

POTENSI ROSUVASTATIN SEBAGAI AGEN ANTIFIBROTIK: KAJIAN TERHADAP KADAR *SUPEROXIDE DISMUTASE* DAN PRESENTASE AREA SERABUT KOLAGEN ORGAN PARU TIKUS WISTAR MODEL FIBROSIS

David Pakaya^{1*}, Mohammad Salma¹, Yuli Fitriana¹, Sarifuddin Anwar², Muhammad Yoland Muliadi³, Mohammad Fiqri Novian Affandy³, Dion Solli Ruruktipa³, Rais Trisyambudi³, Farid Indra Gunawan³

¹Departemen Histologi, Fakultas Kedokteran Universitas Tadulako, Palu

²Departemen Anatomi, Fakultas Kedokteran Universitas Tadulako, Palu

³Program Studi Kedokteran, Fakultas Kedokteran Universitas Tadulako, Palu

*Email korespondensi: davidpakaya09@gmail.com

ABSTRAK

Latar Belakang: Peradangan kronis pada jaringan paru dapat memicu deposisi kolagen dan matriks ekstraseluler dengan hasil akhir fibrosis. Rosuvastatin memiliki efek anti peradangan dan anti fibrosis yang bekerja dengan menghambat sintesis kolagen pada jaringan.

Tujuan: Mengetahui efek anti-fibrotik rosuvastatin terhadap kadar SOD dan persentase area serabut kolagen pada organ paru tikus model fibrosis paru.

Metode Penelitian: Penelitian eksperimental dengan rancangan *posttest only control group design* dengan pendekatan kuantitatif. Penelitian ini menggunakan 15 ekor tikus putih galur Wistar jantan berusia 10-12 minggu, berat badan 180-220 gram. Tikus dibagi dalam tiga kelompok perlakuan; K1: kontrol normal; K2: model fibrosis paru; K3: model fibrosis paru dengan terapi rosuvastatin 10 mg/kgBB. Tikus dimodifikasi menjadi model fibrosis paru dengan pemberian amiodarone 40 mg/kgBB peroral. Dilakukan pengukuran berat badan secara berkala. Dilakukan pengukuran kadar SOD dengan ELISA. Gambaran histopatologi area serabut kolagen pada paru didapatkan dari pewarnaan *Trichrome Mallory* pada 5 lapang pandang yang dipilih secara acak dan tidak tumpang tindih dengan menggunakan mikroskop cahaya *Olympus CX23* perbesaran 400x. Hasil gambar dikuantifikasi menggunakan perangkat lunak *ImageJ*. Data dianalisis dengan *GrapPhard Prism 8.0.0* menggunakan uji non parametrik *Kruskal-Wallis*.

Hasil: Tidak ditemukan perbedaan yang bermakna antar BB tikus ($p=0,2232$). Hasil uji komparasi kadar SOD menunjukkan nilai $p=0,001$ ($p<0,05$). Persentase area serabut kolagen menunjukkan perbedaan bermakna ($p<0,0001$).

Simpulan: Rosuvastatin memberikan efek anti-fibrotik pada kadar SOD dan menghambat deposisi serabut kolagen pada organ paru tikus, namun tidak memberikan efek terhadap berat badan tikus model fibrosis paru.

Kata-kata kunci: amiodarone, inflamasi, rosuvastatin, serabut kolagen, SOD

Pendahuluan

Fibrosis paru merupakan kondisi patologi yang ditandai dengan perubahan patologis terminal di paru-paru yang disebabkan penyembuhan luka menyimpang, deposisi matriks ekstraseluler dan akhirnya pergantian parenkim oleh matriks ekstraseluler. Fibrosis ini dapat diakibatkan adanya stress oksidatif yang dipicu oleh radikal bebas.¹ Radikal bebas dalam tubuh memiliki berbagai jenis, *Reactive Oxygen Spesies* (ROS) merupakan jenis yang paling banyak. Terdapat sekitar 2% oksigen dalam tubuh akan dikonversi menjadi Superoxide. Superoxide ini dapat diubah menjadi ROS yang paling reaktif dalam tubuh yaitu Radikal Hidroksil. Radikal ini dapat menimbulkan banyak kerusakan terutama pada membran fosfolipid sel, merusak struktur DNA dan RNA yang dapat menyebabkan mutasi serta merusak berbagai protein sel.²

