

BUKU REFERENSI



SPIKE PROTEIN SARS-COV-2 & PENYAKIT KARDIOVASKULAR



MEITY ARDIANA

TEORI DAN APLIKASI

**PENELITIAN KARDIOVASKULAR
MENGUNAKAN SPIKE PROTEIN
SARS-COV-2**

BUKU REFERENSI

**SPIKE PROTEIN SARS-COV-2
& PENYAKIT
KARDIOVASKULAR**

Pasal 113 Undang-Undang Nomor 28 Tahun 2014 tentang Hak Cipta:

- (1) Setiap Orang yang dengan tanpa hak melakukan pelanggaran hak ekonomi sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf i untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 1 (satu) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp100.000.000 (seratus juta rupiah).
- (2) Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf c, huruf d, huruf f, dan/atau huruf h untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 3 (tiga) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp500.000.000,00 (lima ratus juta rupiah).
- (3) Setiap Orang yang dengan tanpa hak dan/atau tanpa izin Pencipta atau pemegang Hak Cipta melakukan pelanggaran hak ekonomi Pencipta sebagaimana dimaksud dalam Pasal 9 ayat (1) huruf a, huruf b, huruf e, dan/atau huruf g untuk Penggunaan Secara Komersial dipidana dengan pidana penjara paling lama 4 (empat) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp1.000.000.000,00 (satu miliar rupiah).
- (4) Setiap Orang yang memenuhi unsur sebagaimana dimaksud pada ayat (3) yang dilakukan dalam bentuk pembajakan, dipidana dengan pidana penjara paling lama 10 (sepuluh) tahun dan/atau pidana denda paling banyak Rp4.000.000.000,00 (empat miliar rupiah).

BUKU REFERENSI

**SPIKE PROTEIN SARS-COV-2
& PENYAKIT
KARDIOVASKULAR**

MEITY ARDIANA



BUKU REFERENSI
SPIKE PROTEIN SARS-COV-2 &
PENYAKIT KARDIOVASKULAR

Meity Ardiana

ISBN 978-602-473-930-0 (PDF)

© 2022 Penerbit **Airlangga University Press**

Anggota IKAPI dan APPTI Jawa Timur
Kampus C Unair, Mulyorejo Surabaya 60115

Telp. (031) 5992246, 5992247

E-mail: adm@aup.unair.ac.id

Redaktur (Sarah Khairunnisa)

Layout (Achmad Tohir S.)

AUP (1287/02.23)

Hak Cipta dilindungi oleh undang-undang.

Dilarang mengutip dan/atau memperbanyak tanpa izin tertulis
dari Penerbit sebagian atau seluruhnya dalam bentuk apa pun.

Prakata

Puji Syukur selalu kami panjatkan kepada Tuhan Yang Maha Esa karena dengan limpahan rahmat serta karunia-Nya, kami dapat menyelesaikan sebuah buku yang kami dedikasikan untuk kemajuan ilmu pengetahuan terutama di bidang kardiovaskular dengan judul “*Spike Protein SARS-CoV-2 & Penyakit Kardiovaskular*”. Buku ini membahas berbagai pengetahuan baru tentang pentingnya hubungan antara penyakit COVID-19 dengan faktor risiko komorbiditas penyakit kardiovaskular yang telah terbukti memperberat gejala COVID-19.

Di bidang kardiovaskular, kemunculan virus baru SARS-CoV-2 telah berdampak secara nyata pada tingkat morbiditas dan mortalitas pasien dengan komorbid penyakit kardiovaskular. Tenaga medis masih membutuhkan pengetahuan lebih banyak tentang apa dan bagaimana virus SARS-CoV-2 mampu menginfeksi dan memperberat gejala pasien dengan penyakit kardiovaskular. Modalitas terapi di bidang kardiovaskular seperti ACE inhibitor dan ARB juga telah diperdebatkan dapat memperparah gejala COVID-19 karena potensinya dalam meningkatkan reseptor ACE2. Di lain sisi, Obat-obatan yang bekerja pada sistem Renin-Angiotensin-Aldosteron (RAA) mampu menekan respons inflamasi dan menghambat badai sitokin yang menyebabkan COVID derajat berat. Meskipun demikian, diperlukan alasan yang rasional dan penelitian lebih lanjut untuk membuktikan bahaya dan manfaat penggunaan modalitas terapi kardiovaskular yang aman pada penderita COVID-19.

Selain kajian teoritis, buku ini juga menyajikan bukti ilmiah berdasarkan penelitian yang kami lakukan untuk membuktikan peran obat golongan ACEi dan ARB terhadap sel adiposit yang telah diinfeksi oleh SARS-CoV-2 Spike Protein. Temuan positif yang kami dapatkan semakin menguatkan argumen

bahwa pengobatan dengan menggunakan Perindopril (ACEi) dan Losartan (ARB) mampu menekan inflamasi dan mencegah perburukan derajat COVID-19.

Di dalam menulis buku ini, kami sadar bahwa kami tidak akan bisa menyelesaikannya tanpa ada bantuan dari berbagai pihak. Ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya kami sampaikan kepada kontributor yang telah menyumbangkan energi dan pikirannya didalam penyusunan buku ini sehingga buku ini dapat menjadi karya yang mudah dipahami dan dibaca.

Sebagai manusia kami sadar bahwa buku yang kami buat masih belum pantas disebut sebagai sebuah karya yang sempurna. Kami sadar tulisan kami masih banyak memiliki kesalahan. Baik dari tata bahasa maupun teknik penulisan itu sendiri. Maka kami meminta adanya masukan yang membangun agar kami semakin termotivasi untuk menjadi lebih baik dan lebih memperbaiki kualitas buku kami selanjutnya.

Surabaya, 15 Desember 2022

Daftar Isi

v	Prakata	
ix	Daftar Gambar	
xi	Daftar Singkatan	
1	BAB_1 Pendahuluan	
	1. Sejarah COVID-19	1
	2. Epidemiologi COVID-19	2
	3. Efek pada Kesehatan, Ekonomi, dan Sosial	4
	4. COVID-19 dan Penyakit Kardiovaskular	5
	5. Perkembangan Tata Laksana dan Penelitian COVID-19 dengan Komorbid Penyakit Kardiovaskular	8
13	BAB_2 Patomekanisme COVID-19 dan Penyakit Kardiovaskular	
	1. Penyakit Kardiovaskular Pada COVID-19	13
	2. Patomekanisme Hipertensi Pada COVID-19	17
	3. Patomekanisme Gangguan Koagulasi Pada COVID-19	21
25	BAB_3 Spike Protein SARS-CoV-2	
	1. Peran spike protein SARS-CoV-2 dalam infeksi	25
	2. Jenis Spike Protein SARS-CoV-2	27
	3. Penggunaan Spike Protein SARS-CoV-2 sebagai Model COVID-19 dalam Penelitian	29

33

BAB_4 Angiotensin Converting Enzyme 2

1. Angiotensin-converting enzyme-2 (ACE2) 33
2. Fungsi Fisiologis ACE2 34
3. Peran ACE2 pada Penyakit Kardiovaskular 36
4. Peran ACE2 pada Infeksi COVID-19 39
5. Pengaruh Obat-Obatan Golongan ACEI/ARB pada ACE2 40

43

BAB_5 Pengaruh Perindopril pada Derajat Keparahan COVID-19 dan Gangguan Koagulasi pada Obesitas

1. Perindopril dan Obesitas di Masa Pandemi COVID-19 43
2. Peran Obesitas pada Kasus COVID-19 dengan Gejala Berat 46
3. Peran ACE2 dalam Patomekanisme SARS-CoV-2 47
4. Peran IL-6 yang Diproduksi Adiposit pada Infeksi SARS-CoV-2 48
5. Potensi Obat Kardiovaskular pada Infeksi SARS-CoV-2 49
6. Metode Penelitian Eksperimental Pemberian Perindopril 50
7. Prosedur Persiapan SARS-CoV-2 S1 *Spike Protein* hingga Pengukuran Variabel 50
8. Pengukuran ekspresi ACE2 dan IL-6 dan Analisis Data Penelitian 51
9. Optimasi Metode Isolasi dan Kultur Adiposit dari Jaringan Lemak 52
10. Teknik Pengukuran Nilai *Baseline* ACE2 dan IL-6 pada Adiposit 54
11. Optimasi Metode Infeksi *Spike Protein* SARS-CoV-2 pada Adiposit 54
12. Optimasi Metode dan Dosis Paparan Perindopril, Losartan dan Digoksin pada Adiposit 55
13. Hasil Penelitian Perindopril 56
14. *Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor* (ACEi) Memodulasi ACE2 57
15. Pencegahan Komplikasi Trombotik dengan Pemberian *Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor* (ACEi) 58

61

BAB_6 Pengaruh Pemberian Losartan pada Derajat Keparahan COVID-19 dan Gangguan Koagulasi

1. Ekspresi PAI-1 dan TF sebagai Penanda Hiperkoagulasi pada COVID-19 61
2. Metode ELISA untuk Pemeriksaan Ekspresi PAI-1 dan TF 63
3. Losartan Memengaruhi Kadar ACE2, TF dan PAI-1 63
4. Kemampuan *Angiotensin Receptor Blocker* (ARB) memodulasi ACE2 pada COVID-19 65
5. Pencegahan Komplikasi Trombotik dengan Pemberian ARB 65

67

Daftar Pustaka

Daftar Gambar

- 7** **GAMBAR 1.1**
Interaksi antara komorbiditas penyakit kardiovaskular dengan infeksi COVID-19.
- 10** **GAMBAR 1.2**
Perbedaan hipotesis pemberian ACEi dan ARB pada COVID-19.
- 14** **GAMBAR 2.1**
Mekanisme yang mendasari cedera kardiovaskular yang disebabkan oleh infeksi SARS-CoV-2.
- 18** **GAMBAR 2.2**
Renin-Angiotensin System (RAS).
- 20** **GAMBAR 2.3**
Patomekanisme Hipertensi dan COVID-19.
- 21** **GAMBAR 2.4**
Peradangan yang diinduksi SARS-CoV-2.
- 22** **GAMBAR 2.5**
Patomekanisme peradangan dan aktivasi sel endotel, trombosit, dan komplemen pada koagulopati yang diinduksi COVID-19.
- 26** **GAMBAR 3.1**
Proses pengikatan RBD spike protein pada reseptor ACE2 sel.
- 27** **GAMBAR 3.2**
Proses fusi membran virus dengan membran sel inang.
- 29** **GAMBAR 3.3**
Struktur SARS-CoV-2 Spike Protein a. Representasi skematis dari SARS-CoV-2 spike protein; b-c. RBD protein S dengan status tertutup dan terbuka; d. Protein S berikatan dengan ACE2 dengan RBD yang terbuka di subunit S1; dan e. Struktur enam heliks yang dibentuk oleh HR1 dan HR2 dari subunit S2.

- 30** **GAMBAR 3.4**
Protein spike SARS-CoV-2 memediasi jalur transduksi pensinyalan melalui reseptor ACE2.
- 34** **GAMBAR 4.1**
Regulasi ACE-2.
- 38** **GAMBAR 4.2**
Mekanisme ACE2 pada penyakit kardiovaskular.
- 39** **GAMBAR 4.3**
Patomekanisme kerusakan jaringan akibat infeksi SARS-CoV-2 melalui ACE2.
- 47** **GAMBAR 5.1**
Patomekanisme kerusakan jaringan akibat infeksi SARS-CoV-2 melalui ACE2.
- 53** **GAMBAR 5.2**
Prosedur Isolasi sel lemak. (A) Proses lisis jaringan lemak (B) Hasil isolasi adiposit (C) Proses *seeding* adiposit pada *well* (D) Proses inkubasi dan ekspansi adiposit.
- 54** **GAMBAR 5.3**
Hasil Optimasi Metode Isolasi Sel Lemak. (A) Hari ke-1 kultur sel adiposa (B) Hari ke-7 kultur sel adiposa (C) Pembuktian keberhasilan kultur sel adiposa dengan pengecatan *Oil Red O*.
- 56** **GAMBAR 5.4**
Kultur Sel Adiposit pasca-paparan. (P0) Kontrol negatif; (P1) Kontrol positif; (P2) SARS-CoV-2 *spike protein* + paparan antibodi anti-ACE2 100 µg/mL; (P3) SARS-CoV-2 *spike protein* + paparan perindopril dengan dosis 0.5 µM; (P4) SARS-CoV-2 *spike protein* + paparan losartan dengan dosis 0.7 µM; (P5) SARS-CoV-2 *spike protein* + paparan digoxin pada dosis 0.15 µM.

