

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN
PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urb.) TERHADAP
KADAR *NITRIC OXIDE* PADA (*Human Umbilical Vein
Endothelial Cells*) HUVECs YANG DIINDUKSI
ANGIOTENSIN II**

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh

Muhammad Nauval Daffa Salsabil

22001101059

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM MALANG
2024**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN
PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urb.) TERHADAP
KADAR *NITRIC OXIDE* PADA (*Human Umbilical Vein
Endothelial Cells*) HUVECs YANG DIINDUKSI
ANGIOTENSIN II**

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh

Muhammad Nauval Daffa Salsabil

22001101059

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM MALANG
2024**

**PENGARUH PEMBERIAN EKSTRAK DAUN
PEGAGAN (*Centella asiatica* (L.) Urb.) TERHADAP
KADAR *NITRIC OXIDE* PADA (*Human Umbilical Vein
Endothelial Cells*) HUVECs YANG DIINDUKSI
ANGIOTENSIN II**

SKRIPSI

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Sarjana Kedokteran**



Oleh

Muhammad Nauval Daffa Salsabil

22001101059

**PROGRAM STUDI KEDOKTERAN
FAKULTAS KEDOKTERAN
UNIVERSITAS ISLAM MALANG
2024**

RINGKASAN

Muhammad Nauval Daffa Salsabil, Fakultas Kedokteran, Universitas Islam Malang, Oktober 2024. Pengaruh Pemberian Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urb.) Terhadap Kadar *Nitric Oxide* Pada (*Human Umbilical Vein Endothelial Cells*) HUVECs Yang Diinduksi Angiotensin II.

Pembimbing 1: dr. Erna Sulistyowati, M.Kes., Ph.D., Pembimbing 2: dr. Diah Andriana, Sp. B., FINACS., FICS.

Pendahuluan: Angiotensin II yang berikatan dengan sel endotel pembuluh darah dapat menyebabkan hipertensi, jumlah angiotensin II yang berlebihan secara kontinu yang merangsang enzim NOX untuk membentuk *Reactive oxygen species* (ROS) yang mengakibatkan kondisi stres oksidatif pada sel endotel pembuluh darah sehingga terjadi disfungsi endotel pembuluh darah yang ditandai penurunan produksi *Nitric Oxide* (NO) sebagai vasodilator. Daun Pegagan (*C. asiatica*) memiliki efek antioksidan yang dapat menurunkan ROS dan memperbaiki produksi *Nitric Oxide* dari endotel. Penelitian ini membuktikan daun *C. asiatica* memiliki efek antioksidan karenanya meningkatkan produksi NO HUVECs yang diinduksi angiotensin II.

Metode: Penelitian ini adalah studi eksperimental laboratorium *posttest-only control group design in vitro* pada *Human Umbilical Vein Endothelial Cells* (HUVECs) yang diberi Ang II dosis 0,1 μ M. Ekstraksi daun *C. asiatica* menggunakan metode maserasi. Terdapat lima kelompok perlakuan, yaitu kelompok kontrol, Ang II, dan kelompok dengan pemberian Ang II dan tiga dosis ekstrak daun *C. asiatica* (P1, P2, P3) masing-masing 12,5; 25 dan 50 μ g/ml. *Nitric Oxide* diukur dengan uji *Griess assay* dan diamati pada 0, 24, 48, dan 72 jam. Hasil data dianalisis dengan uji *One-Way ANOVA* dilanjutkan dengan uji LSD (*Least Significant Difference*). Nilai dikatakan signifikan bila *p* kurang dari 0.05.

Hasil dan Pembahasan: Total *Nitric Oxide* tiap kelompok pengamatan berturut-turut adalah 4.47 ± 0.88 , 5.12 ± 0.87 , 3.29 ± 0.88 , 4.03 ± 1.05 , 1.82 ± 1.10 μ M pada pengamatan 0 jam, pada pengamatan 24 jam 27.85 ± 1.13 , 11.09 ± 1.34 , 11.82 ± 1.38 , 7.85 ± 1.97 , 6.38 ± 2.33 μ M, sedangkan pada pengamatan 48 jam 52.56 ± 12.68 , 10.35 ± 2.14 , 10.50 ± 1.73 , 10.50 ± 1.73 , 11.82 ± 1.10 μ M, pada pengamatan 72 jam 5.50 ± 1.27 , 4.76 ± 0.93 , 3.15 ± 0.76 , 3.74 ± 0.76 , -3.03 ± 0.76 μ M. Total NO kelompok (P1, P2, P3) dibandingkan dengan Ang II berbeda signifikan pada pengamatan jam ke-24 dan 48 ($p < 0,05$).

Simpulan: Ekstrak daun *C. asiatica* dapat meningkatkan produksi *Nitric Oxide* HUVECs yang diinduksi Angiotensin II

Kata kunci: *Centella asiatica*; *Nitric Oxide*; HUVECs; Angiotensin II.

SUMMARY

Muhammad Nauval Daffa Salsabil, Faculty of Medicine University of Islam Malang, October 2024. The Effect Of Pegagan Leaf Extract (*Centella asiatica* (L.) Urb.) On Nitric Oxide Levels In Angiotensin II-Induced Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVECs).

Supervisor 1: dr. Erna Sulistyowati, M.Kes., Ph.D., Supervisor 2: dr. Diah Andriana, Sp. B., FINACS., FICS.

Introduction: Angiotensin II binding to endothelial cells of blood vessels can cause hypertension, with excessive continuous angiotensin II stimulating the NOX enzyme to form Reactive Oxygen Species (ROS), leading to oxidative stress conditions in endothelial cells of blood vessels. This results in endothelial dysfunction characterized by a decrease in the production of Nitric Oxide (NO) as a vasodilator. Gotu Kola leaves (*C. asiatica*) have antioxidant effects that can reduce ROS and increase nitric oxide production. This study prove that *C. asiatica* leaves have antioxidative effects leading to increase NO production in HUVECs induced by angiotensin II.

