu dapat meningkatkan mobilisasi *hematopoietic* dan *mesenchymal stem cells* pada darah tepi dan meningkatkan indeks osteogenik.<sup>7</sup> Latihan *treadmill* selama 15 menit, 6 kali per minggu selama 3 minggu yang dikombinasikan dengan injeksi melatonin dapat meningkatkan aktifitas *endogenous neural stem cell* pada penderita *spinal cord injury* dan meningkatkan fungsi alat gerak bawah pada hari ke-21.<sup>8</sup> Hingga saat ini mekanisme peningkatan jumlah sel punca akibat pelatihan fisik seimbang belum jelas, namun beberapa penelitian di atas mendukung bahwa pelatihan fisik seimbang meningkatkan jumlah sel punca.<sup>19</sup>

Telah banyak spekulasi mengenai efek yang ditimbulkan pelatihan fisik terhadap mobilisasi sel punca melalui regulasi *growth factors* dan sitokin.<sup>20</sup> Secara teoritis interleukin-6 (IL-6) terlibat dalam HSCs *self-renewal*,<sup>21</sup> dan *granulocyte-colony-stimulating factor* (G-CSF) merupakan faktor utama yang menyebabkan peningkatan kadar HSCs.<sup>22</sup> Penelitian yang dilakukan oleh Bonsignore et al.<sup>19</sup> melapor-

kan bahwa selama pelatihan fisik seimbang terjadi penurunan kadar IL-6 dan G-CSF yang disertai dengan peningkatan kadar HSCs namun mekanisme yang menyebabkan peningkatan jumlah HSCs setelah pelatihan fisik belum dapat dipastikan.

Bila dicermati dari segi endokrinologi, pelatihan fisik seimbang dapat meningkatkan sekresi hormon-hormon yang berkaitan dengan *anti-aging* seperti *growth hormone*, *thyroid hormone*, testosteron, dan estradiol.<sup>23,24</sup> Penelitian membuktikan bahwa tikus transgenik yang memiliki mutasi pada gen *growth hormone* menunjukkan penurunan yang sangat bermakna dari jumlah HSCs yang bersirkulasi dalam darah tepi.<sup>25</sup> Didukung hasil penelitian Kuwa *et al.*<sup>26</sup> bahwa pemberian *growth hormone replacement therapy* pada anak dengan GH defisiensi menunjukkan peningkatan HSCs dalam darah tepi. Penelitian lebih lanjut menunjukkan bahwa pada HSCs terdapat reseptor GH yang mengatur aktivitas mobilisasinya dari sumsum tulang ke darah tepi.<sup>27</sup>

Selain GH, *thyroid hormone* juga dapat memengaruhi aktivitas dan mobilisasi sel punca. Penelitian membuktikan bahwa terjadi peningkatan populasi HSCs 72 jam setelah pemberian terapi triiodotironin (T3) dengan konsentrasi 3,7 pg/mL.<sup>26</sup> Di sisi lain, hormon testosteron juga diketahui memiliki efek stimulasi pada aktivitas fungsional HSCs, meningkatkan proliferasi dan mobilisasinya dengan melibatkan transkripsi gen homeobox (HOXA9, HOXB2, HOXB4, HOXC4 dan BMI-1.<sup>28</sup> Estradiol juga memiliki aktivitas yang sama dengan testosteron dalam meningkatkan aktivitas HSCs yaitu dengan meningkatkan aktivitas telomerase melalui induksi ekspresi gen TERT sehingga masa hidup HSCs lebih panjang.<sup>29</sup>

Sel punca hematopoietik memiliki molekul yang khas pada permukaan selnya, yaitu molekul glikoprotein CD34<sup>+</sup>. Molekul ini merupakan penanda keberadaan sel punca dan menjadi sarana untuk menghitung jumlah sel punca hematopoietik yang berhasil diperoleh dari berbagai sumber baik dari sumsum tulang, darah tepi, dan

darah tali pusat. Perhitungan sel punca CD34<sup>+</sup> yang akurat diperlukan untuk menghitung dosis yang dibutuhkan saat transplantasi sel punca. Dalam kaitannya dengan aplikasi sel punca eksogen, penghitungan jumlah HSCs sangat berperan penting untuk menentukan kesuksesan transplantasi HSCs tersebut. Namun dengan hasil penelitian ini, pelatihan fisik yang seimbang dapat dijadikan salah satu terapi penyakit degeneratif dan sebagai upaya mencegah terjadinya penuaan secara alamiah tanpa intervensi injeksi sel punca secara eksogen.