Penyebab fibrosis paru bersifat multifaktorial. Kondisi ini dipengaruhi oleh berbagai agen dan faktor risiko seperti pekerjaan dan penggunaan obat-obatan tertentu. Salah satu agen yang berperan dalam pembentukan fibrosis pada organ paru adalah amiodarone.³ Amiodarone dapat memicu cedera sel alveolar sehingga mengakibatkan infiltrasi sel inflamasi dan pelepasan sitokin *transforming growth factor β 1* (TGF- β 1).⁴ Sitokin ini akan merangsang diferensiasi fibroblast menjadi myofibroblast sehingga memicu sintesis kolagen dan menyebabkan fibrosis.⁵ Cedera sel akibat induksi amiodarone menyebabkan timbulnya stress oksidatif, dan bersifat kronis karena radikal bebas yang dihasilkan hanya dapat dihentikan ketika diberi antioksidan. Antioksidan ini akan memberi elektron yang dibutuhkan oleh radikal bebas tersebut sehingga kondisi stress oksidatif dapat dicegah

ataupun dikurangi. Antioksidan sendiri dapat diperoleh dari tubuh maupun dari luar tubuh. Antioksidan yang diperoleh dari tubuh seperti *Superoxide Dismutase* (SOD) dan *Catalase*.⁶

Statin memiliki efek anti-inflamasi, antiapoptosis dan antifibrotik.⁷ Efek antifibrotik pada statin disebabkan karena kemampuan statin dalam penghambatan ekspresi dari TGF- β 1 sehingga menghambat proses sintesis kolagen yang memicu pembentukan fibrosis.⁷⁻⁹ Senyawa statin seperti rosuvastatin berfungsinya menghambat *3-Hydroxy-3-methylglutaryl-Coenzim A Reductase* (HMG-CoA Reductase). Obat ini memiliki efek anti inflamasi serta antifibrotik dan digunakan sebagai terapi preventif untuk mencegah fibrosis paru.¹⁰ Oleh karena itu penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efek anti-fibrotik rosuvastatin terhadap kadar SOD dan persentase area serabut kolagen pada organ paru tikus model fibrosis paru.

Metode Penelitian

Sampel Hewan Model

Penelitian ini menggunakan 15 ekor tikus putih galur Wistar jantan berusia 10-12 minggu, berat badan 180-220 gram. Tikus dibagi dalam tiga kelompok perlakuan; K1: kontrol normal; K2: model fibrosis paru; K3: model fibrosis paru dengan terapi rosuvastatin 10 mg/kgBB selama 28 hari. Tikus dimodifikasi menjadi model fibrosis paru dengan pemberian amiodarone 40 mg/kgBB selama 28 hari. Dilakukan pengukuran berat badan secara berkala pada setiap minggu sampai hari ke-28. Penelitian ini telah memperoleh izin dari Komisi Etik Penelitian Kedokteran dan Kesehatan Fakultas Kedokteran

Universitas Tadulako dengan nomor: 6415/UN 28.1.30/KL/2022.

Pengukuran kadar SOD

Darah dari ventrikel kiri jantung sebanyak 1 cc, pengukuran kadar SOD menggunakan enzim SOD (BT Lab. Cat.No E0168Ra) dengan metode ELISA.

Pemeriksaan Histologi

Tikus diterminasi dan dinekropsi pada hari ke-28. Jaringan dibuat dalam blok paraffin dan dipotong dengan ketebalan 4 μ m. Pewarnaan jaringan menggunakan *Trichrome Mallory*. Pengamatan pada 5 lapang pandang dipilih secara acak dan tidak tumpang tindih dengan menggunakan mikroskop cahaya *Olympus CX23* perbesaran 400 $\times$ dengan perangkat lunak *optilab*. Hasil gambar akan dianalisis secara kuantitatif menggunakan perangkat lunak *ImageJ*.