Methods: This research used a posttest-only control group design in vitro laboratory experimental study on human umbilical vein endothelial cells (HUVECs) treated with a dose of 0.1 μM Ang II. The *C. asiatica* leaves was extracted by the maceration method. There were five groups, namely; the control group, Ang II, and groups with Ang II administration and three doses of *C. asiatica* leaf extract (P1, P2, P3) at 12.5; 25, and 50 $\mu\text{g/ml}$, respectively. Nitric Oxide was measured using the Griess assay and observed at 0, 24, 48, and 72 hours. The data were analyzed used One-Way ANOVA followed by the Least Significant Difference (LSD) test. The value was considered significant if $p < 0.05$.

Results and Discussion: The total Nitric Oxide for each observation group were 4.47 ± 0.88 , 5.12 ± 0.87 , 3.29 ± 0.88 , 4.03 ± 1.05 , 1.82 ± 1.10 μM at the 0-hour observation, at the 24-hour observation 27.85 ± 1.13 , 11.09 ± 1.34 , 11.82 ± 1.38 , 7.85 ± 1.97 , 6.38 ± 2.33 μM , while at the 48-hour observation 52.56 ± 12.68 , 10.35 ± 2.14 , 10.50 ± 1.73 , 10.50 ± 1.73 , 11.82 ± 1.10 μM , at the 72-hour observation 5.50 ± 1.27 , 4.76 ± 0.93 , 3.15 ± 0.76 , 3.74 ± 0.76 , -3.03 ± 0.76 μM , respectively. Total NO level of P1, P2 and P3 groups are significantly different ($p < 0.05$) compared with Ang II group, in 24 hour and 48 hour.

Conclusion: The extract of *C. asiatica* leaves increases the production of Nitric Oxide in HUVECs induced by Angiotensin II.

Keyword: *Centella asiatica*; Nitric Oxide; HUVECs; Angiotensin II.

BAB I PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Hipertensi adalah kondisi peningkatan tekanan sistolik dan diastolik jantung yang melewati batas normal secara persisten (Oparil *et al.*, 2018). Di Indonesia, prevalensi hipertensi pada kelompok usia 18 – 24 tahun prevalensi hipertensi 13,2%, kelompok usia 25 – 40 tahun mempunyai prevalensi 20,1%, dan kelompok usia di atas 75 tahun memiliki tingkat prevalensi 69.5% (Debora *et al.*, 2023). Hipertensi merupakan faktor risiko utama penyakit kardiovaskular (CVD) yang berkorelasi dengan peningkatan pembentukan *Reactive Oxygen Species* (ROS) kondisi ini dinamakan stres oksidatif (Xu and Touyz, 2006). Pembentukan stres oksidatif, peningkatan tekanan darah arteri, dan disfungsi sel endotel pembuluh darah memiliki hubungan dengan *Renin-angiotensin system* (RAS) yang merupakan sistem penting yang berperan dalam regulasi peningkatan kadar Angiotensin II (Ang II) plasma (Birk *et al.*, 2021). Penelitian pada tikus melaporkan bahwa Ang II menginduksi genotip pro-inflamatori yang ditandai dengan infiltrasi monosit ke dinding pembuluh darah diikuti dengan peningkatan kadar ROS (Birk *et al.*, 2021). Peningkatan kadar ROS dalam tubuh diperantarai oleh *oscillatiry shear stres*, *NAD(P)H oxidase*, mitokondria, *xantine oxidase* sebagai sumber produksi ROS yang dapat menyebabkan kondisi stres oksidatif (Hsieh *et al.*, 2014).

Stres oksidatif adalah fenomena yang disebabkan oleh peningkatan produksi dan akumulasi *reactive oxygen species* (ROS) dalam sel dan jaringan serta penurunan kemampuan sistem biologis untuk mendetoksifikasi produk reaktif tersebut (Pizzino *et al.*, 2017). Terjadinya peningkatan *bioavailabilitas*

ROS dapat memberikan dampak negatif terhadap makromolekul sel, seperti RNA, DNA, protein, lipid dan karbohidrat, sehingga menyebabkan kerusakan dan kematian sel (Griendling *et al.*, 2021). Peningkatan stres oksidatif yang terjadi pada pembuluh darah dapat menyebabkan *remodelling* pembuluh darah, peradangan, fibrosis, serta vasokonstriksi akibat adanya ketidakseimbangan antara stres oksidatif dan faktor perlindungan sel terhadap stres oksidatif (Sena *et al.*, 2018). Stres oksidatif berperan dalam patomekanisme dan perkembangan penyakit hipertensi (Rodrigo *et al.*, 2011).

Tubuh memiliki sistem pertahanan untuk mengurangi dan atau mencegah produksi ROS yang berlebihan dengan memproduksi antioksidan endogen seperti *superoxide dismutase* (SOD), *catalase* (CAT), *glutathione peroxidase* (GPX), dan *glutathione S-transferase* (GST). Sistem ini menjaga status redoks dengan mencegah akumulasi ROS (Griendling *et al.*, 2021). Selain itu, jaringan tubuh menghasilkan *nitric oxide* (NO), yang bekerja sama dengan SOD untuk mengurangi stres oksidatif pada hipertensi dengan mengubah keseimbangan prooksidan dan antioksidan sehingga menghasilkan efek vasodilatasi (Amponsah-Offeh *et al.*, 2023). Selain itu tubuh juga menghasilkan NO melalui sintesis NO endotel (eNOS) dengan memetabolisme L-arginin menjadi NO (Flam *et al.*, 2007).

NO menyebabkan stimulasi *guanylyl cyclase* untuk membentuk 3',5'-cyclic *guanosine monophosphate*, yang kemudian menghasilkan efek vasodilatasi pada sel otot polos pembuluh darah, pencegahan adhesi, agregasi trombosit, dll. Hasil efek ini yang dapat menghambat perkembangan penyakit hipertensi (Hermann *et al.*, 2006). Oleh karena itu NO berperan sebagai vasodilator yang

penting yang dapat menghambat dan mengurangi perkembangan terjadinya hipertensi (Bunaim *et al.*, 2021). Antioksidan sangat berperan dalam homeostasis tubuh. Dalam penelitian sebelumnya didapatkan bahwa penggunaan herbal memiliki properti antioksidan yang signifikan dan memiliki efek samping yang lebih rendah (Mishra *et al.*, 2022).