### **Pelatihan fisik berlebih menurunkan mobilisasi HSCs**

Pelatihan fisik seimbang telah banyak terbukti dapat mencegah penuaan,<sup>18</sup> namun sebaliknya pelatihan fisik yang berlebih berdampak buruk bagi kesehatan. Hal ini terjadi karena pada pelatihan fisik berlebih terjadi peningkatan konsumsi oksigen dan produksi radikal bebas yaitu *reactive oxygen species* (ROS). Peningkatan radikal bebas memicu stres oksidatif di dalam tubuh yang dapat menyebabkan kerusakan berbagai sel dan jaringan, termasuk HSCs. Saat ini telah banyak penelitian terpisah yang membuktikan bahwa kerusakan sel akibat stres oksidatif dimediasi oleh peristiwa apoptosis.<sup>30</sup>

Hasil penelitian ini juga selaras dengan penelitian sebelumnya yang melaporkan bahwa pelatihan fisik menginduksi stres oksidatif dan mengakibatkan apoptosis pada berbagai organ dan jaringan dalam tubuh.<sup>31</sup> Stres oksidatif terbukti dapat menyebabkan apoptosis pada hepatosit.<sup>30</sup> Qiguan dan Ronghua<sup>32</sup> membuktikan bahwa pelatihan fisik berlebih yang menginduksi stres oksidatif ditandai dengan meningkatnya kadar malondialdehid (MDA) dapat menyebabkan apoptosis pada sel otot jantung tikus melalui penurunan kadar Bcl-2 dan peningkatan ekspresi protein Fas. Selain itu *overtraining* juga telah terbukti dapat mengakibatkan kerusakan DNA pada sel-sel darah khususnya leukosit<sup>33</sup> dan sel otot rangka yang menginduksi terjadinya apoptosis.<sup>34</sup>

Teori-teori tersebut di atas mendukung hasil penelitian ini. Pelatihan fisik seimbang dapat meningkatkan jumlah HSCs, sebaliknya, pelatihan fisik berlebih menginduksi penurunan jumlah HSCs pada peredaran darah tepi. Pada kelompok P1 yang diberikan pelatihan fisik berlebih terjadi penurunan jumlah HSCs dari  $1,74 \pm 0,68 \times 10^6$  sel/ $\mu$ l sebelum perlakuan menjadi  $1,34 \pm 0,55 \times 10^6$  sel/ $\mu$ l setelah perlakuan selama 4 minggu ( $P < 0,05$ ). Penurunan jumlah HSCs pada peredaran darah tepi ini kemungkinan besar disebabkan oleh apoptosis.

Mekanisme apoptosis yang diakibatkan oleh pelatihan fisik berlebih telah banyak diteliti. Penelitian menunjukkan bahwa stres oksidatif dapat meningkatkan rasio protein Bax terhadap Bcl2 dan rasio protein Bax terhadap kaspase 3 yang akan menginduksi terjadinya apoptosis.<sup>35</sup>

Hasil penelitian lain menunjukkan bahwa stres oksidatif dapat menginduksi apoptosis yang telah diberikan *pre-treatment* berupa inhibitor kaspase 3 dan inhibitor pan-kaspase. Hal ini mengindikasikan bahwa stress oksidatif memicu apoptosis melalui jalur yang independen terhadap kaspase namun bergantung pada kadar fluktuasi kadar protein Bax.<sup>30</sup> Wu dan Huang<sup>36</sup> membuktikan bahwa apoptosis sel-sel ginjal yang diakibatkan oleh pelatihan fisik berlebih, sebagian melibatkan jalur sinyal inflamasi ditandai dengan meningkatnya kadar TNF- $\alpha$  dan NF $\kappa$ B.

Selain itu, stres oksidatif juga memicu penurunan kadar antioksidan endogen seperti glutation (GSH), superoksid dismutase (SOD), dan katalase. Penelitian menunjukkan bahwa penurunan kadar GSH yang disebabkan oleh stres oksidatif merupakan salah satu penyebab terjadinya apoptosis melalui aktivasi efektor apoptosis.<sup>37</sup> Ishihara<sup>30</sup> menjelaskan bahwa pada peristiwa apoptosis yang diinduksi stres oksidatif, mitokondria merupakan target utama kerusakan yang diakibatkan oleh ROS. Kerusakan pada *mitochondrial permeability transition* (MPT) dapat menyebabkan kebocoran mitokondria dan efektor apoptosis seperti sitokrom C dalam

yang keluar ke sitoplasma dan menginduksi apoptosis akut. Selain itu, ROS dapat mengaktivasi transkripsi dari protein-protein yang terlibat dalam meningkatkan apoptosis dan menghambat *cell survival* seperti *nuclear factor kappa-B* (NF- $\kappa$ B), *activator protein-1* (AP-1) dan p53.<sup>36,38,39</sup>

## SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa pelatihan fisik berlebih menurunkan jumlah *hematopoietic stem cells* (HSCs) dibandingkan pelatihan fisik seimbang pada tikus (*Rattus norvegicus*) Wistar jantan.