Analisis Statistik

Data histologis dianalisis secara kuantitatif dengan menilai berat badan dan persentase area serabut kolagen menggunakan *Graphpad Prism 8.0.0*. Data berat badan dianalisis menggunakan uji parametrik *Repeated Measure Anova*. Data persentase area serabut kolagen dianalisis menggunakan uji non parametrik *Kruskal Wallis* dan uji lanjut *Mann Whitney*.

Hasil

Berat Badan Tikus Model

Data yang ditampilkan merupakan data pada tiap kelompok tikus dengan intervensi selama 28 hari. Data berat badan dapat dilihat pada gambar 1.

Berdasarkan gambar 1, tampak grafik dengan nilai berat badan awal yang berbeda pada tiap kelompok perlakuan. Semua kelompok perlakuan menunjukkan peningkatan berat badan dari H-0 sampai H-

28. Kelompok K1 dan K3 menunjukkan peningkatan berat badan dengan grafik stabil. Kelompok K2 menunjukkan peningkatan berat badan dengan grafik tampak landai pada H-7 sampai H-14 dan mengalami kenaikan yang pesat pada H-21 sampai H-28. Dilakukan uji normalitas *Shapiro Wilk* antar kelompok perlakuan dengan hasil data terdistribusi normal. Pada uji homogenitas menggunakan *Bartlett Test* antar kelompok perlakuan didapatkan hasil data yang homogen. Setelah itu dilakukan uji *Repeated Measure Anova*, didapatkan perbedaan berat badan yang tidak bermakna dari setiap kelompok ($p=0,2232$).

Kadar SOD

Rerata kadar *Superoxide Dismutase* perkelompok perlakuan dilakukan pengujian menggunakan uji *kruskal walis*. Dalam hal ini, hasil uji *kruskal walis* yang didapatkan sebesar $p=0.001$ (<0.05) sehingga dapat disimpulkan terdapat perbedaan yang signifikan antara ketiga kelompok, seperti yang tampak pada gambar 2. Ketiga kelompok tersebut kemudian dilakukan uji lanjut *post hoc Mann whitney* untuk melihat perbedaan bermakna atau signifikansi tersebut pada tiap kelompok perlakuan. Kelompok K1 dibandingkan K2 dengan nilai $p=0.0079$, Kelompok K1 dibandingkan K3 dengan nilai $p=0.3175$ dan Kelompok K2 dibandingkan K3 dengan nilai $p=0.0159$. Hasil uji *post hoc Mann Whitney* yang didapatkan memberikan informasi untuk perbandingan tiap kelompok. Kelompok K1 dibandingkan K2 dan Kelompok K2 dibandingkan K3 didapatkan perbedaan yang bermakna atau terdapat nilai yang signifikansi ($p<0.05$) sedangkan antara

Kelompok K1 dibandingkan K3 tidak terdapat perbedaan yang bermakna atau tidak terdapat nilai yang signifikansi ($p>0.05$).

Presentase Area Serabut Kolagen

Gambaran histopatologis paru pada seluruh kelompok dapat dilihat pada gambar 2. Persentase area serabut kolagen dapat dilihat pada tabel 1 dan gambar 3.

Gambar 3 menunjukkan gambaran histopatologis pada alveolus paru. Di antara alveolus yang saling berdekatan terdapat septum interalveolar tipis yang terdiri atas sebaran sel dan matriks ekstraseluler. Sel pada septum interalveolar terdiri atas pneumosit tipe I dan II, fibroblas, makrofag alveolar, serta eritrosit yang terakumulasi pada kapiler alveolus. Pewarnaan histologis pada septum interalveolar paru dengan menggunakan *trichrome mallory* akan menghasilkan warna biru yang menunjukkan area serabut kolagen, warna coklat tua yang menunjukkan pneumosit dan makrofag alveolar, serta warna merah yang menunjukkan kapiler alveolar. Pada gambar 2 (A) merupakan kelompok K1 atau kelompok normal yang menunjukkan area serabut kolagen pada septum alveolar yang sedikit. Pada gambar 2 (B) menunjukkan kelompok K2 yang merupakan kontrol negatif dengan area serabut kolagen pada septum interalveolar yang lebih luas bila dibandingkan ketiga kelompok lain. Gambar 2 (C) merupakan kelompok K3 yang diterapi dengan rosuvastatin. Area serabut kolagen pada septum interalveolar kelompok K3 tampak lebih sedikit dibanding kelompok K2 dan menyerupai kondisi normal pada kelompok K1.