Kombinasi *Centella asiatica*, *Justicia gendarussa*, dan *Imperata cylindrica* (CJI) yang di dekokta terbukti mampu menghambat pembentukan ROS dan kombinasi tersebut berperan sebagai antioksidan (Sulistyowati *et al.*, 2017). Senyawa aktif *Centella asiatica* (*C. asiatica*) termasuk *asiatic acid*, *triterpenoids*, *madecassoside*, dan *asiaticoside*. Berkhasiat antioksidan dan dapat meningkatkan aktivitas SOD dan *glutathione peroxidase* (GPX), serta mengaktifkan *nuclear erythroid-2-related factor 2* yang dapat mencegah atau mengurangi stres oksidatif dan bersifat anti-inflamasi. (Sun *et al.*, 2020). *Triterpenoid* dari daun *C. asiatica* adalah antioksidan yang mencegah kerusakan sel endotel pembuluh darah dikarenakan peningkatan ROS. Antioksidan ini memicu pembentukan NO oleh sel endotel pembuluh darah yang berfungsi sebagai vasodilator, mencegah agregasi platelet dan proliferasi sel otot polos pembuluh darah (Bunaim *et al.*, 2021).

Daun *C. asiatica* memiliki kandungan senyawa aktif antioksidan yang diprediksi dapat mencegah kerusakan pembuluh darah akibat hipertensi. Dalam penelitian yang dilakukan pada tikus yang diinduksi dengan L-NAME agar terbentuk model hipertensi di berikan perlakuan dengan pemberian ekstrak daun *C. asiatica* 500 mg/Kg dikombinasikan dengan captopril 5 mg/Kg secara oral dengan lama penelitian selama 8 (delapan) minggu dengan mendapatkan

hasil bahwa didapatkan efek yang signifikan dari kombinasi ekstrak daun *C. asiatica* dengan captopril dalam mencegah peningkatan tekanan darah sistolik tikus dan penurunan level serum NO (Razali *et al.*, 2019). Dalam studi analisis menggunakan analisis *T pair test*, responden hipertensi dengan kepatuhan rutin meminum seduhan daun *C. asiatica* kering 5-10 g dengan seduhan air 250 mL yang diminum 3 (tiga) kali sehari selama 2 (dua) minggu mendapatkan hasil signifikan tekanan darah yang lebih terkontrol (Astutik *et al.*, 2021).

Disfungsi sel endotel dianggap salah satu faktor penting pada prevalensi kejadian CVD sehingga diperlukan model penelitian yang optimal dalam perkembangan penelitian tersebut. Meskipun penelitian pada hewan coba (mencit) dirasa masih cukup memungkinkan namun model penelitian ini masih belum cukup menggambarkan kondisi pada subjek manusia, faktanya beberapa penelitian pengujian efektivitas dan keamanan obat yang sebelumnya diuji coba pada hewan mengalami kegagalan dalam uji klinis pada manusia. Model penelitian menggunakan hewan coba memiliki kontribusi besar dalam pengujian hipotesis dalam uji *in vitro* (Doke and Dhawale, 2015).

Studi menggunakan *Human Umbilical Vein Endothelial Cells* (HUVECs) telah diakui sebagai model penelitian yang berguna untuk penelitian pada sel endotel, walaupun model ini tidak mewakili semua jenis sel endotel yang ditemukan dalam tubuh, HUVECs sangat baik untuk mempelajari sifat endotel vaskular dan jalur biologis utama yang terlibat dalam fungsi sel endotel (Medina-Leyte *et al.*, 2020).

Dengan dasar tersebut, dilakukan penelitian secara *in vitro* untuk mengetahui mekanisme penghambatan stres oksidatif dari ekstrak daun *C.*

asiatica pada *Human Umbilical Vein Endothelial Cells* (HUVECs) yang diinduksi Angiotensin II (Ang II) melalui observasi pada kadar NO.

1.2 Rumusan Masalah

- 1.2.1 Apakah ada pengaruh pemberian Ang II pada kadar *Nitric oxide* HUVECs?
- 1.2.2 Apakah ada pengaruh pemberian ekstrak daun *C. asiatica* (12,5, 25 dan 50 µg/mL) pada kadar *Nitric oxide* HUVECs yang diinduksi Ang II?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan yakni :

1. Mengetahui pengaruh pemberian Ang II pada kadar *Nitric oxide* HUVECs.
2. Mengetahui pengaruh pemberian ekstrak daun *C. asiatica* (12,5, 25 dan 50 µg/mL) pada kadar *Nitric oxide* HUVECs yang diinduksi Ang II.

1.4 Manfaat Penelitian

1.4.1 Manfaat Teori

Hasil penelitian ini diharapkan akan menjelaskan secara teoretik bagaimana daun *C. asiatica* berpengaruh pada kadar *nitric oxide* sebagai upaya vaskuloprotektif pada kultur sel HUVECs yang diinduksi oleh Ang II.

1.4.2 Manfaat Praktis

Penelitian ini bermanfaat sebagai bukti ilmiah uji *in vitro* (pra-klinik) untuk saintifikasi herbal daun *C. asiatica* sebagai anti hipertensi.

BAB VII KESIMPULAN

7.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian mengenai pengaruh angiotensin II dan ekstrak daun *C. asiatica* yang dilakukan dengan metode *in vitro* pada HUVECs didapatkan Kesimpulan sebagai berikut:

1. Angiotensin II menurunkan kadar NO yang diproduksi oleh HUVECs pada semua dosis perlakuan di waktu pengamatan jam ke-24, ke-48 dan ke-72.
2. Ekstrak daun *C. asiatica* meningkatkan kadar NO yang diproduksi oleh HUVECs yang diinduksi angiotensin II dan menerima ekstrak daun *C. asiatica* pada semua dosis perlakuan di waktu pengamatan jam ke-48 dan pada dosis 12,5 µg/mL di waktu pengamatan jam ke-24.