Daftar Singkatan

ACE	: <i>Angiotensin converting enzyme</i>
ACEi	: <i>Angiotensin converting enzyme inhibitor</i>
ARB	: <i>Angiotensin Receptor Blocker</i>
RAAS	: <i>Renin Angiotensin Aldosteron System</i>
VOI	: <i>Variants of Interest</i>
VOCs	: <i>Variants of Concern</i>
PTSD	: <i>Post Traumatic Stress Disorder</i>
SKA	: <i>Sindroma Koroner Akut</i>
CRP	: <i>C reactive Protein</i>
ICU	: <i>Intensive Care Unit</i>
IL-6	: <i>Interleukin 6</i>
TNF- α	: <i>Tumor Necrosis Factor-α</i>
PT	: <i>Prothrombin Time</i>
APTT	: <i>Activated Partial Thromboplastin Time</i>
Ang	: <i>Angiotensin</i>
NO	: <i>Nitrit Oxide</i>
ROS	: <i>reactive oxygen species</i>
eNOS	: <i>endotel nitric oxide sintase</i>
vWF	: <i>von Willebrand factor</i>
NET	: <i>neutrophil extracellular traps</i>
PG	: <i>prostaglandin</i>
ET	: <i>endothelin</i>
TXA ₂	: <i>thromboxane A₂</i>
EC	: <i>Endothelial Cells</i>

PAI-1	: <i>plasminogen activator inhibitor-1</i>
ARDS	: <i>Acute Respiratory Distress Syndrome</i>
tPA	: <i>tissue-type plasminogen activator</i>
PAI-1	: <i>Plasminogen activator inhibitor-1</i>
DIC	: <i>Disseminated Intravascular Coagulation</i>
HARI	: <i>heptad repeat</i>
HB	: <i>helix bundle</i>
RBD	: <i>Receptor Binding Domain</i>
TMPRSS2	: <i>Transmembrane Protease Serine 2</i>
NTD	: <i>N Terminal Domain</i>
CTD	: <i>C Terminal Domain</i>
FP	: <i>Fusion Peptide</i>
IFP	: <i>internal fusion peptide</i>
NRP1	: <i>Neuropilin-1</i>
FNDC4	: <i>Fibronectin Type III Domain Containing 4</i>
mACE2	: <i>membrane ACE2</i>
ADAM17	: <i>ADAM Metallopeptidase Domain 17</i>
sACE2	: <i>soluble ACE2</i>
SARS	: <i>severe acute respiratory syndrome</i>
MMP	: <i>matriks metalloproteinase</i>
TGF- β	: <i>transforming growth factor-β</i>
NADPH	: <i>nicotinamide adenine dinucleotide phosphate</i>
rhACE2	: <i>Recombinant human ACE2</i>
TLR	: <i>Toll Like Receptor</i>
hBMVECs	: <i>human brain microvascular endothelial cells</i>
α -MEM	: <i>Alpha-Minimum Essential Medium</i>
PRP	: <i>platelet rich plasma</i>
DMEM	: <i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>

Pendahuluan

1. SEJARAH COVID-19

Dunia telah dikejutkan dengan kemunculan kasus pneumonia misterius pada bulan Desember tahun 2019, di Wuhan, provinsi Hubei. Ketakutan terhadap munculnya kasus *outbreak* yang sama seperti tahun 2003 telah membuat masyarakat panik dan menimbulkan kekacauan di berbagai belahan dunia. Sejak itulah mulai dikenal sebuah penyakit baru dengan sebutan Coronavirus 2019 (COVID-19) akibat virus *Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2* (SARS-CoV-2) per tanggal 11 Februari 2020 oleh WHO. Wabah yang awalnya dinamai 2019 Novel Coronavirus (2019-nCoV) itu berhasil menyebabkan krisis kesehatan, kelumpuhan ekonomi dan permasalahan sosial hampir di seluruh dunia.^{1,2}

Temuan kasus COVID-19 bermula ketika 5 kasus sindrom gangguan pernapasan akut pertama kali muncul ke permukaan pada tanggal 31 Desember hingga 3 Januari 2020. Secara epidemiologi, kelima kasus tersebut berhubungan dengan sebuah pasar ikan dan hewan di Wuhan, Provinsi Hubei, Cina.¹ Tidak lama, kasus yang sama terus bertambah hingga didapatkan setidaknya 41 kasus terkonfirmasi COVID-19. Menariknya, setengah dari pasien tersebut memiliki

penyakit penyerta (komorbiditas), salah satunya adalah penyakit kardiovaskular. Hal ini juga menjadi bukti bahwa adanya faktor komorbid mampu meningkatkan angka morbiditas pada pasien COVID-19.³

Penyebaran COVID-19 dari manusia ke manusia lain masih terus berlangsung hingga saat ini, setelah sebelumnya ditemukan mutasi baru yang menjadi perhatian besar peneliti dan masyarakat dunia. Pada akhir tahun 2020, kemunculan varian baru COVID-19 telah menyebabkan lonjakan kasus baru di berbagai negara di dunia. *World Health Organization* (WHO) membuat karakterisasi varian virus baru yang muncul menjadi *Variants of Interest* (VOI) dan *Variants of Concern* (VOCs). Pengelompokan tersebut digunakan untuk memprioritaskan pemantauan dan penelitian global, sehingga mampu mencegah munculnya gelombang pandemi COVID-19 susulan, ditengah-tengah pemulihan ekonomi dan sistem kesehatan global.⁴

Baru-baru ini, varian terbaru Omicron yaitu Omicron BA.4 dan BA.5 diketahui memiliki tingkat infeksi yang lebih cepat, dan diduga menurunkan efektivitas vaksin yang telah diberikan sebelumnya. Varian BA.4 secara resmi dideteksi dari sebuah spesimen yang didapatkan pada tanggal 10 Januari 2022 di Limpopo, Afrika selatan.⁵ Varian BA.5 menyusul dan terdeteksi pertama kali di KwaZulu-Natal, Afrika selatan, pada tanggal 25 Februari 2022. Varian BA.4 dan BA.5 diketahui memiliki kemampuan dalam menetralisasi antibodi vaksin 5 kali lebih besar dibanding varian BA.1. Alasan tersebut menjawab peningkatan lonjakan kasus terkonfirmasi di Afrika selatan pada pertengahan bulan April 2022 lalu.⁴

2. EPIDEMIOLOGI COVID-19

Virus SARS-CoV-2, penyebab pandemi global COVID-19, menjadi tiga dari tujuh keluarga CoV paling mematikan yang pernah ditemukan umat manusia dalam 20 tahun terakhir. Ketiga virus tersebut diketahui mampu mengecoh sistem pertahanan alami tubuh dan menyebabkan pneumonia mematikan pada manusia. SARS-CoV-2 juga menjadi virus dengan kemampuan evolusi yang cepat, sehingga memiliki kemampuan beradaptasi sebagai upaya mempertahankan diri.⁶

Data epidemiologi mingguan terbaru menyebutkan kemunculan 6,737,389 kasus baru per tanggal 13-20 Juli 2022, dengan total 12,547 kematian baru di seluruh dunia. Total kasus terkonfirmasi hingga saat ini mencapai 565,207,160 dengan angka

kematian mencapai 6,373,739 di seluruh dunia.⁷ Meskipun kasus COVID-19 berangsur-angsur mulai terkontrol, dunia saat ini tengah bersiap-siap menghadapi gelombang kejutan yang disebabkan oleh kemunculan berbagai varian baru.⁴

Menurut data yang dirilis WHO, regio Asia bagian tenggara yang terdiri dari 11 negara yaitu Bangladesh, Bhutan, Democratic People’s Republic of Korea, India, Indonesia, Maldives, Myanmar, Nepal, Sri Lanka, Thailand, dan Timor-Leste, menyumbang 10% (59,076,731) dari total angka terkonfirmasi di seluruh dunia. Angka kematian pada regio yang sama diketahui sebesar 791,463 jiwa dan menyumbang setidaknya 12% dari total angka kematian akibat COVID-19 di seluruh dunia.⁷ Indonesia sebagai negara dengan penduduk terbesar ke-4 di dunia, sekaligus menjadi negara berkembang dengan populasi terbesar di Asia tenggara, memiliki angka kasus terkonfirmasi COVID-19 sebesar 6,154,494 dengan total kematian sebesar 156,880 jiwa.⁷ Data tersebut terus berubah dan telah mengalami penurunan kasus baru mingguan seiring dengan perkembangan pengetahuan mengenai COVID-19 dan distribusi vaksin di seluruh dunia.⁷

Seperti yang telah dijelaskan sebelumnya, pasien dengan penyakit penyerta kardiovaskular seperti sindrom koroner akut dan gagal jantung kongestif telah terbukti meningkatkan morbiditas dan mortalitas pasien COVID-19 di seluruh dunia.⁸ Penelitian yang dilakukan pada 5700 pasien COVID-19, menunjukkan kejadian hipertensi (56,6%), penyakit arteri koroner (11,1%) dan gagal jantung

TABEL 1.1 Perbandingan pengaruh komorbiditas terhadap *Case Fatality Rate* (CFR) masing-masing penyakit pernafasan akut.¹²

Keterangan	COVID-19	Influenza	SARS	MERS
Regio geografis	China	Dunia	Hongkong	Timur tengah, Eropa
CFR	2,3%	0,1%	10%	35%
Dengan faktor risiko	-	-	-	-
Diabetes mellitus	OR 9,07	OR 0,59	HR 4,6	-
Hipertensi	OR 7,39	OR 3,53	-	-
Penyakit kardiovaskular	OR 13,64	OR 1,97	HR 9,2	-
Obesitas	-	OR 2,74	-	-
Penyakit paru kronis	OR 7,74	OR 1,80	-	-
Kanker	OR 6,68	OR 2,67	-	-

kongestif (6,9%) sebagai komorbiditas umum yang paling sering menyertai kasus terkonfirmasi COVID-19.⁹ Studi lain melaporkan adanya peningkatan risiko kematian lima kali lipat pada pasien dengan komorbid penyakit kardiovaskular (10,5% vs 2,3%).¹⁰ Oleh karena itu, dampak COVID-19 terhadap sistem kardiovaskular tidak boleh diremehkan, seiring dengan peningkatan bukti-bukti terbaru yang melaporkan beberapa kejadian komplikasi seperti miokarditis (7–17%), gagal jantung (24%), aritmia (17%) dan komplikasi trombotik (31%), yang diidentifikasi pada pasien COVID-19 yang dirawat di rumah sakit.¹¹

3. EFEK PADA KESEHATAN, EKONOMI, DAN SOSIAL

Dampak pandemi COVID-19 telah menyebabkan kelumpuhan di berbagai sektor, terutama sektor ekonomi dan sosial. Sektor kesehatan sebagai garda terdepan penanganan pandemi nampaknya dipertaruhkan dan sedang bertahan dalam ketidakpastian akibat minimnya pengetahuan dan pengalaman pada kasus baru COVID-19. Sistem kesehatan terus mengalami adaptasi dan perubahan strategi untuk menghindari jatuhnya sektor kesehatan yang disebabkan ketidakseimbangan tenaga medis dan pelayan medis akibat peningkatan kasus COVID-19. Darurat COVID-19 juga mengakibatkan risiko krisis di berbagai sektor yang mendorong pemerintah di seluruh dunia untuk bersiap guna terhindar dari jatuhnya sektor-sektor krusial terutama kesehatan, ekonomi dan sosial.¹³

Salah satu contoh negara terdampak adalah negara Brazil yang menunjukkan kolapsnya sistem kesehatan, dibuktikan dengan tingkat keterisian ICU sebesar 90% pada bulan Maret 2021. Sementara itu, sebuah studi retrospektif terhadap 250.000 pasien COVID-19 yang dirawat di rumah sakit Brazil menunjukkan 80% pasien yang membutuhkan ventilasi invasif dinyatakan telah meninggal. Angka tersebut lebih tinggi dari rata-rata tingkat kematian di dunia.¹⁴ Dampak kesehatan juga lebih dirasakan pada kelompok rentan yang memiliki risiko infeksi lebih tinggi dan gejala COVID-19 berat.¹⁵ Angka mortalitas dan morbiditas yang tinggi dalam waktu cepat menyebabkan gangguan terhadap sistem kesehatan secara umum yang berakhir dengan jatuhnya sistem kesehatan.¹⁶

Berbagai kebijakan yang muncul sebagai tindakan yang diambil untuk mencegah perluasan infeksi adalah *social distancing*, *lockdown* dan karantina wilayah,

menyebabkan terhambatnya perkembangan sektor ekonomi dan gangguan interaksi sosial yang menimbulkan permasalahan baru di seluruh dunia.¹⁷ Pandemi juga memicu ketakutan dan kecemasan yang hebat, akibat guncangan ekonomi dan kemunculan resesi ekonomi di seluruh dunia. Hilangnya pekerjaan, pendapatan jutaan orang, pembatasan kegiatan ekonomi, penghentian produksi dan distribusi, turunnya konsumsi masyarakat, hambatan penjualan barang dan jasa, serta ketidakpastian pasar dan hilangnya sektor pekerjaan/sektor yang lebih informal, telah menjadi bukti permasalahan ekonomi dan dampak riil krisis ekonomi dunia yang disebabkan oleh pandemi COVID-19.¹⁸

Para ahli ekonom juga telah memperkirakan bahwa pandemi COVID-19 akan memperlambat Pertumbuhan Produk Domestik Bruto (PDB) sebesar satu setengah poin persentase untuk tahun 2020, yang dirasakan oleh seluruh negara di dunia (dari 2,9% menjadi 2,4%).¹⁹ Kondisi ini membuat *The World Trade Organization* (WTO) dan *Organization for economic cooperation and development* (OECD) mengakui fakta bahwa pandemi COVID-19 menjadi permasalahan ekonomi terbesar yang terjadi di dunia sejak darurat finansial yang terjadi pada tahun 2008-2009.²⁰