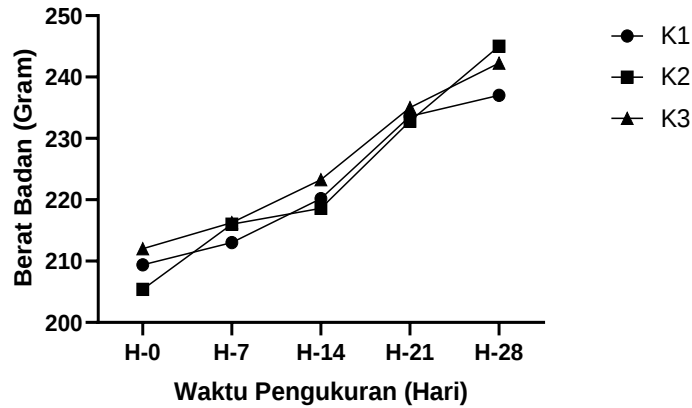
Berdasarkan tabel 1 dapat dilihat bahwa terdapat perbedaan rerata area serabut kolagen pada tiap kelompok perlakuan. Rerata area serabut kolagen pada masing-

masing kelompok didapatkan dari hasil analisis perangkat lunak *ImageJ* dengan hasil yaitu K1: $20,01 \pm 1,87$ %; K2: $28,92 \pm 5,25$ %; dan K3: $17,62 \pm 3,37$ %. Kelompok K2 atau kelompok kontrol negatif memiliki rerata persentase area yang paling besar. Kelompok K3 atau kelompok tikus fibrosis paru dengan terapi rosuvastatin memiliki rerata persentase area serabut kolagen yang paling kecil, data ini dapat dilihat pada gambar 4.

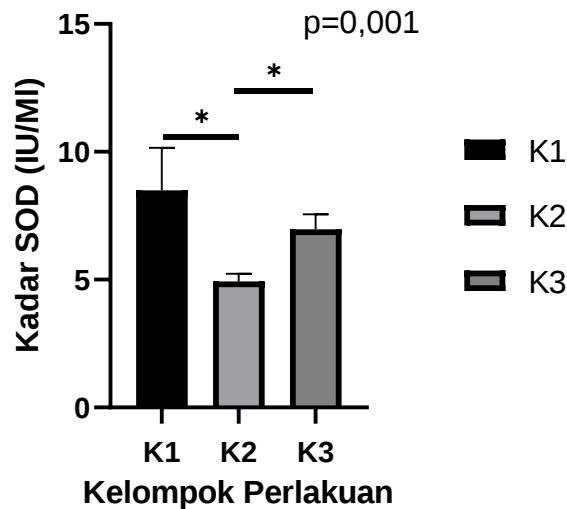
Pada uji normalitas *Shapiro Wilk* antar kelompok perlakuan didapatkan data tidak terdistribusi normal. Pada uji homogenitas menggunakan *Bartlett Test* antar kelompok perlakuan didapatkan hasil data yang tidak homogen. Setelah itu dilakukan uji non-parametrik menggunakan *Kruskal Wallis* dan didapatkan perbedaan area fibrosis bermakna dari setiap kelompok ($p<0,0001$). Kemudian dilakukan uji lanjut *post hoc Mann Whitney* dan didapatkan hasil yang berbeda signifikan antara kelompok K1 dan K2 ($p<0,0001$), K2 dan K3 ($p<0,0001$) serta K1 dan K3 ($p=0,0027$).