7.2 Saran

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, peneliti mengemukakan beberapa saran guna memperbaiki penelitian selanjutnya yaitu:

1. Melakukan penelitian lanjutan dengan menggunakan DPPH yang memiliki fungsi sebagai uji antioksidan agar dapat melengkapi hasil pengukuran NO sebagai indikator antioksidan *C. asiatica*.
2. Menggunakan metode pengukuran NO yang lebih akurat.

DAFTAR PUSTAKA

- Almeida, A.J.P.O. De, Ribeiro, T.P. and Medeiros, I.A. De (2017) 'Aging: Molecular Pathways and Implications on the Cardiovascular System.', *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2017, p. 7941563. Available at: <https://doi.org/10.1155/2017/7941563>.
- Almeida, A.J.P.O., de Oliveira, J.C.P.L., da Silva Pontes, L.V., *et al.* (2022) 'ROS: Basic Concepts, Sources, Cellular Signaling, and its Implications in Aging Pathways', *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. Edited by D. Giustarini, 2022, pp. 1–23. Available at: <https://doi.org/10.1155/2022/1225578>.
- Ambrosino, P., Bachetti, T., D'Anna, S.E., *et al.* (2022) 'Mechanisms and Clinical Implications of Endothelial Dysfunction in Arterial Hypertension', *Journal of Cardiovascular Development and Disease*, 9(5). Available at: <https://doi.org/10.3390/jcdd9050136>.
- Amponsah-Offeh, M., Diaba-Nuhoho, P., Speier, S., *et al.* (2023) 'Oxidative Stress, Antioxidants and Hypertension', *Antioxidants*, 12(2), p. 281. Available at: <https://doi.org/10.3390/antiox12020281>.
- Andrabi, S.M., Sharma, N.S., Karan, A., *et al.* (2023) 'Nitric Oxide: Physiological Functions, Delivery, and Biomedical Applications', *Advanced Science*, 10(30). Available at: <https://doi.org/10.1002/advs.202303259>.
- Arif, Y. and Sulistiowati, E. (2020) 'Lepasnya Sel Endotel Dan Vascular Endothelial Cadherin (Ve-Cadherin) Pada Huvecs Dengan Glukosa Tinggi Dan Fluid Shear Stress', *Jurnal Kesehatan Islam : Islamic Health Journal*, 8(2), p. 92. Available at: <https://doi.org/10.33474/jki.v8i2.8890>.
- Astuti, V.W., Tasman, T. and Amri, L.F. (2021) 'Prevalensi Dan Analisis Faktor Risiko Hipertensi Di Wilayah Kerja Puskesmas Nanggalo Padang', *BIMIKI (Berkala Ilmiah Mahasiswa Ilmu Keperawatan Indonesia)*, 9(1), pp. 1–9. Available at: <https://doi.org/10.53345/bimiki.v9i1.185>.
- Astutik, F.E.F., Fauzia Zuhroh, D. and Rizqi Lazuardi Ramadhan, M. (2021) 'The effect of gotu kola (*Centella asiatica* L.) tea on blood pressure of hypertension', *Enfermeria Clinica*, 31, pp. S195–S198. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.enfcli.2020.12.021>.
- Barh, D., Chaitankar, V., Yiannakopoulou, E.C., *et al.* (2013) 'In Silico Models: From Simple Networks to Complex Diseases', *Animal Biotechnology: Models in Discovery and Translation*, pp. 385–404. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-416002-6.00021-3>.
- Bataineh, A. and Raij, L. (1998) 'Angiotensin II, nitric oxide, and end-organ

damage in hypertension', *Kidney International*, 54, pp. S14–S19.
Available at: <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.1998.06806.x>.

- Birk, M., Baum, E., Zadeh, J.K., *et al.* (2021) 'Angiotensin ii induces oxidative stress and endothelial dysfunction in mouse ophthalmic arteries via involvement of at1 receptors and nox2', *Antioxidants*, 10(8). Available at: <https://doi.org/10.3390/antiox10081238>.
- Brown, D.I. and Griendling, K.K. (2015) 'Regulation of Signal Transduction by Reactive Oxygen Species in the Cardiovascular System', *Circulation Research*, 116(3), pp. 531–549. Available at: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.116.303584>.
- Bunaim, M.K., Kamisah, Y., Mohd Mustazil, M.N., *et al.* (2021) 'Centella asiatica (L.) Urb. Prevents Hypertension and Protects the Heart in Chronic Nitric Oxide Deficiency Rat Model', *Frontiers in Pharmacology*, 12(December), pp. 1–12. Available at: <https://doi.org/10.3389/fphar.2021.742562>.
- Bunbupha, S., Prachaney, P., Kukongviriyapan, U., *et al.* (2015) 'Asiatic acid alleviates cardiovascular remodelling in rats with L- NAME -induced hypertension', *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 42(11), pp. 1189–1197. Available at: <https://doi.org/10.1111/1440-1681.12472>.
- Cau, S.B.A., Evora, P.R.B. and Tostes, R.C. (2018) *Vasoconstrictor Substances Produced by the Endothelium, Endothelium and Cardiovascular Diseases*. Elsevier Inc. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-812348-5.00009-X>.
- Chen, W., Druhan, L.J., Chen, C.-A., *et al.* (2010) 'Peroxynitrite Induces Destruction Of The Tetrahydrobiopterin and Heme in Endothelial Nitric Oxide Synthase: Transition From Reversible to Irreversible Enzyme Inhibition', *Biochemistry*, 49(14), pp. 3129–3137. Available at: <https://doi.org/10.1021/bi9016632>.
- Cho, H.J., Xie, Q.W., Calaycay, J., *et al.* (1992) 'Calmodulin is a subunit of nitric oxide synthase from macrophages.', *The Journal of experimental medicine*, 176(2), pp. 599–604. Available at: <https://doi.org/10.1084/jem.176.2.599>.
- Cinelli, M.A., Do, H.T., Miley, G.P., *et al.* (2020) 'Inducible nitric oxide synthase: Regulation, structure, and inhibition', *Medicinal Research Reviews*, 40(1), pp. 158–189. Available at: <https://doi.org/10.1002/med.21599>.
- Collin, F. (2019) 'Chemical Basis of Reactive Oxygen Species Reactivity and

Involvement in Neurodegenerative Diseases', *International Journal of Molecular Sciences*, 20(10), p. 2407. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms20102407>.