4. COVID-19 DAN PENYAKIT KARDIOVASKULAR

Penyakit kardiovaskular menjadi salah satu penyakit penyerta paling umum yang ditemukan pada kasus COVID-19. Data komorbiditas pasien COVID-19 di Italia menunjukkan sebanyak 59,7% kasus COVID-19 memiliki komorbid hipertensi. Prevalensi hipertensi juga ditemukan lebih tinggi pada pasien COVID-19 kritis yang meninggal di *Intensive Care Unit* (ICU) dibandingkan dengan pasien yang berhasil melewati fase kritis di ICU.²¹ Penelitian di Wuhan, Cina menunjukkan peningkatan risiko mortalitas pada pasien COVID-19 dengan komorbid penyakit kardiovaskular (10,5%) dan hipertensi (6,0%).²²

Salah satu komplikasi kardiovaskular akibat COVID-19 yang paling ditakutkan adalah gangguan hiperkoagulabilitas. Hiperkoagulabilitas juga menjadi salah satu gangguan kardiovaskular terpenting pasca-infeksi COVID-19. Studi menunjukkan adanya penurunan kadar antitrombin III secara signifikan, namun kadar D-dimer dan fibrinogen justru meningkat pada pasien yang terkonfirmasi COVID-19. Angka mortalitas meningkat seiring dengan peningkatan D-dimer

TABEL 1.2 Persentase jumlah komorbiditas pada pasien COVID-19.²⁴

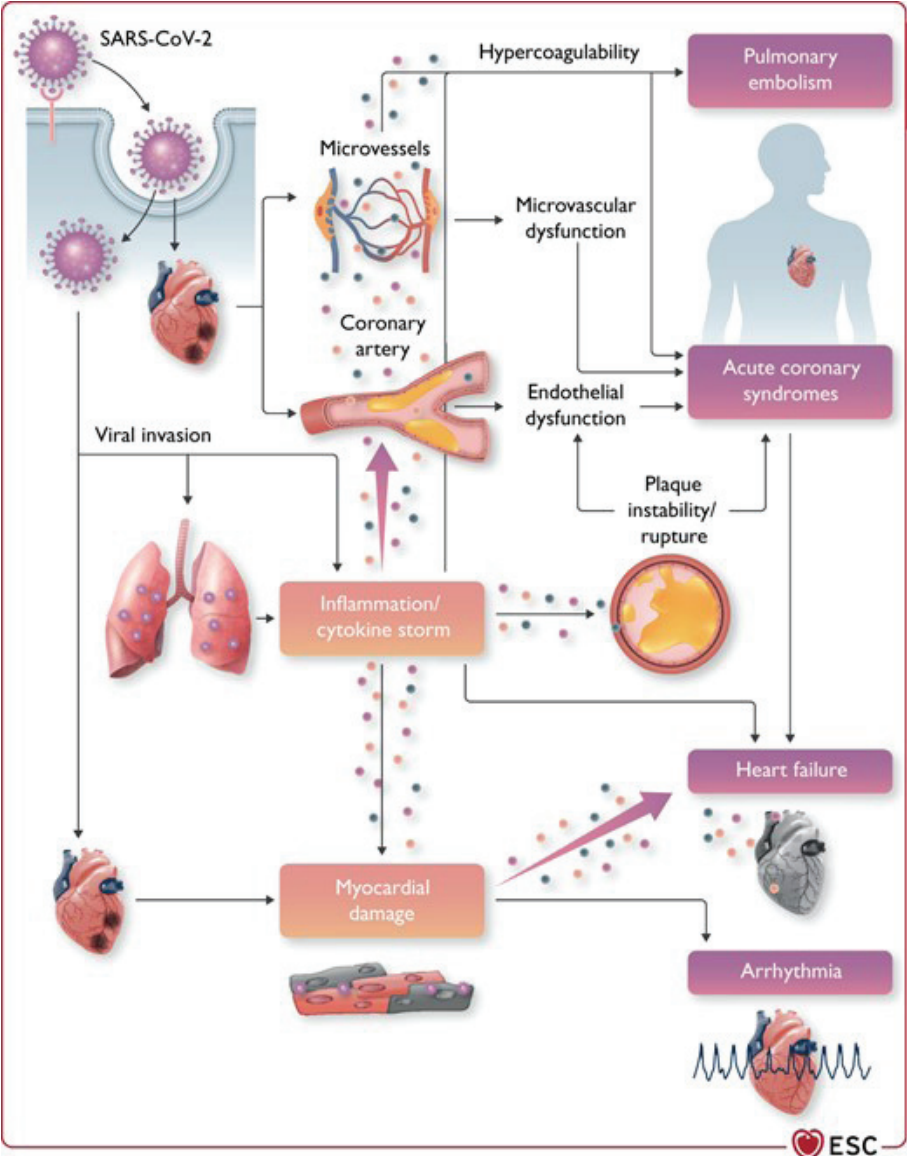
No.	Komorbiditas	Persentase Jumlah kasus
1	> 1 Komorbiditas	39%
2	Hipertensi	22%
3	Penyakit Kardiovaskular	21%
4	Diabetes Mellitus	16%
5	Kanker	9%
6	Penyakit serebrovaskular	8%
7	Penyakit saluran napas	7%
8	PPOK	4%
9	Penyakit ginjal	4%
10	Imunodefisiensi	1-2%
11	Obesitas	18%

dan kadar *fibrin degradation products* (FDP). Hal tersebut menunjukkan bahwa gangguan aktivasi sistem koagulasi dan disfungsi endotel merupakan dampak dari proses inflamasi sistemik akibat infeksi COVID-19 yang berhubungan dengan inflamasi vaskular.²³

COVID-19 juga terbukti memperburuk komorbiditas kardiovaskular yang telah terkontrol baik dengan pengobatan rutin sebelumnya. COVID-19 berkontribusi memicu ketidakstabilan fungsi jantung dan vaskular akibat proses infeksi dan perjalanan penyakit yang terjadi.²⁵ Penelitian telah menunjukkan proses patofisiologi COVID-19 sehingga memengaruhi sistem kardiovaskular yaitu: 1. Abnormalitas reseptor ACE2; 2. Sindroma pelepasan sitokin; 3. Cedera sel miokard langsung; dan 4. Ruptur plak akibat peradangan sistemik dan trombosis koroner. Mekanisme lain yang juga diduga turut menjadi penyebab gangguan kardiovaskular secara tidak langsung adalah penggunaan obat-obatan COVID-19 seperti kortikosteroid, obat antivirus, dan agen imunomodulator dan imunostimulan lainnya yang mungkin bersifat kardiotoxik.²⁶

Inflamasi sistemik dan gangguan proses hemostasis akibat infeksi virus SARS-CoV-2, menjadi penyebab awal komplikasi kardiovaskular dengan tingkat risiko kematian yang tinggi. Beberapa komplikasi kardiovaskular yang dapat terjadi antara lain: 1. Miokarditis, Cedera Miokard, dan Peningkatan Enzim Jantung; 2. Gagal

jantung; 3. Aritmia dan Serangan Jantung Mendadak; 4. Kelainan Tromboemboli dan Koagulasi; dan 5. Sindrom Koroner Akut (SKA).²⁶



GAMBAR 1.1 Interaksi antara komorbiditas penyakit kardiovaskular dengan infeksi COVID-19.²⁷

5. PERKEMBANGAN TATA LAKSANA DAN PENELITIAN COVID-19 DENGAN KOMORBID PENYAKIT KARDIOVASKULAR

Kemajuan di bidang pengobatan COVID-19 dengan komorbiditas penyakit kardiovaskular telah menjadi titik awal dalam mencegah meningkatnya angka morbiditas dan mortalitas pasien COVID-19. Dengan semakin banyaknya penelitian dan dibukanya forum diskusi ilmu pengetahuan baru di seluruh dunia, telah meningkatkan pemahaman serta ilmu pengetahuan mengenai peran infeksi COVID-19 pada tubuh manusia. Salah satu target potensial terapi COVID-19 adalah *Angiotensin converting enzyme-2 (ACE2)*.²⁸

Monteil *et al.* telah mengembangkan suatu *human recombinant soluble angiotensin-converting enzyme 2 (hrsACE2)* sebagai kompetitor reseptor ACE2 di permukaan sel.²⁹ Pada dasarnya obat ini bekerja sebagai ACE2 yang larut (*soluble*), bekerja dengan mengikat spike protein virus secara kompetitif, sehingga mengganggu proses ikatan spike protein-reseptor ACE2, mencegah proses infeksi secara dini.²⁹

Beberapa obat tertentu juga diketahui memiliki target potensial yang dapat memodulasi reseptor ACE2. Mekanisme obat-obat tersebut bekerja dengan mengikat/mengubah reseptor ACE2 yang menyebabkan hambatan pada proses ikatan spike protein virus pada reseptor ACE2 permukaan sel. Beberapa diantaranya adalah Arbidol dan Klorokuin fosfat (CQ).³⁰

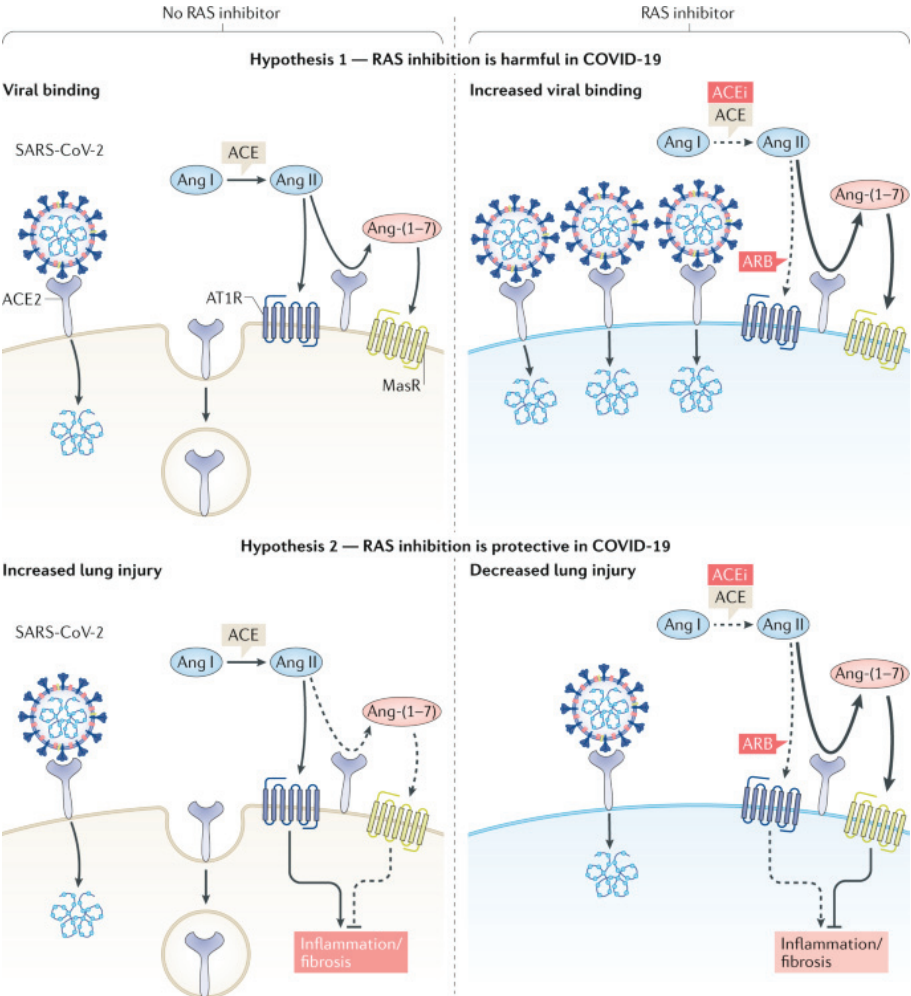
TABEL 1.3 Rangkuman terapi potensial COVID-19.³¹

Perlakuan	Sumber	Mekanisme aksi	Fase klinis
Produk alami			
Linoleic acid	<i>N-6 polyunsaturated fatty acid (PUFA)</i> dari minyak sayur	Berikatan dengan pengikat LA di protein S RBD SARS-CoV-2	NA, Obat potensial
Emodin	Natural anthraquinon	Berpotensi menghambat interaksi protein S dan reseptor ACE-2, menekan peradangan akibat COVID-19	NA, Obat potensial
Bisoxatin	Obat sintesis	Secara signifikan berikatan dengan RBD protein S SARS-CoV-2	NA, in silico, senyawa potensial Lektin alami