Pada uji normalitas *Shapiro Wilk* antar kelompok perlakuan didapatkan data tidak terdistribusi normal. Pada uji homogenitas menggunakan *Bartlett Test* antar kelompok perlakuan didapatkan hasil data yang tidak homogen. Setelah itu dilakukan uji non-parametrik menggunakan *Kruskal Wallis* dan didapatkan perbedaan area fibrosis bermakna dari setiap kelompok ($p<0,0001$). Kemudian dilakukan uji lanjut *post hoc Mann Whitney* dan didapatkan hasil yang berbeda signifikan antara kelompok K1 dan K2

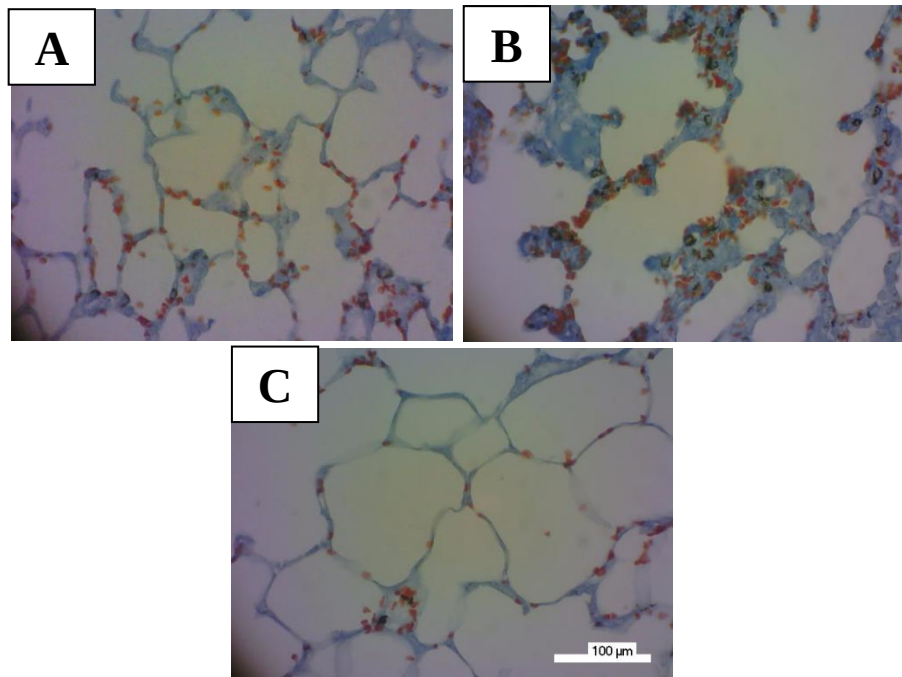
($p < 0,0001$), K2 dan K3 ($p < 0,0001$) serta K1 dan K3 ($p = 0,0027$).



Gambar 1. Grafik rerata berat badan tikus perkelompok perlakuan. Keterangan: K1: Kelompok tikus normal; K2: Kelompok tikus model fibrosis paru; K3: Kelompok tikus model fibrosis paru dengan terapi rosuvastatin. H-0: Sebelum pemberian intervensi; H-7: 7 hari pasca intervensi; H-14: 14 hari pasca intervensi; H-21: 21 hari pasca intervensi; H-28: 28 hari pasca intervensi.



Gambar 2. Diagram rerata kadar SOD tikus model fibrosis paru perkelompok perlakuan. Keterangan: K1: Kelompok tikus normal; K2: kelompok tikus model fibrosis paru; K3: kelompok tikus model fibrosis paru dengan terapi rosuvastatin. $* = p < 0,05$.

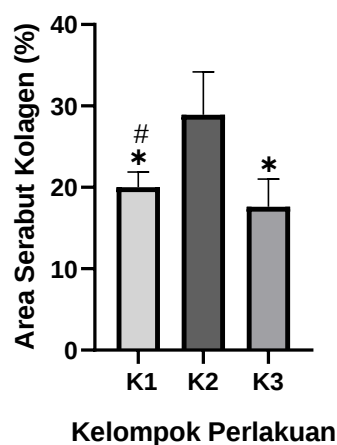


Gambar 3. Gambaran histopatologis fibrosis paru tikus model fibrosis dengan pewarnaan *trichrome mallory*. Perbesaran 400 kali dan skala 100 μ m. Keterangan: (A) Kelompok K1; (B) Kelompok K2; (C) Kelompok K3.