## DAFTAR PUSTAKA

- Nedley N.** Jauh dari penyebab utama kematian. In: De Rosse D, editor (1998). Riset Menakutkan. Bandung: Indonesia Publishing House, 2009; p.485-518.
- Maron BJ.** Sudden death in young athletes. *N Engl J Med.* 2003;349:1046-75.
- Miller FD, Kaplan DR.** Mobilizing endogenous stem cell for repair and regeneration: Are we there yet? *Cell Stem Cell.* 2012;10(6):650-2.
- Morici G, Zangla D, Santoro A, Pelosi E, Petrucci E, Gioia M, et al.** Supramaximal exercise mobilizes hematopoietic progenitors and reticulocytes in athletes. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2005;289(5):R1496-503.
- Brehm M, Picard F, Ebner P, Turan G, Bolke E, Kosterling M, et al.** 2009. Effect of exercise training on mobilization and functional activity of blood-derived progenitor cells in patients with acute myocardial infarction. *Eur J Med Res.* 2009;14:393-405.
- Valero MC, Huntsman HD, Liu J, Zou K, Boppard MD.** Eccentric exercise facilitates mesenchymal stem cell appearance in skeletal muscle. *PLoS ONE.* 2012;7(1):e29760.
- Tinduh D, Roeshadi D, Harjanto JM.** Pengaruh latihan jalan kecepatan sedang terhadap mobilisasi, diferensiasi dan maturasi stem cell pada PBMC, serta remodeling tulang perempuan pasca menopause. *JBP.* 2012;14(3):123-32.
- Lee Y, Lee S, Lee SR, Park K, Hong Y, Lee**

- M, et al.** Beneficial effects of melatonin combined with exercise on endogenous neural stem/progenitor cell proliferation after spinal cord injury. *Int J Mol Sci.* 2014;15:2207-22.
9. **Mackinnon LT.** Chronic exercise training effects on immune function. *Med Sci Sports Exerc.* 2000;32(7suppl):S369-S376
10. **Hackney AC, Battaglini C.** The overtraining syndrome: neuroendocrine imbalances in athletes. *BrJB.* 2007;1(2):34-44.
11. **Smith LL.** Cytokine hypothesis of overtraining: a physiological adaptation to excessive stress? *Med Sci Sports Exerc.* 2000;32(2):317-31.
12. **Birrer D, Lienhard D, Williams CA, Rothlin P, Morgan G.** Prevalence of non-functional overreaching and the overtraining syndrome in Swiss elite athletes. *Schweizerische Zeitschrift für Sportmedizin und Sporttraumatologie.* 2013;61(4):23-9.
13. **Lewis NA, Collins D, Pedlar CR, Rogers JP.** Can clinicians and scientists explain and prevent unexplained under-performance in elite athletes: an interdisciplinary perspective and 2016 update. *BMJ Open Sport Exerc Med.* 2015;1(1):e000063.
14. **Mastaloudis A, Morrow JD, Hopkins DW, Devaraj S, Traber MG.** Antioxidant supplementation prevents exercise induced lipid peroxidation, but not inflammation, in ultramarathon runners. *Free Radical Biology and Medicine.* 2004;36(10):1329-1341.
15. **Scharhag J, Herrmann M, Urhausen A, Haschke M, Herrmann W, Kindermann W.** Independent elevations of N-terminal pro-brain natriuretic peptide and cardiac troponins in endurance athletes after prolonged strenuous exercise. *Am Heart J.* 2005;150(6):1128-34.
16. **Wilmore JH, Costill DL.** *Physiology of Sport and Exercise* (3rd ed). Champaign III: Human Kinetics, 2004.
17. **Pocock SJ.** *Clinical Trial: A Practical Approach.* New York: Willey Medical Publication, 2008; p. 128.
18. **Pangkahila JA.** Manfaat Pelatihan Fisik untuk Fungsi Hormon. National Symposium and Workshop on Anti-Aging Medicine. Denpasar, 2011.
19. **Bonsignore MR, Morici G, Santoro A, Pagano M, Cascio L, Bonanno A, et al.** Circulating hematopoietic progenitor cells in runners. *J Appl Physiol.* 2002;93:1691-7.
20. **De Lisio M, Parise G.** Characterization of the effects of exercise training on hematopoietic stem cell quantity and function. *J Appl Physiol.* 2012;113(10):1576-84.
21. **Gammaitoni L, Bruno S, Sanavio F, Gunetti M, Kollet O, Cavalloni G, et al.** Ex vivo expansion of human adult stem cells capable of primary and secondary hemopoietic reconstitution. *Exp Hematol.* 2003;31(3):261-70.
22. **Hoggatt J, Pelus LM.** Hematopoietic stem cell mobilization with agents other than G-CSF. *Methods Mol Biol.* 2012;904:49-67.
23. **Copeland JL, Consitt LA, Tremblay MS.** Hormonal responses to endurance and resistance exercise in females aged 19-69 years. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2012;57(4):B158-B165.
24. **Ignacio DL, Silvestre DH, Cavalcanti-de-Albuquerque JPA, Louzada RA, Carvalho DP, Werneck-de-Castro JP.** Thyroid hormone and estrogen regulate exercise-induced growth hormone release. *PLoS ONE.* 2015;10(4):e0122556.
25. **Kucia M, Masternak M, Liu R, Shin, DM, Ratajczak J, Mierzejewska K, et al.** The negative effect of prolonged somatotrophic/insulin signaling on an adult bone marrow-residing population of pluripotent very small embryonic-like stem cells (VSELs). *Age.* 2013;35(2):315-30.
26. **Kawa MP, Stecewicz I, Piecyk K, Pius-Sadowska E, Paczkowska E, Rogińska D, et al.** Effects of growth hormone therapeutic supplementation on hematopoietic stem/progenitor cells in children with growth hormone deficiency: focus on proliferation and differentiation capabilities. *Endocrine.* 2015;50(1):162-75.
27. **Stewart MH, Gutierrez-Martinez P, Beerman I, Garrison B, Gallagher EJ, LeRoith D, et al.** Growth hormone receptor signaling is dispensable for HSC function and aging. *Blood.* 2014;124(20):3076-3080.