Perlakuan	Sumber	Mekanisme aksi	Fase klinis
Lektin Alami			
GRFT (Griffithsin)	Lektin turunan alga yang diisolasi dari alga merah <i>Griffithsia sp</i>	Mengikat ke situs glikosilasi subunit S1, mencegah langkah selanjutnya yang penting untuk masuknya virus	Studi in vitro, Fase: NA
FRILL	Lektin glukosa / manosa diisolasi dari tanaman <i>Lablab purpureus</i>	Mengikat glikans manosa tinggi dan N-glikan tipe kompleks	Studi in vitro
Peptida Antivirus			
EK1C4	Lipopeptida sintetik	Menargetkan domain HR1 protein S; dengan demikian, membentuk struktur 6-HB yang mirip dengan yang asli, menghasilkan penghambatan fusi virus	Praklinis (Studi in vivo)
SBP1	Peptida sintetik	Meniru residu 21–43 dari urutan heliks ACE-2 PDα1, dan berikatan dengan RBD, mengganggu interaksi protein ACE-2 dan S	Inhibitor potensial memerlukan pengujian lebih lanjut pada sel hewan dan manusia
Terapi berbasis rekombinan			
Recombinant Soluble ACE-2	Human recombinant	Secara kompetitif berikatan dengan protein S dan mengalihkan perhatian virus dari reseptor ACE-2 yang terikat membran	Intervensi Acak (Uji Klinis), Fase: NA
Casirivimab, Imdevimab, Bamlanivimab and Etesevimab	<i>Neutralizing monoclonal antibodies</i> (mAbs)	Mengikat RBD protein SARS-CoV-2 S dan menghambat keterikatannya dengan ACE2	FDA berwenang untuk penggunaan darurat darurat (uji klinis fase II-III)

Obat lain yang juga dapat mencegah perburukan gejala COVID-19 dengan komorbid kardiovaskular adalah RAS inhibitor. RAS inhibitor terdiri dari *Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors* (ACEi) dan *Angiotensin Receptor Blockers* (ARB). RAS inhibitor bekerja dengan cara memodulasi ACE2 baik secara langsung maupun tidak langsung, yang mengubah angiotensin II menjadi angiotensin 1–7, sehingga mengurangi vasokonstriksi akibat sistem RAAS.³⁰ Beberapa hipotesis

penelitian menganggap penggunaan obat ACEI dan ARB merugikan pasien COVID-19 karena dapat memengaruhi ekspresi reseptor ACE2 (Gambar 1.2 A). Sayangnya, hal tersebut tidak terbukti hingga saat ini.^{32,33} Bahkan, pemberian ACEI dan ARB dapat meningkatkan kadar ACE2, mencegah badai sitokin, sehingga berpotensi menjadi salah satu pendekatan yang efektif untuk mencegah gejala berat dari COVID-19 (Gambar 1.2 B).^{34,35}



GAMBAR 1.2 Perbedaan hipotesis pemberian ACEi dan ARB pada COVID-19.³⁵

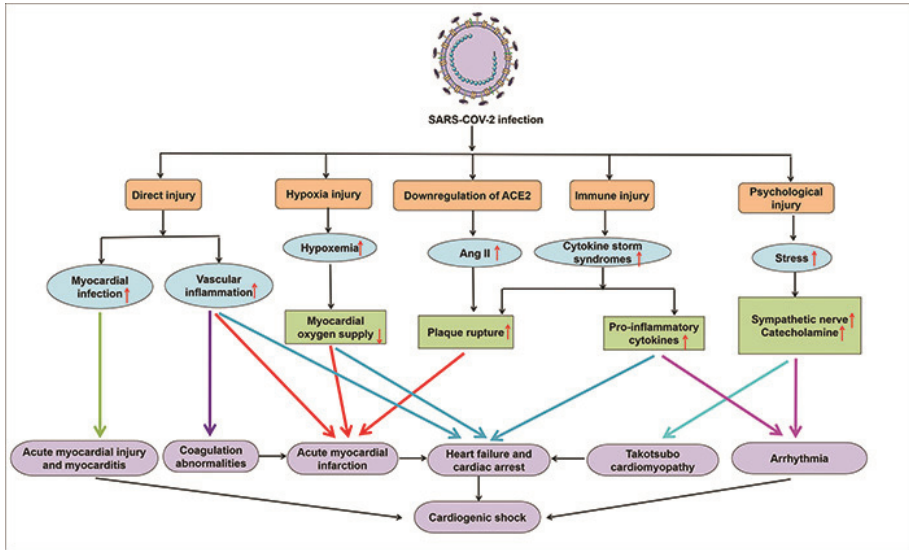
TABEL 1.4 Rekomendasi pengobatan Kardiovaskular selama pandemi COVID-19.¹²

No	Masalah kardiovaskular	Pertimbangan pengobatan
1	STEMI/NSTEMI	PCI primer vs trombolitik
2	Cedera Miokard	Prognosis lebih buruk, memantau tren yang meningkat
3	Keadaan Hiperkoagulasi	Tromboprofilaksis
4	Penggunaan ACEI dan ARB	Lanjutkan pengobatan saat ini, tunggu studi lebih lanjut
5	Penggunaan HCl, CQ dan/ atau Azitromisin	Pemantauan QTc, hindari obat pemanjangan QTc lainnya
6	Imunosupresi/ Imunomodulasi	Mungkin membantu pada pasien tertentu dengan badai sitokin
7	<i>Mechanical Circulatory Support (MCS)</i>	<i>Intra-Aortic Balloon Pump (IABP)</i> dan <i>veno-arterial ECMO</i> dapat digunakan untuk membantu kondisi syok kardiogenik

Patomekanisme COVID-19 dan Penyakit Kardiovaskular

1. PENYAKIT KARDIOVASKULAR PADA COVID-19

Coronavirus disease-2019 (COVID-19) yang disebabkan oleh novel coronavirus *severe acute respiratory syndrome coronavirus-2* (SARS-CoV-2) telah berkembang pesat secara global menjadi pandemi. Berdasarkan laporan WHO, saat ini kasus konfirmasi COVID-19 telah mencapai 70.000.000 kasus dengan lebih dari 1.500.000 kematian di seluruh dunia. Infeksi SARS-CoV-2 dapat secara langsung atau tidak langsung menyebabkan beberapa komplikasi jantung pada pasien COVID-19, seperti cedera miokard akut dan miokarditis, gagal jantung dan henti



GAMBAR 2.1 Mekanisme yang mendasari cedera kardiovaskular yang disebabkan oleh infeksi SARS-CoV-2.³⁷

jantung, aritmia, infark miokard akut, syok kardiogenik, kardiomiopati Takotsubo, dan kelainan koagulasi (Gambar 2.1).³⁶

Beberapa pasien COVID-19 yang memiliki riwayat penyakit kardiovaskular risiko yang menunjukkan tingkat morbiditas dan mortalitas tinggi, termasuk kebutuhan akan ventilasi mekanis.^{37,38} Berdasarkan hasil laporan Wu & Mcgoogan menunjukkan bahwa diantara 72.314 kasus COVID-19, tingkat kematian yang diakibatkan oleh penyakit kardiovaskular hipertensi sebesar 10,5% dan 6,0%.³⁹

Infeksi SARS-CoV-2 dapat mengakibatkan cedera miokard akut dan iskemia miokard yang ditandai dengan peningkatan kadar serum troponin I jantung (hs-cTn1), N-terminal pro-B-type natriuretic peptide, CRP, dan kadar kreatinin serum.^{40,37}

Selain itu, Infeksi virus SARS-CoV-2 juga dapat memperburuk gagal jantung atau bahkan menginduksi terjadinya gagal jantung akut. Chen *et al.*⁴¹ telah melaporkan bahwa komplikasi jantung lebih sering terjadi pada pasien yang meninggal karena COVID-19 sering disertai dengan komplikasi jantung, diantaranya cedera jantung akut (72/94; 77%) dan gagal jantung (41/83; 49%).

Gagal jantung yang terjadi pada pasien COVID-19 merupakan gagal jantung kanan dan terkait dengan adanya hipertensi pulmonal. Hal ini berhubungan dengan tidak seimbangnya fungsi paru dalam ventilasi, difusi dan perfusi. Penurunan fungsi fisiologis paru menyebabkan hipoksia pembuluh darah paru sehingga terjadi oklusi mikrovaskular dan peningkatan resistensi pembuluh darah paru.³⁷

Pada beberapa pasien COVID-19 menunjukkan gejala jantung berdebar-debar, yang mengindikasikan terjadinya aritmia. Aritmia adalah manifestasi kardiovaskular yang umum dijelaskan pada pasien COVID-19, akan tetapi manifestasi klinis yang terkait dengan aritmia terkadang tertutup oleh gejala pernapasan.³⁷

Infark miokard akut merupakan komplikasi jantung yang umum pada pasien dengan pneumonia virus. Berdasarkan data dari Komisi Kesehatan Nasional China menunjukkan bahwa 17% pasien yang mengalami gejala berat COVID-19 memiliki penyakit jantung koroner, khususnya, pasien dengan gejala COVID-19 yang berat mengalami peningkatan aktivitas koagulasi, yang ditandai dengan peningkatan konsentrasi D-dimer (>1 g/l).^{42,43} Pada pembuluh darah koroner terjadi peradangan lokal, induksi faktor prokoagulan, dan perubahan hemodinamik. Hal ini mengakibatkan risiko pecahnya plak aterosklerosis pada pembuluh darah koroner yang mengakibatkan terjadinya infark miokard akut. Dengan demikian, pasien dengan gejala COVID-19 yang berat terkait erat dengan terjadinya infark miokard akut.³⁷

Pada era pandemi COVID-19 kejadian kardiomiopati takotsubo meningkat lima kali lipat dibandingkan sebelum pandemik. Kardiomiopati Takotsubo merupakan sindroma yang ditandai dengan disfungsi sistolik ventrikel kiri dan sering terjadi akibat stresor fisik (infeksi) atau emosional (psikologis).⁴⁴ Pada pasien COVID-19 dengan gejala berat⁴⁵ mengalami kardiomiopati Takotsubo, ditandai dengan penurunan fungsi sistolik ventrikel kiri, tanpa riwayat disfungsi sistolik sebelumnya.⁴⁶ Hal ini diduga karena adanya tekanan psikologis dan emosional secara berlebihan selama isolasi mandiri.³⁷

Obesitas merupakan salah satu faktor risiko yang diduga sangat berperan dalam gejala berat pada pasien COVID-19. Data epidemiologi dari Amerika Serikat menunjukkan bahwa 25% pasien yang meninggal karena COVID-19 memiliki obesitas.⁴⁷ Dengan adanya penumpukan adiposit pada pasien obesitas akan memperkuat respons proinflamasi terhadap infeksi SARS-CoV-2. Pada individu dengan obesitas, terdapat ketidakseimbangan sitokin, Interleukin 6 (IL-6).⁴⁸ Hal

ini dapat mengakibatkan terjadinya gangguan metabolik dan endokrin seperti resistensi insulin dan disregulasi adipokin yang mengganggu metabolisme lipid dan asam lemak. Oleh karena itu, adanya gangguan pada sel adiposit khususnya di lokasi viseral dapat mengakibatkan gangguan inflamasi yang berat yang dapat berpengaruh pada sistem kardiovaskular.⁴⁹

Hipertensi merupakan faktor risiko yang diduga sangat berperan dalam gejala berat pada pasien COVID-19. Dalam salah satu studi yang dilakukan di Wuhan yang mencakup 1.099 pasien COVID-19, 165 pasien ($\pm 15\%$) memiliki tekanan darah tinggi. Pada studi yang sama melaporkan pasien hipertensi (23,7%) memiliki tingkat morbiditas penyakit yang lebih tinggi dibandingkan dengan pasien normotensi (13,4%).⁵⁰ Mekanisme yang menghubungkan hipertensi dan COVID-19 belum sepenuhnya dijelaskan akan tetapi diduga adanya keterlibatan aktivasi sumbu Renin Angiotensin Sistem (RAS).^{51,52} Selain itu, hipertensi juga dikaitkan dengan disfungsi endotel dan keadaan proinflamasi, yang mencakup tingkat Ang II, kemokin, dan sitokin (interleukin-6 (IL-6) dan *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α)). Oleh karena itu, ketidakseimbangan RAS dan peningkatan sitokin proinflamasi dapat memperberat gejala pasien COVID-19 dengan hipertensi.⁵³

Infeksi SARS-CoV-2 dapat menyebabkan hiperkoagulabilitas darah. Peningkatan kadar produk degradasi fibrin dan D-dimer diduga terkait erat dengan prognosis yang buruk.⁵⁴ Dalam laporan awal yang melibatkan 1099 pasien COVID-19 dari China, 46% pasien mengalami peningkatan kadar D-dimer ($>0,5$ mg/l) (60% pasien dengan gejala yang berat).⁵⁵ Hal ini menunjukkan bahwa sebagian besar pasien COVID-19 memiliki kelainan koagulasi, yang dapat bermanifestasi klinis pada sistem kardiovaskular.