Council, N.R. (1999) *Monoclonal Antibody Production*. Washington, DC: National Academy of Sciences. Available at: <http://www.nap.edu/catalog/9450.html>.

Cyr, A.R., Huckaby, L. V, Shiva, S.S., *et al.* (2020) 'Nitric Oxide and Endothelial Dysfunction', *Critical Care Clinics*, 36(2), pp. 307–321. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.ccc.2019.12.009>.

Daiber, A., Di Lisa, F., Oelze, M., *et al.* (2017) 'Crosstalk of mitochondria with NADPH oxidase via reactive oxygen and nitrogen species signalling and its role for vascular function', *British Journal of Pharmacology*, 174(12), pp. 1670–1689. Available at: <https://doi.org/10.1111/bph.13403>.

Debora, C., Tolimba, C., Palunggi, S., *et al.* (2023) 'Risk Factors for Hypertension Among Adults Living in A Rural Area, Minahasa', *Jurnal Keperawatan Indonesia*, 26(1), pp. 36–45. Available at: <https://doi.org/10.7454/jki.v26i1.2527>.

Ding, J., Yu, M., Jiang, J., *et al.* (2020) 'Angiotensin II Decreases Endothelial Nitric Oxide Synthase Phosphorylation via AT1R Nox/ROS/PP2A Pathway', *Frontiers in Physiology*, 11. Available at: <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.566410>.

Doke, S.K. and Dhawale, S.C. (2015) 'Alternatives to animal testing: A review', *Saudi Pharmaceutical Journal*, 23(3), pp. 223–229. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2013.11.002>.

Duarte, J.D. and Cooper-DeHoff, R.M. (2010) 'Mechanisms for blood pressure lowering and metabolic effects of thiazide and thiazide-like diuretics', *Expert Review of Cardiovascular Therapy*, 8(6), pp. 793–802. Available at: <https://doi.org/10.1586/erc.10.27>.

Elliott, K.J. and Eguchi, S. (2017) 'In Vitro Analysis of Hypertensive Signal Transduction: Kinase Activation, Kinase Manipulation, and Physiologic Outputs', in, pp. 201–211. Available at: https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6625-7_16.

Faisal, D.R., Lazwana, T., Ichwansyah, F., *et al.* (2022) 'Risk Factors of Hypertension for The Productive Age in Indonesia and Prevention Measures'.

Farah, C., Michel, L.Y.M. and Balligand, J.-L. (2018) 'Nitric oxide signalling in cardiovascular health and disease', *Nature Reviews Cardiology*, 15(5), pp.

292–316. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrcardio.2017.224>.

Farzam, K. and Jan, A. (2024) *Beta Blockers, StatPearls*. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30422501/>.

Félétou, M. (2011) *The Endothelium*. Part 1: Mu. Morgan & Claypool Life Sciences. Available at: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK57149/>.

Flam, B.R., Eichler, D.C. and Solomonson, L.P. (2007) ‘Endothelial nitric oxide production is tightly coupled to the citrulline–NO cycle’, *Nitric Oxide*, 17(3–4), pp. 115–121. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.niox.2007.07.001>.

Forstermann, U. and Sessa, W.C. (2012) ‘Nitric oxide synthases: regulation and function’, *European Heart Journal*, 33(7), pp. 829–837. Available at: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehr304>.

Francois, E.L. and Yaszemski, M.J. (2018) *Preclinical Bone Repair Models in Regenerative Medicine, Principles of Regenerative Medicine*. Elsevier Inc. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809880-6.00043-6>.

Francois, E.L. and Yaszemski, M.J. (2019) ‘Preclinical Bone Repair Models in Regenerative Medicine’, in *Principles of Regenerative Medicine*. Elsevier, pp. 761–767. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-809880-6.00043-6>.

Fukai, T. and Ushio-Fukai, M. (2020) ‘Cross-Talk between NADPH Oxidase and Mitochondria: Role in ROS Signaling and Angiogenesis’, *Cells*, 9(8), p. 1849. Available at: <https://doi.org/10.3390/cells9081849>.

Gartner, L.P. and Hiatt, J.L. (2007) *Color Text Book Of Histology*. 3rd edn. Edited by I. Onzols and J. Mahon. Philadelphia: SAUNDERS ELSAVIER.

Giroud, C., Moreau, M., Mattioli, T.A., *et al.* (2010) ‘Role of Arginine Guanidinium Moiety in Nitric-oxide Synthase Mechanism of Oxygen Activation’, *Journal of Biological Chemistry*, 285(10), pp. 7233–7245. Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.M109.038240>.

Gohil, K.J., Patel, J.A. and Gajjar, A.K. (2010) ‘Pharmacological review on *Centella asiatica*: A potential herbal cure-all’, *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, pp. 546–556. Available at: <https://doi.org/10.4103/0250-474X.78519>.

Griana, T.P. (2019) ‘Potensi Tanaman Pegagan (*Centella asiatica* (L .) Urban) dan Widuri (*Calotropis gigantea* (L .)) sebagai Imunomodulator’, *Journal of Food and Pharmaceutical Sciences*, 7(2), pp. 55–72.