Tabel 1. Rerata area serabut kolagen paru tikus

Kelompok	Rerata area serabut kolagen (%)	Nilai p
K1	20,01 $\pm$ 1,87	<0,0001
K2	28,92 $\pm$ 5,25	
K3	17,62 $\pm$ 3,37	

Keterangan: K1: Kelompok tikus normal; K2: Kelompok tikus model fibrosis paru; K3: Kelompok tikus model fibrosis paru dengan terapi rosuvastatin.



Gambar 4. Grafik persentase area serabut kolagen. Keterangan: K1: Kelompok tikus normal; K2: Kelompok tikus model fibrosis paru; K3: Kelompok tikus model fibrosis paru dengan terapi rosuvastatin. Uji *Kruskal Wallis* $p < 0,0001$. Uji *post hoc Mann Whitney*: K1 vs K2 ($p < 0,0001$); K2 vs K3 ($p < 0,0001$); K1 vs K3 ($p = 0,0027$). *= $p < 0,05$ vs K2. #= $p < 0,05$ vs K3.

Pembahasan

Penelitian ini menggunakan tikus wistar yang dibuat model fibrosis paru menggunakan amiodarone. Amiodarone di metabolisme hati oleh enzim sitokrom P450 menjadi metabolit utamanya *desethylamiodaron* (DEA). Metabolit ini cenderung menumpuk pada jaringan adiposa dan organ perfusi seperti paru. Metabolit DEA menyerang sel secara langsung pada membran sel karena sifatnya yang amfipatik menyebabkan penghancuran struktur dan organel bermembran seperti mitokondria. Selain itu, DEA merupakan suatu inhibitor enzim fosfolipase A, bila enzim ini dihambat maka terjadi penumpukan fosfolipid dan memicu proses inflamasi. Kondisi tersebut dapat meningkatkan stres oksidatif, aktivasi sistem enzim angiotensin, proliferasi fibroblast dan deposisi kolagen dengan hasil akhir berupa fibrosis paru.^{5,11,12} Pemberian amiodarone jangka panjang dapat menyebabkan efek sitotoksik pada pneumosit tipe II. Efek sitotoksik yang memicu cedera terus menerus, maka jalur TGF- β yang fungsi normalnya sebagai respon fisiologis tubuh berubah menjadi respon patologis.¹³

Pengukuran berat badan didapatkan peningkatan pada semua kelompok dari minggu pertama sampai akhir secara stabil. Peningkatan berat badan terjadi akibat adanya peningkatan produksi *free fatty acid* dari penghambatan jalur glikolisis pada tahap asam sitrat diubah menjadi isositrat.¹⁴ Penggunaan amiodarone jangka panjang juga memberi pengaruh pada peningkatan berat badan, selain terjadi penumpukan *free fatty acid*, juga menyebabkan adanya aktivitas hipotiroidisme. Hipotiroidisme disebabkan adanya mekanisme umpan balik negatif dari kadar yodium di dalam darah.¹⁵ Peningkatan berat badan tikus bisa dikarenakan adanya peningkatan kadar kolagen pada paru serta penumpukan metabolit amiodarone pada darah dalam penelitian ini.^{16,17}

Terapi fibrosis paru dengan pemberian golongan statin terbukti menghambat enzim HMG-CoA reduktase sebagai katalis dari

metabolisme kolesterol. Katalis HMG CoA menghasilkan mevalonate sebagai prekursor kolesterol dapat membentuk fragmen RhoA yang bersifat proinflamasi dan memicu pembentukan fibrosis. Efek statin memberikan perlindungan pada paru terhadap toksisitas obat. Hal ini dibuktikan dengan tidak adanya perbedaan signifikan antara K1 dan K3. Alasan lain mengapa statin dapat memberikan tindakan preventif dikarenakan statin dapat menghambat inflamasi oleh NADPH Oksidase sehingga dapat menghambat terbentuknya radikal bebas superoksida yang dapat merusak sel dan memicu fibrosis paru.¹⁸