Syok kardiogenik merupakan komplikasi lanjut dari COVID-19 yang diawali karena kegagalan pompa jantung dan penurunan tahanan pembuluh darah sistemik.⁵⁶ Sebuah studi yang dilakukan oleh Yu *et al.*,⁵⁷ di antara 226 pasien yang dirawat di ICU karena COVID-19 yang berat, tiga (1,3%) pasien mengalami syok kardiogenik. Selain itu, syok kardiogenik sering bercampur dengan jenis syok lain setelah infeksi SARS-CoV-2, seperti syok vasoplegik. Dengan kondisi tersebut, dukungan sirkulasi dan pernapasan berupa *Extra Corporeal Membrane Oxygenation* (ECMO) dan alat bantu ventrikel perkutan harus dipertimbangkan pada pasien COVID-19 yang mengalami syok kardiogenik dan vasoplegik.⁵⁸

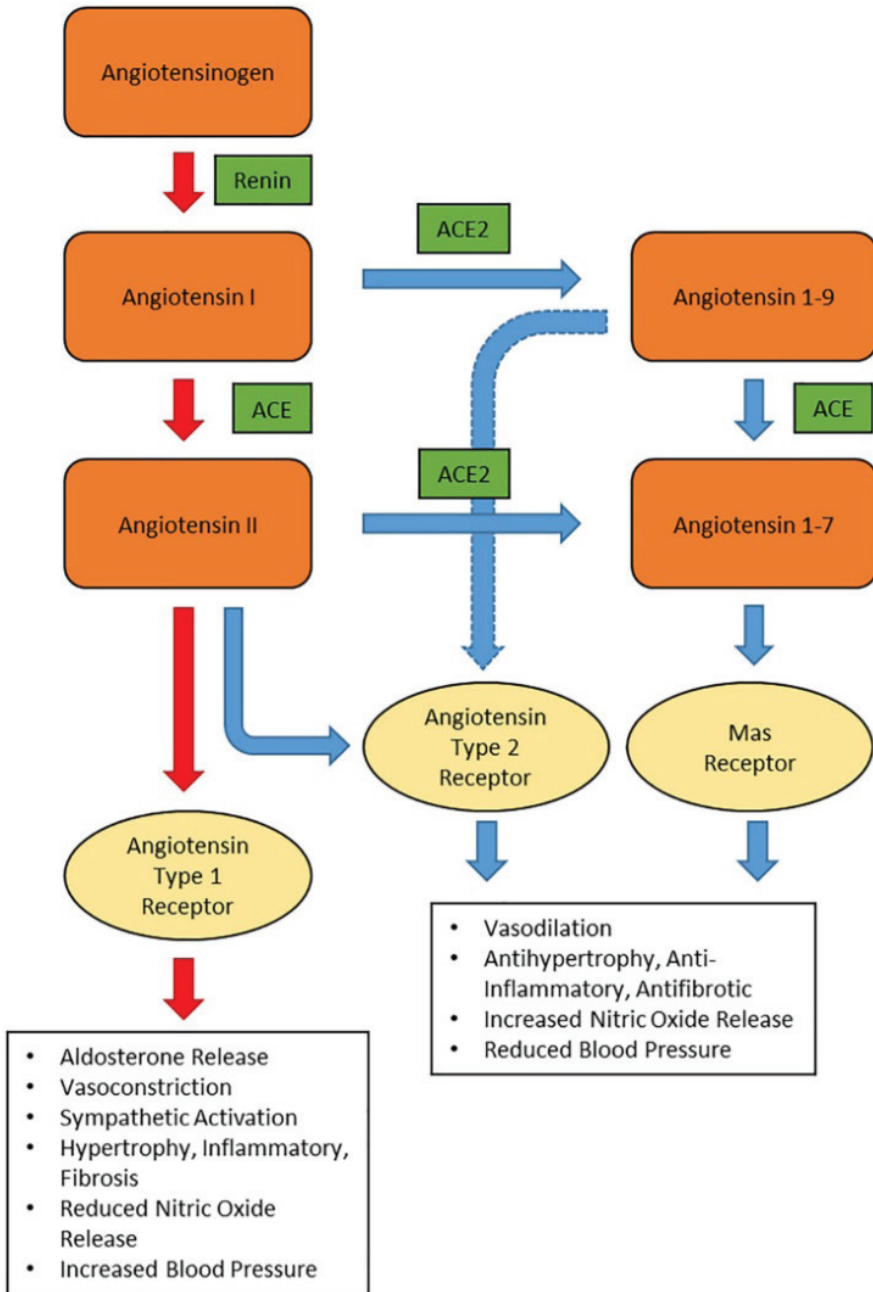
TABEL 1.5 Manifestasi Kardiovaskular pada COVID-19 dan mekanisme potensial yang mendasarinya.⁵⁹

Manifestasi Kardiovaskular	Mekanisme Potensial
<ul style="list-style-type: none"> • Sindroma koroner akut • Aritmia • Gagal jantung • Miokarditis • Kerusakan miokardium • Tromboemboli/stroke • Kematian mendadak • MIS-C 	<ul style="list-style-type: none"> • Keadaan Hiperinflamasi akibat badai sitokin (termasuk Sepsis dan DIC) • Infeksi SARS-CoV-2 pada sel melalui ACE2 yang menyebabkan kardi toksisitas langsung • Penurunan ACE2 sebagai proteksi kardiovaskular • Gangguan proses koagulasi, kerusakan endotel, trombosis mikrovaskular • Ketidakseimbangan antara <i>supply</i> dan <i>demand</i> sebagai akibat dari perubahan sistemik (ec. Hipoksemia, takikardi, hipotensi, vasokonstriksi) • Stres fisik dan psikologis menyebabkan stimulasi simpatis, termasuk kardiomiopati • Abnormalitas elektrolit (hipokalemia, hipomagnesia) • Eksaserbasi penyakit jantung sebelumnya • Penggunaan obat-obatan COVID-19 dengan efek proaritmia yang mengarah pada toksisitas jantung

2. PATOMEKANISME HIPERTENSI PADA COVID-19

Hipertensi merupakan salah satu komorbid yang sering terjadi pada pasien COVID-19 yang dapat meningkatkan morbiditas dan mortalitas pasien COVID-19. Reseptor ACE2 merupakan reseptor fungsional pada infeksi SARS-CoV-2. Hubungan antara hipertensi dan COVID-19 diduga terkait dengan disregulasi ACE2. Untuk itu sebelum memahami patomekanisme hipertensi pada COVID-19, kita harus memahami fungsi *renin-angiotensin system* (RAS) dan *angiotensin converting enzyme-2* (ACE2).⁶⁰

RAS berfungsi untuk mengatur stabilitas hemodinamik dengan mengatur volume cairan, tekanan darah, dan keseimbangan natrium-kalium (Gambar 2.2). Renin disintesis oleh sel-sel jukstaglomerulus di ginjal dan dilepaskan ke dalam sirkulasi. Renin kemudian mengkatalisis pembelahan glikoprotein



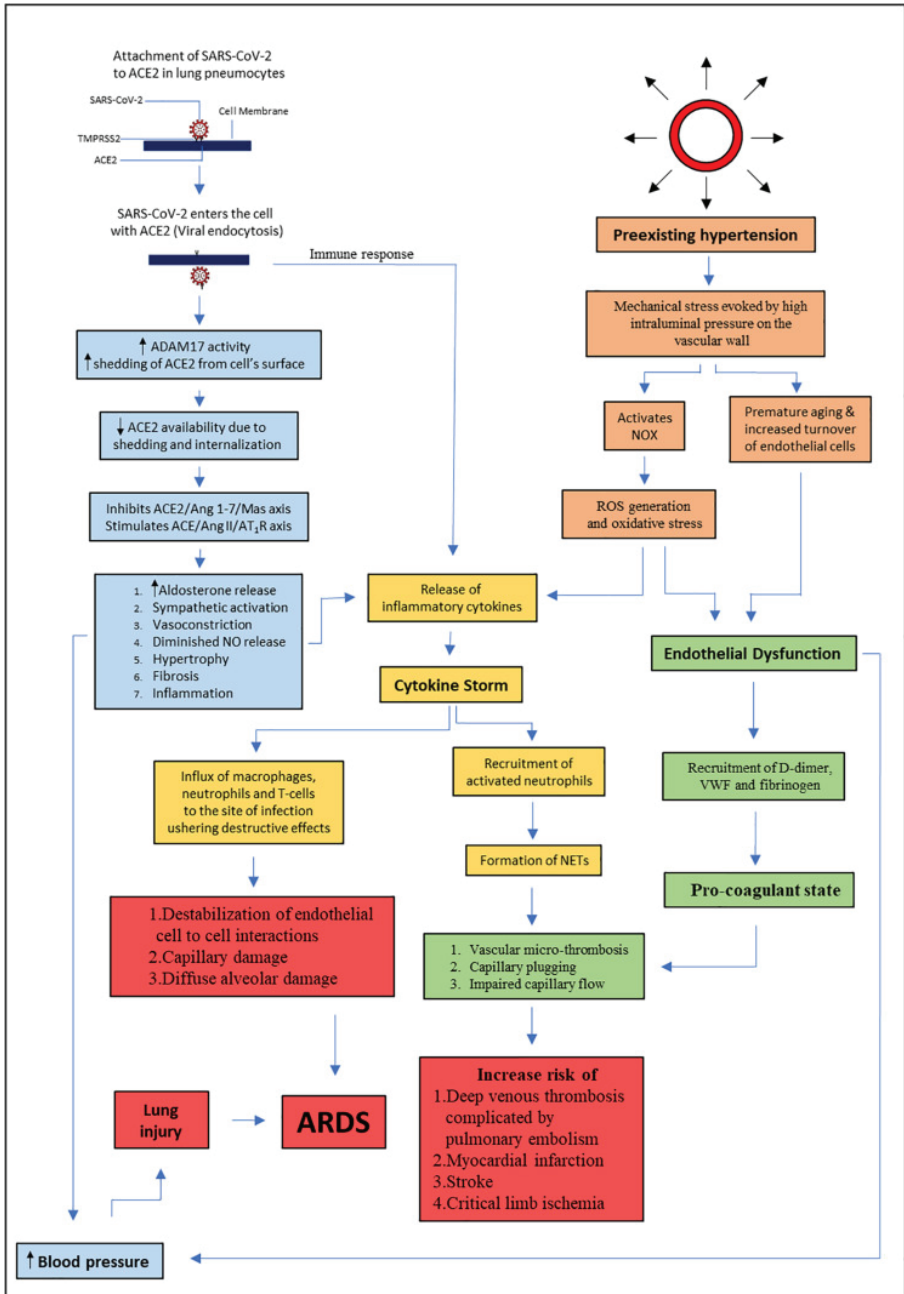
GAMBAR 2.2 Renin-Angiotensin System (RAS).⁶⁶

angiotensinogen, menghasilkan angiotensin 1 (Ang I). Ang I kemudian dipecah oleh *angiotensin converting enzyme* (ACE) untuk membentuk angiotensin II (Ang II) yang merupakan efektor utama dalam RAS. Ang II berikatan dengan reseptor angiotensin II tipe 1 (AT₁R) yang dapat memicu sintesis dan sekresi aldosteron di korteks adrenal. Hormon aldosteron dapat meningkatkan reabsorpsi natrium dan retensi air, yang pada akhirnya dapat meningkatkan tekanan darah.⁶¹ Selain itu, di pembuluh darah AT₁R menyebabkan vasokonstriksi dan menurunkan *Nitric Oxide* (NO). AT₁R juga dapat memberikan efek bahaya seperti peradangan, fibrosis dan produksi *reactive oxygen species* (ROS).⁶²

Dalam aksis RAS nonkonvensional (Gambar 2.2), ACE2 mengubah Ang I menjadi Angiotensin 1-9 (Ang 1-9) dan Ang II menjadi angiotensin 1-7 (Ang 1-7). Ang 1-7 mengikat reseptor Mas dan memicu aktivasi endotel untuk melepaskan NO sehingga menghasilkan efek vasodilatasi.⁶³ Selain itu Ang 1-7 juga dapat memberikan beberapa efek protektif seperti anti inflamasi, antifibrosis, dan anti proliferasi sel otot polos pembuluh darah.⁶⁴ Sementara itu, Ang 1-9 merupakan peptida vasoaktif yang memiliki efek protektif terhadap jantung dan pembuluh darah pada pasien hipertensi. Aktivasi Ang 1-9 dimediasi oleh reseptor angiotensin II tipe 2 (AT₂R).⁶⁵

Patomekanisme yang menghubungkan hipertensi dan COVID-19 belum sepenuhnya dijelaskan akan tetapi diduga terkait dengan disfungsi endotel dan ketidakseimbangan RAS (Gambar 2.3). Disfungsi endotel terjadi karena penurunan bioavailabilitas NO atau ketidakseimbangan antara faktor dilatasi dan konstiksi pada dinding pembuluh darah. Peningkatan tekanan darah sistemik yang berkelanjutan dapat mengganggu dinding pembuluh darah dalam melepaskan asetilkolin sehingga mengakibatkan pembuluh darah vasokonstriksi.⁶⁷