- Griendling, K.K., Camargo, L.L., Rios, F.J., *et al.* (2021) 'Oxidative Stress and Hypertension', *Circulation Research*, 128(7), pp. 993–1020. Available at: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.318063>.
- Guzik, T.J., West, N.E.J., Black, E., *et al.* (2000) 'Vascular Superoxide Production by NAD(P)H Oxidase', *Circulation Research*, 86(9). Available at: <https://doi.org/10.1161/01.RES.86.9.e85>.
- Halcox, J.P.J. (2012) 'Endothelial Dysfunction', in *Primer on the Autonomic Nervous System*. Elsevier, pp. 319–324. Available at: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-386525-0.00066-4>.
- Hall, J.E. and Hall, M.E. (2021) *Guyton and Hall Textbook of Medical Physiology*. 24th edn. Canada: Elyse O'Grady.
- Harrison, D.G., Coffman, T.M. and Wilcox, C.S. (2021) 'Pathophysiology of Hypertension', *Circulation Research*, 128(7), pp. 847–863. Available at: <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.121.318082>.
- Herman, L.L., Padala, S.A., Ahmed, I., *et al.* (2024) *Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors (ACEI)*, *StatPearls*. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28613705/>.
- Hermann, M., Flammer, A. and Lüscher, T.F. (2006) 'Nitric oxide in hypertension.', *Journal of clinical hypertension (Greenwich, Conn.)*, 8(12 Suppl 4), pp. 17–29. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1524-6175.2006.06032.x>.
- Hill, R.D. and Vaidya, P.N. (2024) *Angiotensin II Receptor Blockers (ARB)*, *StatPearls*. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/30725712/>.
- Hitomi, H., Kiyomoto, H. and Nishiyama, A. (2007) 'Angiotensin II and oxidative stress', *Current Opinion in Cardiology*, 22(4), pp. 311–315. Available at: <https://doi.org/10.1097/HCO.0b013e3281532b53>.
- Holmström, K.M. and Finkel, T. (2014) 'Cellular mechanisms and physiological consequences of redox-dependent signalling', *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 15(6), pp. 411–421. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrm3801>.
- van Horssen, J., van Schaik, P. and Witte, M. (2019) 'Inflammation and mitochondrial dysfunction: A vicious circle in neurodegenerative disorders?', *Neuroscience Letters*, 710, p. 132931. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.neulet.2017.06.050>.
- Hsieh, H.-J., Liu, C.-A., Huang, B., *et al.* (2014) 'Shear-induced endothelial mechanotransduction: the interplay between reactive oxygen species

(ROS) and nitric oxide (NO) and the pathophysiological implications', *Journal of Biomedical Science*, 21(1), p. 3. Available at: <https://doi.org/10.1186/1423-0127-21-3>.

Ignarro, L.J. (2010) 'Wei Lun Visiting Professorial Lecture: Nitric Oxide in the Regulation of Vascular Function: An Historical Overview', *Journal of Cardiac Surgery*, 17(4), pp. 301–306. Available at: <https://doi.org/10.1111/j.1540-8191.2001.tb01148.x>.

Incalza, M.A., D'Oria, R., Natalicchio, A., *et al.* (2018) 'Oxidative Stress and Reactive Oxygen Species In Endothelial Dysfunction Associated With Cardiovascular and Metabolic Diseases', *Vascular Pharmacology*, 100, pp. 1–19. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.vph.2017.05.005>.

Ji, C., Yu, Y., Zhang, M., *et al.* (2020) 'Loxoprofen Sodium Alleviates Oxidative Stress and Apoptosis Induced by Angiotensin II in Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVECs)', *Drug Design, Development and Therapy*, Volume 14, pp. 5087–5096. Available at: <https://doi.org/10.2147/DDDT.S266175>.

Jm, W., Vm, M., Gill, R., *et al.* (2018) 'First-line drugs for hypertension (Review)'. Available at: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD001841.pub3.www.cochranelibrary.com>.

Kementrian Kesehatan RI (2018) *Hasil Utama RISKESDAS 2018*. Available at: https://kesmas.kemkes.go.id/assets/upload/dir_519d41d8cd98f00/files/Hasil-riskesdas-2018_1274.pdf.

Kobayashi, Y. (2010) 'The regulatory role of nitric oxide in proinflammatory cytokine expression during the induction and resolution of inflammation', *Journal of Leukocyte Biology*, 88(6), pp. 1157–1162. Available at: <https://doi.org/10.1189/jlb.0310149>.

Krylatov, A. V., Maslov, L.N., Voronkov, N.S., *et al.* (2018) 'Reactive Oxygen Species as Intracellular Signaling Molecules in the Cardiovascular System', *Current Cardiology Reviews*, 14(4), pp. 290–300. Available at: <https://doi.org/10.2174/1573403X14666180702152436>.

Lee, M.R., Li, L. and Kitazawa, T. (1997) 'Cyclic GMP Causes Ca²⁺ Desensitization in Vascular Smooth Muscle by Activating the Myosin Light Chain Phosphatase', *Journal of Biological Chemistry*, 272(8), pp. 5063–5068. Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.272.8.5063>.

Lin, Y., Skeberdis, V.A., Francesconi, A., *et al.* (2004) 'Postsynaptic Density Protein-95 Regulates NMDA Channel Gating and Surface Expression', *The Journal of Neuroscience*, 24(45), pp. 10138–10148. Available at:

<https://doi.org/10.1523/JNEUROSCI.3159-04.2004>.

Liu, T., Shen, D., Xing, S., *et al.* (2013) 'Attenuation of exogenous angiotensin II stress-induced damage and apoptosis in human vascular endothelial cells via microRNA-155 expression', *International Journal of Molecular Medicine*, 31(1), pp. 188–196. Available at: <https://doi.org/10.3892/ijmm.2012.1182>.

Loperena, R. and Harrison, D.G. (2017) 'Oxidative Stress and Hypertensive Diseases', *Medical Clinics of North America*, 101(1), pp. 169–193. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.mcna.2016.08.004>.

Ma, J. and Chen, X. (2022) 'Advances in pathogenesis and treatment of essential hypertension', *Frontiers in Cardiovascular Medicine*, 9(October), pp. 1–12. Available at: <https://doi.org/10.3389/fcvm.2022.1003852>.

Magnani, F. and Mattevi, A. (2019) 'Structure and mechanisms of ROS generation by NADPH oxidases', *Current Opinion in Structural Biology*, 59, pp. 91–97. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.sbi.2019.03.001>.

Man, M.-Q., Wakefield, J.S., Mauro, T.M., *et al.* (2022) 'Regulatory Role of Nitric Oxide in Cutaneous Inflammation', *Inflammation*, 45(3), pp. 949–964. Available at: <https://doi.org/10.1007/s10753-021-01615-8>.

Mas-Bargues, C., Escrivá, C., Dromant, M., *et al.* (2021) 'Lipid peroxidation as measured by chromatographic determination of malondialdehyde. Human plasma reference values in health and disease', *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 709, p. 108941. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.abb.2021.108941>.