Perhitungan kadar SOD menunjukkan kelompok K1 dengan rerata kadar SOD paling tinggi diikuti dengan kelompok K3 dan K2. Hal ini dikarenakan pada kelompok K2 adanya peningkatan ROS tanpa diikuti peningkatan kadar antioksidan SOD, yang menyebabkan kadar SOD dalam darah menurun. Peningkatan aktivitas inflamasi juga menyebabkan kadar SOD menurun. Pada kelompok K3 terjadi peningkatan kembali kadar SOD setelah diberikan terapi berupa pemberian Rosuvastatin pada tikus model fibrosis paru. Walaupun secara statistika antara K1 dan K3 tidak menunjukkan signifikansi, tetapi secara klinis mampu kembali meningkatkan kadar SOD.¹⁹

Perbedaan yang signifikan pada persentase area serabut kolagen pada kelompok K1 dengan K2 ($p < 0,0001$), menunjukkan bahwa amiodarone memiliki efek terhadap pembentukan serabut kolagen pada paru tikus model fibrosis paru. Kerusakan oksidatif yang diinduksi oleh amiodarone dan metabolitnya disebabkan oleh peningkatan peroksidasi lipid di jaringan paru-paru. Peroksidasi lipid dan produknya akan menginduksi ekspresi

berlebih dari TGF- β 1 dan memicu diferensiasi fibroblast menjadi myofibroblast yang akan meningkatkan sintesis kolagen dan menurunkan aktivitas kolagenase.¹⁷ Terapi rosuvastatin mampu untuk menghambat proses pembentukan kolagen pada paru tikus yang diinduksi amiodarone. Kadar TGF- β 1 secara nyata dilemahkan oleh suplementasi rosuvastatin melalui peningkatan regulasi angiotensin II.⁷ Angiotensin II juga akan mengaktivasi *nuclear factor-kappa beta* (NF- κ B) yang merupakan faktor transkripsi penting dalam mengatur ekspresi sitokin selama proses inflamasi dan akan merespon langsung terhadap pembentukan stress oksidatif.²⁰ Pemberian rosuvastatin secara signifikan mengurangi kadar NF- κ B dalam sitoplasma dan menurunkan aktivasinya.²¹ Hasil ini menunjukkan bahwa terapi rosuvastatin secara klinis mampu untuk mengurangi sekresi kolagen pada paru tikus model fibrosis. Ekspresi kolagen tipe I setelah terapi statin mengalami penurunan, ini menunjukkan bahwa statin dapat menghambat pembentukan protein terkait fibrosis.⁹

Penutup

Rosuvastatin memberikan efek anti-fibrotik terhadap kadar SOD dan mampu menghambat deposisi serabut kolagen pada organ paru tikus wistar model fibrosis paru, namun tidak mempengaruhi berat badan tikus putih model fibrosis paru.

Penelitian ini dapat dilanjutkan dengan mengevaluasi pengukuran indeks massa, kadar hormon tiroid, hingga berbagai molekul terkait inflamasi pada tikus model fibrosis paru. Selain itu dapat pula membandingkan efek anti-fibrotik rosuvastatin dengan golongan statin lain pada tikus model fibrosis paru.

Ucapan Terima kasih

Kami mengucapkan terima kasih kepada LPPM Universitas Tadulako dan Fakultas Kedokteran Universitas Tadulako atas bantuan dana penelitian melalui Daftar ISisan Pelaksanaan Anggaran Tahun 2022 No. 3654/UN28/KP/2022.

Daftar Pustaka

1. Yu, Q.Y., Tang, X.X. Irreversibility of Pulmonary Fibrosis. *Aging Dis.* 2022;13(1):73-86.
2. Kunwar, A., Priyadarsini, K. I. Free radicals, Oxidative Stress and Importance of Antioxidants in Human Health. *J Med Allied Sci.* 2011;1(2):53-60.
3. Lederer, D.J., Martinez F.J. Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *N Engl J Med.* 2018;378(19):1811-1823.
4. Malaviya, R., Kipen, H. M., Businaro, R., Laskin J.D., Laskin, D.L. Pulmonary Toxicants and Fibrosis: Innate and Adaptive Immune Mechanisms. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2020;409:115272.
5. El-Mohandes E.M., Moustafa A.M., Khalaf H.A., Hasan, Y.F. The Role of Mast Cells and Macrophages in Amiodarone Induced Pulmonary Fibrosis and The Possible Attenuating Role of Atorvastatin. *Biotech Histochem.* 2017;92(7):467-480.
6. Darisan, K.N., Zaini, J., Yuniadi, Y. Amiodarone and its Pulmonal Toxicity. *Indonesian Journal of Cardiology.* 2013;34(2):113-25.
7. Nam, H.K., Lee S.J., Kim M.H., Rho, J.H., Son, Y.K., Lee, S.M., *et al.* Rosuvastatin Attenuates Inflammation, Apoptosis and Fibrosis in A Rat Model of Cyclosporine-Induced Nephropathy. *Am J Nephrol.* 2013;37(1):7-15.