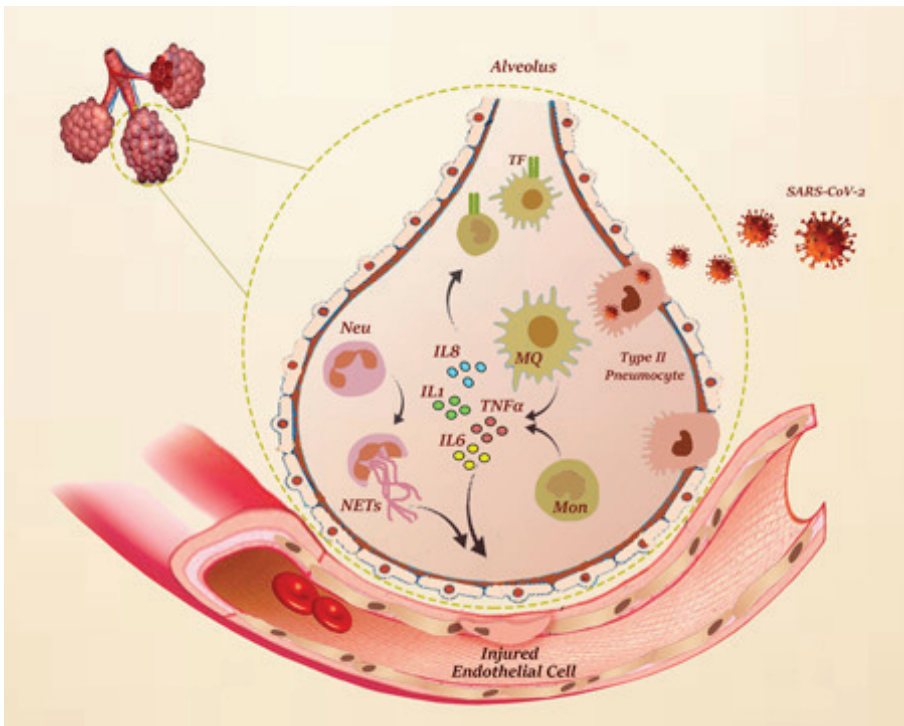
Masuknya SARS-CoV-2 ke dalam sel inang melalui ACE2 dapat menurunkan regulasi ACE2 dalam membran, sehingga menyebabkan hilangnya aktivitas katalitik ACE2 di RAS.⁶⁸ Penurunan level ACE2 menyebabkan peningkatan Ang II dan overaktivitas dari sumbu ACE/Ang II/AT₁R. Akibatnya, Ang 1-7 menurun dan mengurangi efek protektif dari sumbu ACE2/Ang 1-7/Mas. Ang II memiliki tindakan prooksidatif dan proinflamasi, sehingga Ang II yang berlebihan dapat meningkatkan disfungsi endotel dan menyebabkan badai sitokin yang kemudian menyebabkan komplikasi paru, inflamasi, dan hematologik pada pasien COVID-19.^{69,70}



GAMBAR 2.3 Patomekanisme Hipertensi dan COVID-19.⁷¹

3. PATOMEKANISME GANGGUAN KOAGULASI PADA COVID-19

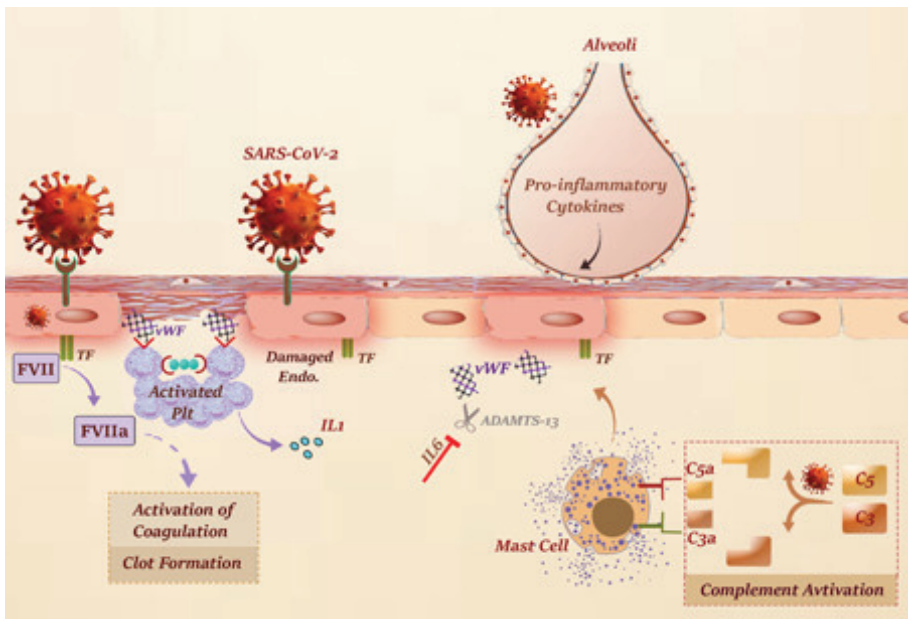
Patofisiologi gangguan koagulasi terkait COVID-19 sebagian besar mengandalkan berbagai interaksi rumit antara sekresi sitokin proinflamasi, hiperaktivasi trombosit, dan kerusakan sel endotel dalam pembuluh darah.⁷² Peningkatan sekresi sitokin proinflamasi seperti interleukin (IL)-1 β , IL-6, *tumor necrosis factor- α* (TNF- α), G-CSF, dan ferritin, akan diikuti oleh peningkatan faktor koagulasi seperti fibrinogen, PT, D-dimer, faktor von willebrand (vWF).^{73,74} Setelah stimulasi dengan mediator inflamasi, neutrofil melepaskan *neutrophil extracellular traps* (NET) dalam bentuk NETs (Gambar 2.4). NET merupakan sebuah mekanisme pertahanan, namun, jaringan ini dapat mengaktifkan trombosit, sel endotel, sistem komplemen, serta memicu koagulasi jalur intrinsik melalui stimulasi F.XII.⁷⁵ Selain mekanisme tersebut, polifosfat yang berasal dari mikroorganismenya dapat mengaktifkan trombosit dan F.XII serta memperkuat respons prokoagulan dari jalur intrinsik.⁷⁶



GAMBAR 2.4 Peradangan yang diinduksi SARS-CoV-2.⁷⁷

Endothelial Cells (EC) di lapisan dalam pembuluh darah dapat mensintesis berbagai faktor, seperti *nitric oxide* (NO) dan *prostaglandin* (PG), *endothelin* (ET), *thromboxane A2* (TXA2), *reactive oxygen species* (ROS), dan angiotensin II.⁷⁸ Ketika diaktifkan, dapat meningkatkan permeabilitas pembuluh darah.⁷⁹ Sedangkan ketika EC dalam kondisi istirahat, akan mensintesis NO. NO memberikan efek langsung pada leukosit dengan mencegah aktivasinya untuk memasuki jaringan. Akan tetapi, jika terjadi disfungsi endotel akan menurunkan bioavailabilitas NO di pembuluh darah.⁸⁰

Mengingat pentingnya peran sel endotel dalam mengatur fibrinolisis, sehingga ketika terjadi disfungsi endotel dapat mengakibatkan hiperkoagulopati.⁸¹ Gangguan atau inaktivasi sistem fibrinolitik endogen pada keadaan inflamasi akut menimbulkan konsumsi antitrombin dan penurunan regulasi jalur protein C yang sangat sensitif terhadap mediator inflamasi.⁸² Terlepas dari efek stimulasi peradangan pada aktivasi sel endotel, SARS-CoV-2 dapat secara langsung merusak sel-sel tersebut. Hal itu menyebabkan peningkatan pembentukan trombin sehingga



GAMBAR 2.5 Patomekanisme peradangan dan aktivasi sel endotel, trombosit, dan komplemen pada koagulopati yang diinduksi COVID-19.⁷⁷

trombosit akan aktif, permeabilitas pembuluh darah meningkat, dan penurunan fibrinolisis. Penurunan fibrinolisis ditandai dengan peningkatan kadar *plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1) pada ARDS terkait COVID-19.⁸³

Peningkatan PAI-1 dari sel endotel, dapat menekan *urokinase-plasminogen activator* (uPA) dan *tissue-type plasminogen activator* (tPA) sehingga menyebabkan penurunan degradasi fibrin.⁸⁴ Selain itu, terdapat hubungan antara sistem fibrinolitik dan sistem renin-angiotensin (RAA) dan ACE-2. Setelah virus menempel pada reseptor, regulasi ACE2 akan menurun dan Angiotensin II akan meningkat. Peningkatan Ang II digunakan sebagai stimulator PAI-1. Di sisi lain, secara bersamaan aktivasi faktor XII meningkatkan bradikinin yang merangsang tPA.⁸⁵ Oleh karena itu, adanya gangguan keseimbangan antara jalur aktivasi koagulasi dan sel endotel pada pasien dengan gejala COVID-19 yang berat, dapat menyebabkan gangguan pembuluh darah seperti tromboemboli vena, emboli paru, DIC dan lain sebagainya.⁸⁶

Spike Protein SARS-CoV-2

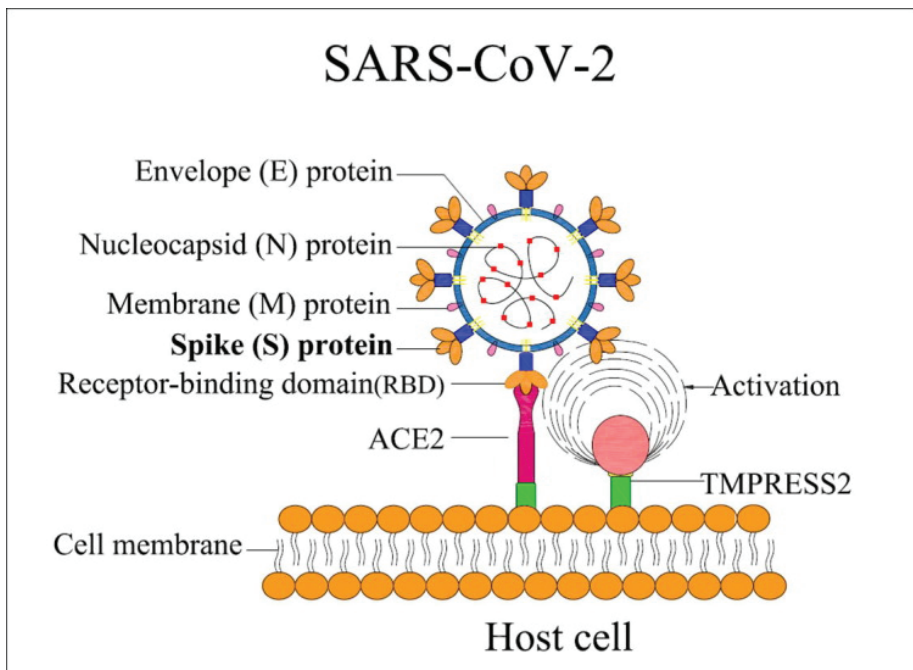
1. PERAN SPIKE PROTEIN SARS-COV-2 DALAM INFEKSI

Secara umum, spike protein berperan sebagai kunci dalam proses infeksi COVID-19. Ibaratnya kunci, spike protein bertugas dalam membuka pintu reseptor ACE2 di permukaan sel, sehingga virus dapat masuk dan menginfeksi sel inang. Protein spike (berupa struktur seperti paku-paku di permukaan) virus SARS-CoV diketahui memiliki afinitas ikatan yang kuat dengan ACE2 manusia berdasarkan studi interaksi biokimia dan analisis struktur kristal.⁸⁷ Protein spike SARS-CoV2 memiliki 76,5% kesamaan sekuen asam amino dengan SARS-CoV yang homolog. Adanya kesamaan antara keduanya memiliki arti baik SARS-CoV2 dan SARS-CoV memiliki cara yang sama untuk menginfeksi sel inangnya.^{88,89} Menariknya, SARS-CoV2 diduga memiliki kemampuan infeksi yang lebih kuat dibanding pendahulunya, yang menjelaskan fenomena pandemi global dalam waktu singkat.^{89,90}

Struktur spike protein secara umum terdiri dari dua domain, yaitu domain S1 dan S2. Domain S1 berisi RBD, yang bertanggung jawab terhadap ikatan virus ke reseptor, sedangkan domain S2 berisi domain HR (termasuk HR1 dan HR2), yang bertanggung jawab terhadap proses fusi virus dengan sel. Spike protein memiliki 2 fungsi utama dalam patogenesis COVID-19 yaitu:

a. Pengikatan Reseptor

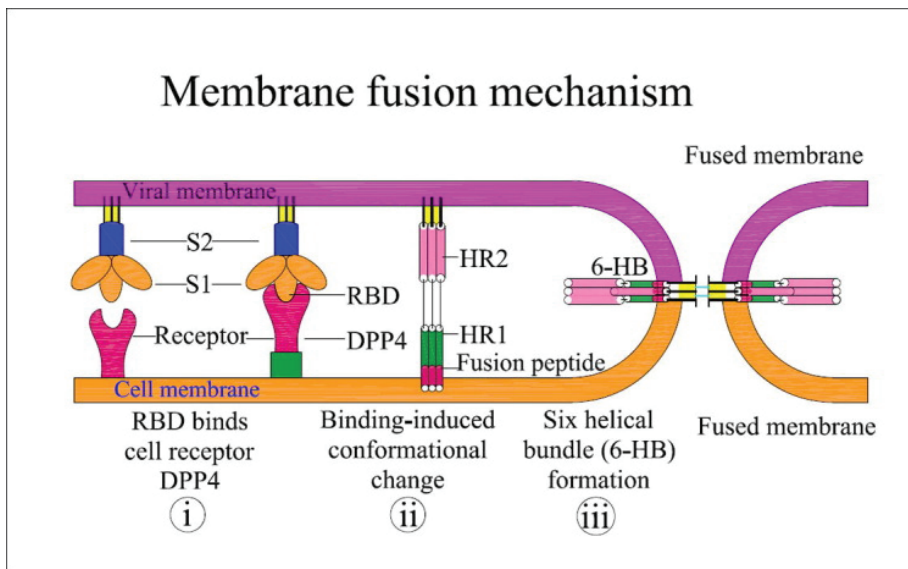
Proses pengikatan reseptor ACE2 di permukaan sel didahului oleh proses penempelan spike protein pada reseptor ACE2. Proses ini diaktivasi oleh RBD pada domain S1 yang mampu mengikat reseptor ACE2. Reseptor ini akan membelah spike protein menjadi subunit S1 dan S2 aktif melalui enzim TMPRSS2. Domain S2 yang telah terpotong selanjutnya selanjutnya menjadi aktif dan memulai proses fusi membran virus dengan membran plasma.^{91,92}