McKeever, R.G., Patel, P. and Hamilton, R.J. (2024) *Calcium Channel Blockers*, *StatPearls*. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29494080/>.

Medina-Leyte, D.J., Domínguez-Pérez, M., Mercado, I., *et al.* (2020) 'Use of Human Umbilical Vein Endothelial Cells (HUVEC) as a Model to Study Cardiovascular Disease: A Review', *Applied Sciences*, 10(3), p. 938. Available at: <https://doi.org/10.3390/app10030938>.

Mishra, Y., Amin, H.I.M., Mishra, V., *et al.* (2022) 'Application of nanotechnology to herbal antioxidants as improved phytomedicine: An expanding horizon', *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 153. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2022.113413>.

Missiroli, S., Genovese, I., Perrone, M., *et al.* (2020) 'The Role of Mitochondria in Inflammation: From Cancer to Neurodegenerative Disorders', *Journal of Clinical Medicine*, 9(3), p. 740. Available at: <https://doi.org/10.3390/jcm9030740>.

- Montezano, A.C., Nguyen Dinh Cat, A., Rios, F.J., *et al.* (2014) 'Angiotensin II and Vascular Injury', *Current Hypertension Reports*, 16(6), p. 431. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11906-014-0431-2>.
- Nethi, S.K., Veeriah, V., Barui, A.K., *et al.* (2015) 'Investigation of molecular mechanisms and regulatory pathways of pro-angiogenic nanorods', *Nanoscale*, 7(21), pp. 9760–9770. Available at: <https://doi.org/10.1039/C5NR01327E>.
- Nugrahani, A.D., Azis, M.M.A. and Agustin, D.F. (2018) 'Penerapan Teknologi Mutakhir Intranasal Low Intensity LASER Therapy (ILILT) 650 nm untuk Mereduksi Viskositas Darah dan Mencegah Aktivasi NAD(P)H Oxidase (Nox) Sebagai Tatalaksana Efektif Ameliorasi Homeostasis pada Penderita Hipertensi', 6(2), pp. 125–137.
- Oparil, S., Acelajado, M.C., Bakris, G.L., *et al.* (2018) 'Hypertension', *Nature Reviews Disease Primers*, 4(4), pp. 1–48. Available at: <https://doi.org/10.1038/nrdp.2018.14>.
- Patel, P., Sanghavi, D.K., Morris, D.L., *et al.* (2024) *Angiotensin II*, *StatPearls*. Available at: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29763087/>.
- Petroff, M.G.V., Kim, S.H., Pepe, S., *et al.* (2001) 'Endogenous nitric oxide mechanisms mediate the stretch dependence of Ca²⁺ release in cardiomyocytes', *Nature Cell Biology*, 3(10), pp. 867–873. Available at: <https://doi.org/10.1038/ncb1001-867>.
- Phaniendra, A., Jestadi, D.B. and Periyasamy, L. (2015) 'Free Radicals: Properties, Sources, Targets, And Their Implication In Various Diseases', *Indian Journal of Clinical Biochemistry*, 30(1), pp. 11–26. Available at: <https://doi.org/10.1007/s12291-014-0446-0>.
- Pinto, R. V., Antunes, F., Pires, J., *et al.* (2020) 'A comparison of different approaches to quantify nitric oxide release from NO-releasing materials in relevant biological media', *Molecules*, 25(11). Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules25112580>.
- Pittella, F., Dutra, R.C., Junior, D.D., *et al.* (2009) 'Antioxidant and Cytotoxic Activities of Centella asiatica (L) Urb.', *International Journal of Molecular Sciences*, 10(9), pp. 3713–3721. Available at: <https://doi.org/10.3390/ijms10093713>.
- Pizzino, G., Irrera, N., Cucinotta, M., *et al.* (2017) 'Oxidative Stress: Harms and Benefits for Human Health', *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2017. Available at: <https://doi.org/10.1155/2017/8416763>.
- Prajapati, P., Sripada, L., Singh, K., *et al.* (2015) 'TNF- α regulates miRNA

targeting mitochondrial complex-I and induces cell death in dopaminergic cells', *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Basis of Disease*, 1852(3), pp. 451–461. Available at:
<https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2014.11.019>.

Radi, R. (2018) 'Oxygen radicals, nitric oxide, and peroxynitrite: Redox pathways in molecular medicine', *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(23), pp. 5839–5848. Available at:
<https://doi.org/10.1073/pnas.1804932115>.

Raij, L. (2001) 'Workshop: Hypertension and Cardiovascular Risk Factors', *Hypertension*, 37(2), pp. 767–773. Available at:
<https://doi.org/10.1161/01.HYP.37.2.767>.

Razali, N.N.M., Ng, C.T. and Fong, L.Y. (2019) 'Cardiovascular Protective Effects of Centella asiatica and Its Triterpenes: A Review', *Planta Medica*, 85(16), pp. 1203–1215. Available at: <https://doi.org/10.1055/a-1008-6138>.

Rocha, B.S. (2021) 'The Nitrate-Nitrite-Nitric Oxide Pathway on Healthy Ageing: A Review of Pre-clinical and Clinical Data on the Impact of Dietary Nitrate in the Elderly', *Frontiers in Aging*, 2. Available at:
<https://doi.org/10.3389/fragi.2021.778467>.

Rodrigo, R., González, J. and Paoletto, F. (2011) 'The role of oxidative stress in the pathophysiology of hypertension', *Hypertension Research*, 34(4), pp. 431–440. Available at: <https://doi.org/10.1038/hr.2010.264>.

Sandoo, A., Veldhuijzen van Zanten, J.J.C., Metsios, G.S., *et al.* (2010) 'The Endothelium and Its Role in Regulating Vascular Tone', *The Open Cardiovascular Medicine Journal*, 4(1), pp. 302–312. Available at:
<https://doi.org/10.2174/1874192401004010302>.

Sena, C.M., Leandro, A., Azul, L., *et al.* (2018) 'Vascular Oxidative Stress: Impact and Therapeutic Approaches', *Frontiers in Physiology*, 9. Available at: <https://doi.org/10.3389/fphys.2018.01668>.