8. Gibb, A.A., Lazaropoulos, M.P., Elrod J.W. Myofibroblasts And Fibrosis: Mitochondrial and Metabolic Control of Cellular Differentiation. *Circ Res*. 2020;127(3):427-447.
9. Bao, J.W., Sun, B., Ma, P.P., Gai, Y.S., Sun, W.Z., Yu, H.Q., *et al*. Rosuvastatin Inhibits Inflammatory Response and Resists Fibrosis After Myocardial Infarction. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2018;22(1):238-245.
10. Simatupang, A. Monograf Statin (HMG-COA Reductase Inhibitor): Bukti Terbaru Pengalaman Penggunaannya. Edisi Kedua. Jakarta: *Fakultas Kedokteran Universitas Kristen Indonesia*. 2020
11. Niu, C.H., Wang, Y, Liu J.D., Wang, J.L., Xiao, J.H. Protective Effects of Neferine on Amiodarone-Induced Pulmonary Fibrosis in Mice. *Eur J Pharmacol*. 2013;714(1-3):112-119.
12. Sweidan, A.J., Singh N.K., Dang, N., Lam, V., Datta, J. Amiodarone-Induced Pulmonary Toxicity - A Frequently Missed Complication. *Clin Med Insights Case Rep*. 2016;9:91-94.
13. Kang, H. *Role of microRNAs in TGF- β signaling pathway-mediated pulmonary fibrosis*. *Int J Mol Sci*. 2017;18(12):2527.
14. Bhardwaj, V., He, J. Reactive Oxygen Species, Metabolic Plasticity, and Drug Resistance in Cancer. *Int J Mol Sci*. 2020;21(10):3412.
15. Jiang, L.Q., Chen, S.J., Xu, J.J., Ran, Z., Ying, W., Zhao, S.G. Dronedarone and Amiodarone Induce Dyslipidemia and Thyroid Dysfunction in Rats. *Cel Physiol Biochem*. 2016;38(6):2311–2322.
16. Mshimesh, B. A. R. Antifibrotic activity of mesna against amiodarone-associated lung injury in Wistar rats. *Asian J Pharm Clin Res*. 2019;12(1):491-496.
17. El-Din, A.A.S., Abd Allah, O.M. Impact of Olmesartan Medoxomil on Amiodarone-Induced Pulmonary Toxicity in Rats: Focus on Transforming Growth Factor- β 1. *Basic clin pharm toxicol*. 2016;119(1):58-67.
18. Kou, L., Kou, P., Luo, G., Wei, S. Progress of Statin Therapy in the Treatment of Idiopathic Pulmonary Fibrosis. *Oxid Med Cell Longev*. 2022;6197219.
19. Mshimesh, B.A.R. Antifibrotic activity of mesna against amiodarone-associated lung injury in Wistar rats. *Asian J Pharm Clin Res*. 2019;12(1):491-496.
20. Lijnen, P.J., Van Pelt, J.F., Fagard, R.H. Stimulation of reactive oxygen species and collagen synthesis by angiotensin II in cardiac fibroblasts. *Cardiovasc Ther*. 2012;30(1):1-8.
21. Olteanu, D., Nagy, A., Dudea, M., Filip, A., Muresan, A., Catoi, C., Dkk. Hepatic and Systemic Effects of Rosuvastatin on An Experimental Model of Bile Duct Ligation in Rats. *J Physiol Pharmacol*. 2012;63(5):483-96.