GAMBAR 3.1 Proses pengikatan RBD spike protein pada reseptor ACE2 sel.⁹³

b. Fusi Virus

Setelah domain S2 aktif, domain heptad *repeat* 1 (HR1) dan 2 (HR2) pada subunit S2 dari protein S akan berinteraksi satu dengan lainnya dan membentuk 6-helix *bundle* (6-HB) *fusion core* (Gambar 3.1). Proses ini membawa virus dan membran sel menuju proses fusi dan infeksi.⁹⁴



GAMBAR 3.2 Proses fusi membran virus dengan membran sel inang.⁹³

2. JENIS SPIKE PROTEIN SARS-COV-2

SARS-CoV2 merupakan virus RNA untai tunggal, positif, berselubung dengan nukleokapsid berukuran diameter 65–125 nm. Salah satu struktur terpenting pada virus SARS-CoV-2 adalah Spike (S) protein. Spike protein masuk ke dalam kelas glikoprotein yang memiliki 2 subunit yaitu: subunit S1 dan subunit S2. S protein memiliki ukuran 180–200 kDa, yang terdiri dari N-terminus ekstraseluler, domain transmembran (TM) yang terletak di membran virus, dan segmen terminal C intraseluler pendek. Spike dilapisi molekul polisakarida yang memungkinkan virus untuk berkamufase, menghindari sistem imun pejamu saat memasuki sel.

Awalnya, spike protein tidak aktif sampai diaktivasi oleh protease membran sel pejamu dan memecahnya menjadi subunit S1 dan S2. Adapun keduanya dijelaskan sebagai berikut:^{89,90}

a. Subunit S1

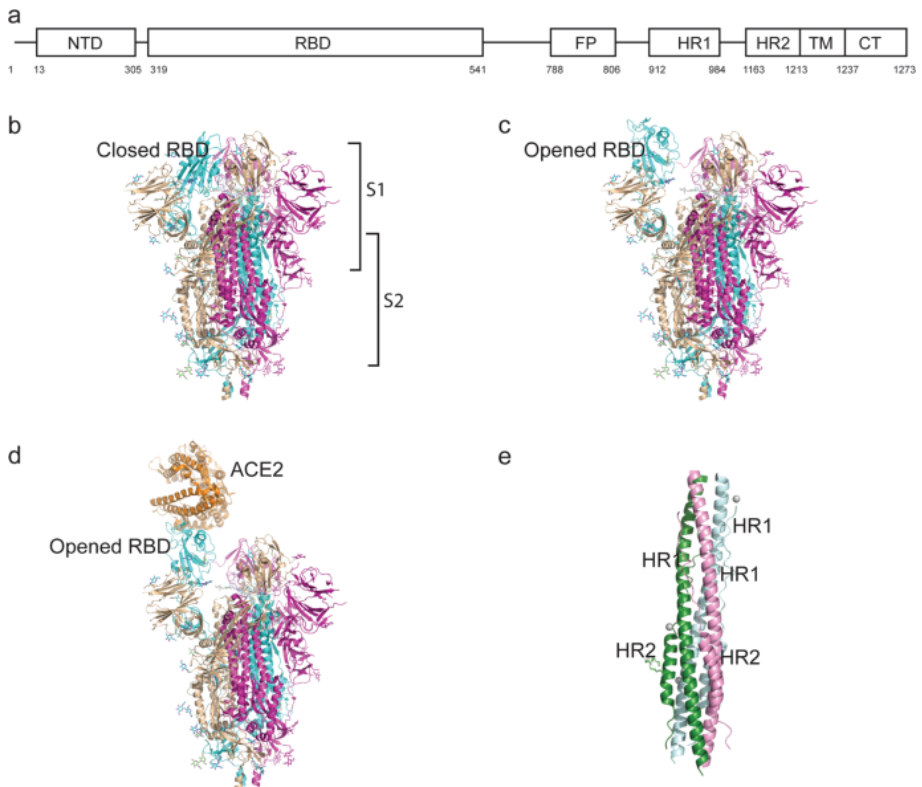
Subunit S1 menjadi bagian spike protein yang bertanggung jawab terhadap fungsi pengikatan antara virus SARS-CoV-2 dengan reseptor ACE2 di permukaan sel inang. Subunit S1 berlokasi di dalam N-terminal 14-685 asam amino protein S, terdiri dari dua struktur yang relatif independen bernama domain terminal-N (NTD) dan domain terminal-C (CTD) atau *Receptor-binding domain* (RBD). Salah satu hal menarik mengenai perbedaan SARS-CoV-2 dan SARS-CoV adalah kemampuan ikatannya, permukaan SARS-CoV-2 S CTD memiliki afinitas ikatan dengan reseptor ACE2 yang lebih kuat dibandingkan SARS-RBD (21 versus 17).⁹⁰

b. Subunit S2

Subunit S2 diketahui memiliki peran kunci pada fungsi fusi dan masuknya virus SARS-CoV-2 ke dalam sel. Subunit S2 terdiri dari domain *fusion peptide* (FP), *internal fusion peptide* (IFP), dua domain *heptad-repeat* (HR1 dan HR2), domain transmembran, dan domain C-terminal.⁹⁵

Struktur FP merupakan segmen pendek yang tersusun atas 15-20 asam amino, yang terdiri dari residu hidrofobik, seperti glisin (G) atau alanin (A), dan melekat pada membran target. FP memainkan peran penting dalam memediasi proses fusi membran sel dan virus dengan cara menghubungkan lapisan ganda lipid dari membran sel inang.³

Struktur HR1 dan HR2 merupakan bagian dari domain S2 yang terdiri dari heptapeptide berulang (HPPHCPC), di mana H merupakan residu hidrofobik, P merupakan residu polar atau hidrofilik, dan C merupakan residu bermuatan lain. Pada saat proses fusi, HR1 dan HR2 akan membentuk bundel enam heliks (6-HB), sebagai bagian yang bertanggung jawab terhadap proses fusi dan masuknya virus ke dalam sel pada subunit S2. HR1 terletak di C-terminus dari FP hidrofobik, dan HR2 terletak di N-terminus domain TM. Ujung domain TM akan mengikat protein S ke membran virus, dan bagian subunit S2 paling ujung berakhir di bagian ekor CT.³



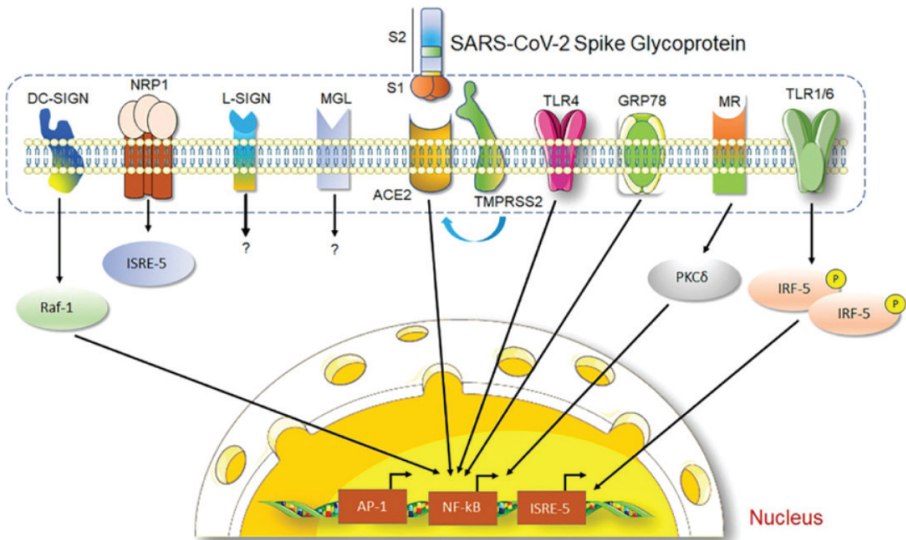
GAMBAR 3.3 Struktur SARS-CoV-2 Spike Protein a. Representasi skematis dari SARS-CoV-2 spike protein; b-c. RBD protein S dengan status tertutup dan terbuka; d. Protein S berikatan dengan ACE2 dengan RBD yang terbuka di subunit S1; dan e. Struktur enam heliks yang dibentuk oleh HR1 dan HR2 dari subunit S2.³

3. PENGGUNAAN SPIKE PROTEIN SARS-COV-2 SEBAGAI MODEL COVID-19 DALAM PENELITIAN

Peran spike protein yang krusial pada virus SARS-CoV telah lama dikenal dan digunakan pada berbagai penelitian, terutama pengembangan vaksin. Sebelumnya, studi pada virus MERS dan SARS (sekarang juga dikenal sebagai SARS-CoV-1, virus yang menyebabkan wabah SARS pada tahun 2002–2004) menunjukkan bahwa S-protein menjadi molekul utama yang dapat menginduksi dan menghalangi masuknya virus.^{96,97}

Spike protein menjadi penting pada penelitian yang berfokus pada pengembangan vaksin karena: 1. S-protein dapat dideteksi oleh sistem kekebalan inang dengan mudah karena ditemukan pada permukaan virus, 2. Spike protein penting dalam proses penempelan dan berinteraksi dengan reseptor ACE-2 pejamu sebagai sarana masuknya virus.⁹⁸

Penggunaan spike protein SARS-CoV-2 pada sel manusia seperti pada penelitian Suzuki *et al.*,⁹⁹ telah menunjukkan bukti bahwa penggunaan spike protein rekombinan subunit S1 saja sudah cukup menstimulus pensinyalan seluler tanpa komponen virus lainnya yang infeksius. Sebuah bukti peran spike protein juga dijelaskan oleh penelitian Kuba *et al.*,¹⁰⁰ pada hewan coba yang menunjukkan adanya peningkatan angiotensin II, penurunan ekspresi ACE2 dan perburukan kerusakan paru-paru pasca- diinjeksi spike protein rekombinan subunit S1. Studi lainnya melaporkan bahwa spike protein subunit S1 menyebabkan aktivasi NF- κ B dan faktor transkripsi AP-1 serta p38 dan ERK protein kinase, melepaskan interleukin-6 sebagai akibat dari menurunnya ekspresi protein ACE2.¹⁰¹ Diagram pada Gambar 3.4 menunjukkan bahwa glikoprotein (S) SARS-CoV-2-Spike berinteraksi dengan beberapa protein reseptor sel inang terutama dengan ACE2



GAMBAR 3.4 Protein spike SARS-CoV-2 memediasi jalur transduksi pensinyalan melalui reseptor ACE2.¹⁰³

pada wilayah RBD. Awalnya, TMPRSS2 memulai aktivasi protein S untuk fusi membran sel inang virus dan selanjutnya internalisasi partikel virus di dalam sel. Interaksi SARS-CoV-2-S dan ACE2 menghasilkan pensinyalan NF- κ B untuk mengatur berbagai fungsi seluler. Protein S juga menunjukkan interaksi dengan *Toll-like receptors* (TLR-1,4,6), *Glucose-Regulated Protein 78* (GRP78), *Mineralocorticoid receptor* (MR), dan reseptor neuropilin-1 (NRP1).