Sherwood, L. (2013) *Introduction to Human Physiology*. 8th edn. Yolanda Cossio.

Shrout, T., Rudy, D.W. and Piascik, M.T. (2017) 'Hypertension update, JNC8 and beyond', *Current Opinion in Pharmacology*, 33, pp. 41–46. Available at:
<https://doi.org/10.1016/j.coph.2017.03.004>.

Shukurova, M.K., Myint, D., Yi, S.S., *et al.* (2021) 'Morphological Description and Ethnobotanical Review of the Orphan Crop Myin-Hkwa (Centella asiatica L.) From Myanmar', *Frontiers in Sustainable Food Systems*, 5(November), pp. 1–9. Available at:

<https://doi.org/10.3389/fsufs.2021.680862>.

- Snyder, S.H. and Bredt, D.S. (1992) 'Biological Roles of Nitric Oxide', *Scientific American*, 266(5), pp. 68–77. Available at: <https://doi.org/10.1038/scientificamerican0592-68>.
- Sopiyudin, D. (2014) *Statistik Untuk Kedokteran Dan Kesehatan*. 6th edn. Jakarta: Salmaba Medika.
- Stuehr, D., Pou, S. and Rosen, G.M. (2001) 'Oxygen Reduction by Nitric-oxide Synthases', *Journal of Biological Chemistry*, 276(18), pp. 14533–14536. Available at: <https://doi.org/10.1074/jbc.R100011200>.
- Stuehr, D.J. and Haque, M.M. (2019) 'Nitric oxide synthase enzymology in the 20 years after the Nobel Prize', *British Journal of Pharmacology*, 176(2), pp. 177–188. Available at: <https://doi.org/10.1111/bph.14533>.
- Sulistio, A.D. (2020) 'Pemanfaatan Daun Pegagan (*Centella asiatica*) menjadi Olahan Keripik Oleh Masyarakat Desa Wisata Jatimulyo, Girimulyo'.
- Sulistyowati, E., Hsu, J.-H., Cheng, Y.-B., *et al.* (2017) 'Indonesian herbal medicine prevents hypertension-induced left ventricular hypertrophy by diminishing NADPH oxidase-dependent oxidative stress', *Oncotarget*, 8(49), pp. 86784–86798. Available at: <https://doi.org/10.18632/oncotarget.21424>.
- Sun, B., Wu, L., Wu, Y., *et al.* (2020) 'Therapeutic Potential of *Centella asiatica* and Its Triterpenes: A Review', *Frontiers in Pharmacology*, 11(September), pp. 1–24. Available at: <https://doi.org/10.3389/fphar.2020.568032>.
- Sutardi, S. (2017) 'Kandungan Bahan Aktif Tanaman Pegagan dan Khasiatnya untuk Meningkatkan Sistem Imun Tubuh', *Jurnal Penelitian dan Pengembangan Pertanian*, 35(3), p. 121. Available at: <https://doi.org/10.21082/jp3.v35n3.2016.p121-130>.
- Timmins, L.H., Molony, D.S., Eshtehardi, P., *et al.* (2017) 'Oscillatory wall shear stress is a dominant flow characteristic affecting lesion progression patterns and plaque vulnerability in patients with coronary artery disease', *Journal of The Royal Society Interface*, 14(127), p. 20160972. Available at: <https://doi.org/10.1098/rsif.2016.0972>.
- Triana Rahayu, N.K., Mayun Permana, I.D.G. and Diah Puspawati, G.A.K. (2021) 'Pengaruh Waktu Maserasi Terhadap Aktivitas Antioksidan Ekstrak Daun Pegagan (*Centella asiatica* (L.) Urban)', *Jurnal Ilmu dan Teknologi Pangan (ITEPA)*, 10(2), p. 163. Available at: <https://doi.org/10.24843/itepa.2021.v10.i02.p01>.

- Unger, T., Borghi, C., Charchar, F., *et al.* (2020) '2020 International Society of Hypertension Global Hypertension Practice Guidelines', *Hypertension*, 75(6), pp. 1334–1357. Available at: <https://doi.org/10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.15026>.
- Williams, B., Mancia, G., Spiering, W., *et al.* (2018) '2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension', *European Heart Journal*, 39(33), pp. 3021–3104. Available at: <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehy339>.
- World Health Organization (1996) 'Prevention and Management of Hypertension, EMRO Technical Publication Series 23'.
- Wright, J.M., Musini, V.M. and Gill, R. (2018) 'First-line drugs for hypertension', *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2018(4), pp. 0–43. Available at: <https://doi.org/10.1002/14651858.CD001841.pub3>.
- Xu, S. and Touyz, R.M. (2006) 'Reactive oxygen species and vascular remodelling in hypertension: Still alive', *Canadian Journal of Cardiology*, 22(11), pp. 947–951. Available at: [https://doi.org/10.1016/s0828-282x\(06\)70314-2](https://doi.org/10.1016/s0828-282x(06)70314-2).
- Yadav, D.K., Kumar, S., Choi, E.-H., *et al.* (2019) 'Molecular dynamic simulations of oxidized skin lipid bilayer and permeability of reactive oxygen species', *Scientific Reports*, 9(1), p. 4496. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41598-019-40913-y>.
- Yang, S. and Lian, G. (2020) 'ROS and diseases: role in metabolism and energy supply', *Molecular and Cellular Biochemistry*, 467(1–2), pp. 1–12. Available at: <https://doi.org/10.1007/s11010-019-03667-9>.
- Zhang, Y., Murugesan, P., Huang, K., *et al.* (2020) 'NADPH oxidases and oxidase crosstalk in cardiovascular diseases: novel therapeutic targets', *Nature Reviews Cardiology*, 17(3), pp. 170–194. Available at: <https://doi.org/10.1038/s41569-019-0260-8>.
- Zhao, Y., Vanhoutte, P.M. and Leung, S.W.S. (2015) 'Vascular nitric oxide: Beyond eNOS', *Journal of Pharmacological Sciences*, 129(2), pp. 83–94. Available at: <https://doi.org/10.1016/j.jphs.2015.09.002>.