28. Zhou L, Zhang X, Zhou P, Li X, Xu X, Shi, Q, et al. Effect of testosterone and hypoxia on the expansion of umbilical cord blood CD34+ cells in vitro. *Exp Ther Med.* 2017;14(5):4467-75.
29. Calado RT, Yewdell WT, Wilkerson KL. Sex hormones, acting on the TERT gene, increase telomerase activity in human primary hematopoietic cells. *Blood.* 2009;114(11):2236-43.
30. Ishihara Y. Mechanism of hepatocyte apoptosis under sustained endogenous oxidative stress [Doctor Thesis]. Osaka: Osaka University; 2006.
31. Phaneuf S, Leeuwenburgh C. Apoptosis and exercise. *Med Sci Sports Exerc.* 2001;33(3):393-6.
32. Qiguan J, Ronghua D. The effects of overtraining on apoptosis of cardiac muscle cells in rats. *Chinese J Sport Med.* 2000-044. Available from: [http://en.cnki.com.cn/Article\\_en/CJFDTotal-YDYX200004007.htm](http://en.cnki.com.cn/Article_en/CJFDTotal-YDYX200004007.htm)
33. Krüger K, Mooren FC. Exercise-induced leukocyte apoptosis. *Exerc Immunol Rev.* 2014;20:117-34.
34. Pereira BC, Pauli JR, Antunes LM, de Freitas EC, de Almeida MR, de Paula Venâncio V, et al. Overtraining is associated with DNA damage in blood and skeletal muscle cells of Swiss mice. *BMC Physiol.* 2013;13:11.
35. Wu G, Huang X, Zhang L. Overtraining induces renal tubular cells apoptosis through activating caspase-related signal pathway by impairing the balance of Bax and Bcl-2 in exhaustive swimming rats. *Chinese J Nephrol.* 2011;27(2):118-23.
36. Wu G, Huang X. Overtraining induces renal cell apoptosis partly through inflammatory signal pathway in exhaustive swimming rats. *Chinese J Nephrol.* 2009;25(2):139-44.
37. Franco R, Cidlowski JA. Apoptosis and glutathione: beyond an antioxidant. *Cell Death Differ.* 2009;16(10):1303-14.
38. Morgan MJ, Liu Z. Crosstalk of reactive oxygen species and NF- $\kappa$ B signaling. *Cell Res.* 2011;21(1):103-15.
39. Mashayekhi V, Eskandari MR, Kobarfard F, Khajeamiri A, Hosseini MJ. Induction of mitochondrial permeability transition (MPT) pore opening and ROS formation as a mechanism for methamphetamine-induced mitochondrial toxicity. *Naunyn Schmiedebergs Arch Pharmacol.* 2014;387(1):47-58.