Hasil ini semakin memperkuat bukti bahwa sel manusia dipengaruhi oleh spike protein ekstraseluler dan/atau intraseluler melalui aktivasi transduksi sinyal sel.¹⁰²

Berbeda halnya dengan spike protein *full-length* atau *subunit protein spike S1 SARS-CoV-2 full-length*, RBD hanya mengandung protein serta tidak mempromosikan pensinyalan sel. Bukti tersebut menimbulkan hipotesis bahwa spike protein yang mengandung RBD saja mungkin kurang imunogenik, sehingga kurang memicu respons aktivasi transduksi sinyal sel.¹⁰²

Pengetahuan mengenai spike protein telah membantu proses pengembangan vaksin dan peran infeksiya, terutama pengaruhnya terhadap sel lemak (adiposit) yang penting dalam penyebaran, reproduksi, dan pelepasan virus SARS-CoV-2.¹⁰⁴ Ekspresi ACE2 pada jaringan lemak diketahui lebih tinggi jika dibandingkan dengan jaringan paru.^{105,106} Selain itu, adiposit juga memiliki kemampuan untuk memicu produksi sitokin proinflamasi yang menyebabkan gejala berat COVID-19, seperti *Interleukin-6* (IL-6), *Interleukin-10* (IL-10), dan *Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α).¹⁰⁷⁻¹¹⁰

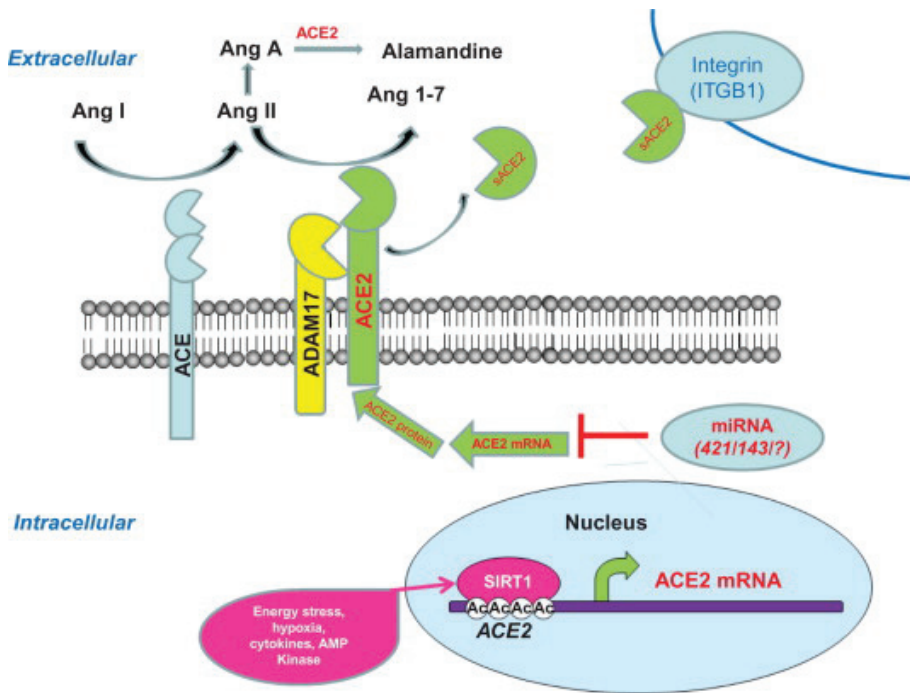
Penelitian tentang spike protein dan pengaruhnya pada sel adiposit mulai gencar dilakukan untuk menjelaskan mekanisme korelasi antara obesitas dengan munculnya gejala berat COVID-19. Salah satunya adalah penelitian Shin *et al.*,¹¹¹ yang mengungkapkan adanya peran GRP78 sebagai faktor pengikat inang di sel adiposa yang membantu pengikatan SARS-CoV-2 spike protein dengan reseptor ACE2 pada sel kultur. Studi lain oleh Fruehbeck *et al.*,¹¹² pada penelitian menggunakan SARS-CoV-2 spike protein subunit S1 pada kultur sel adiposit, menunjukkan adanya peningkatan kadar ACE2 dan kematian sel yang ditandai dengan meningkatnya aktivasi komponen inflamasi (NLRP3, ASC, dan caspase-1 aktif) serta IL-1 β ke dalam sel adiposit. Diketahui juga bahwa kadar myokine FNDC4 dan FNDC5 sebagai penghambat masuknya SARS-CoV-2 ke dalam sel dan kematian sel oleh komponen S1 ditemukan berkurang pada pasien obesitas.¹¹²

Angiotensin Converting Enzyme 2

1. ANGIOTENSIN-CONVERTING ENZYME-2 (ACE2)

Angiotensin-converting enzyme-2 (ACE2) adalah enzim yang menempel pada membrane sel (mACE2) dan larut dalam aliran darah dalam bentuk sACE2.^{113,114} Membran sel *Angiotensin-converting enzyme-2* (mACE2) terdapat pada organ paru-paru, endotel pembuluh darah, jantung, usus halus, ginjal, kandung empedu, dan testis. Sedangkan hasil metabolisme protein mACE2 dalam pembuluh darah berupa *soluble ACE2* (sACE2).^{115,116}

ACE2 merupakan bagian dari *renin-angiotensin-aldosteron system* (RAAS) yang berfungsi untuk menjaga tekanan darah agar tetap terkendali. Dalam keadaan hipertensi, mACE2 berperan penting dalam menginduksi enzim ADAM17 untuk menghasilkan *soluble ACE2* (sACE2). sACE2 akan dilepaskan ke dalam aliran



GAMBAR 4.1 Regulasi ACE-2.¹¹⁷

darah untuk membantu proses hidrolisis angiotensin II (peptida vasokonstriktor) menjadi angiotensin 1-7 (vasodilator) dengan mengikat reseptor Mas sehingga menimbulkan efek vasodilatasi local dan menurunkan tekanan darah (Gambar 4.1).¹¹⁷⁻¹¹⁹ Proses tersebut menjadikan ACE2 sebagai target terapi untuk mengobati penyakit kardiovaskular khususnya hipertensi. Larutan sACE2 yang berlebihan dapat diekskresi melalui urine.¹²⁰

2. FUNGSI FISIOLOGIS ACE2

ACE2 merupakan bagian dari *renin angiotensin aldosteron system* (RAAS) yang berfungsi sebagai penyeimbang *angiotensin converting enzyme* (ACE). ACE memecah hormon angiotensin I menjadi angiotensin II yang menimbulkan efek vasokonstriksi pembuluh darah sehingga terjadi peningkatan tekanan darah.

Sedangkan, ACE2 memiliki efek yang berlawanan dengan ACE, yaitu memecah angiotensin II menjadi angiotensin 1-7 dengan mengikat reseptor Mas dan memberikan efek vasodilatasi sehingga dapat menurunkan tekanan darah.^{117,122}

sACE2 tidak hanya berperan dalam bidang kardiovaskular, ACE2 juga berperan dalam berbagai organ seperti otak, saluran pencernaan, ginjal, dan lain sebagainya. Pada otak ACE2 mampu menghidrolisis peptida amiloid- β ($A\beta$) pada pasien *Alzheimer Disease* (AD). ACE2 dapat secara efisien menghidrolisis $A\beta_{43}$ menjadi $A\beta_{42}$ yang kemudian didegradasi lebih lanjut menjadi $A\beta_{40}$ oleh ACE. Hal ini dapat menurunkan efek neurotoksik dari $A\beta$.¹²³ Teori tersebut di dukung dengan adanya penelitian yang menggunakan obat *ACE Inhibitor* (Captopril) menunjukkan hasil penurunan perkembangan tanda-tanda neurodegenerasi dan mencegah penurunan kognitif pada model hewan *Alzheimer Disease* (AD). Akan tetapi hal ini masih membutuhkan data penelitian dan epidemiologi yang lebih banyak.^{124,125}

ACE2 dalam saluran pencernaan berperan sebagai transporter yang berikatan dengan protein kolekrin. Protein kolekrin adalah salah satu protein yang mengatur transportasi asam amino ginjal dan sekresi insulin pankreas. Selain itu, ACE2 juga mengatur pengangkutan asam amino usus ke membran plasma yang berhubungan dengan penyakit Hartnup. ACE2 juga terlibat dalam peradangan usus dan diare, sehingga dapat memodulasi mikrobioma usus.¹²⁶ Adapun penyakit lainnya, ACE2 juga terlibat adalah infeksi dan patologi paru-paru yang disebabkan oleh virus sehingga dapat menyebabkan *severe acute respiratory syndrome* (SARS) atau fibrosis paru.^{117,127}

ACE2 adalah protein multifungsi yang berfungsi sebagai komponen kontraregulasi dari RAS yang berperan dalam kardioprotektif. Oleh karena itu, peningkatan regulasi transkripsi, aktivitas katalitiknya, atau pemberian protein rekombinan dapat memberikan strategi baru dalam hipertensi dan gagal jantung.¹²⁸ Selain itu, modulasi ACE2 mungkin memiliki relevansi pada penyakit lainnya seperti Alzheimer, diabetes, cedera paru akut, kardiovaskular bahkan dalam kondisi otot distrofi.¹²⁹ Namun masih banyak yang harus dieksplorasi dalam hal aspek dasar fungsi seluler ACE2 dan regulasinya untuk dapat memanfaatkan peluang ini secara efektif dan aman.

3. PERAN ACE2 PADA PENYAKIT KARDIOVASKULAR

Pada organ jantung, ACE2 terutama diekspresikan dalam kardiomyosit, fibroblas jantung dan sel endotel arteri koroner. ACE2 berfungsi sebagai antagonis endogen penting dari sistem renin-angiotensin (RAS), terutama mengubah angiotensin II menjadi angiotensin 1-7 dan memetabolisme angiotensin I untuk menghasilkan angiotensin 1-9. Ang 1-7 dan Ang 1-9 memiliki efek menguntungkan yang signifikan pada sistem kardiovaskular.¹³⁰

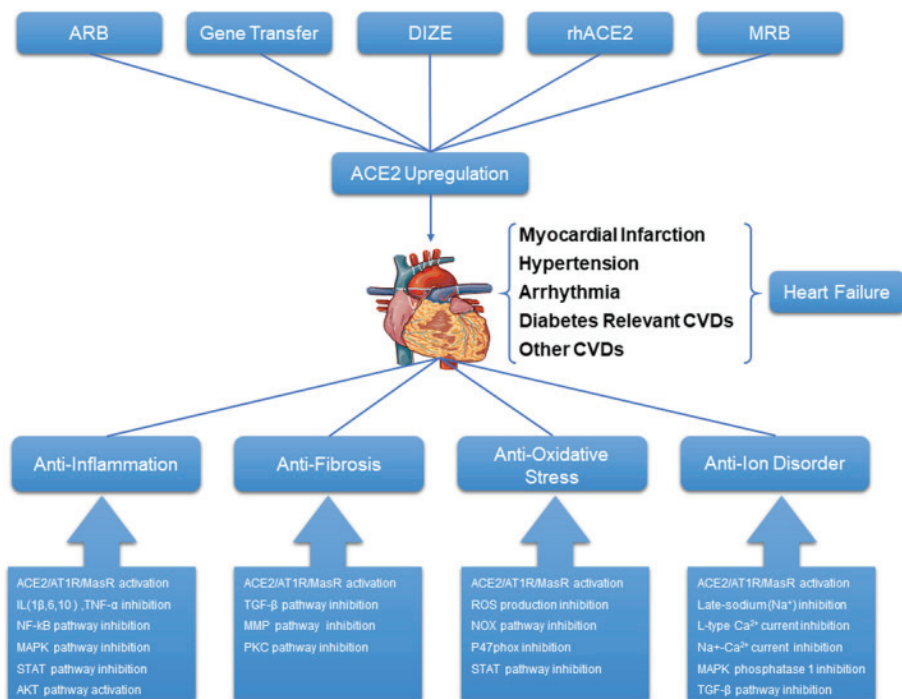
Infark miokard memiliki insiden tinggi di antara pasien dengan penyakit kardiovaskular. Di Amerika Serikat, hampir 0,8 juta orang menderita infark miokard setiap tahun.¹³¹ Dalam beberapa tahun terakhir, beberapa penelitian telah menunjukkan bahwa ACE2 terlibat dalam remodeling miokard. Pada tahap awal infark miokard, ekspresi ACE2 dan ACE akan meningkat secara signifikan dibandingkan pasien yang sehat.^{132,133} Tingginya tingkat serum ACE2 dapat digunakan untuk mengidentifikasi tingkat cedera miokard. Infiltrasi inflamasi dan fibrosis miokard adalah dua faktor utama yang menginduksi remodeling struktur jantung selama infark miokard (Gambar 4.2).¹³⁴ Ketika ekspresi ACE2 menurun menyebabkan remodeling ventrikel, peningkatan fibrosis miokard, infiltrasi neutrofilik dan produksi superoksida melalui *up-regulasi matriks metalloproteinase-2* (MMP2), MMP9, interferon- γ dan IL-6. Sebaliknya, overekspresi ACE2 dapat membalikkan deposisi kolagen dengan menghambat jalur *transforming growth factor- β* (TGF- β) dengan penurunan kolagen I dan III pada miokard, sehingga dapat menurunkan tingkat ekspresi faktor inflamasi terkait dengan ACE dan Ang.¹³⁵ Berdasarkan hal tersebut ACE2 mungkin dapat menjadi target terapi untuk infark miokard.

Hipertensi adalah salah satu penyakit kardiovaskular paling umum yang ditandai dengan remodeling vaskular dan cedera endotel (Gambar 4.2). RAS sangat berperan dalam perkembangan penyakit hipertensi.¹³⁶ Diketahui bahwa sumbu ACE/AngII/AT₁R mengatur vasokonstriksi pembuluh darah. Sedangkan ACE2/Ang-(1-7)/MasR adalah mengatur vasodilatasi yang merupakan target potensial untuk menurunkan tekanan darah. ACE2 dan Ang II dapat saling mengatur untuk menjaga keseimbangan. Ang II mengatur AT₁R dan meningkatkan ekspresi ADAM17, yang menyebabkan pelepasan ACE2 dan mengurangi dampak protektif

ACE2 pada hipertensi sedangkan Ang II dapat diubah menjadi Ang 1-7 oleh ACE2 untuk menghambat efek negatif.^{137,138} Ekspresi ACE2 yang berlebihan pada hipertensi dapat meningkatkan ekspresi AT₂R dan MasR serta menghambat ekspresi AT₁R. Selain itu, ekspresi ACE2 dapat meningkatkan sekresi *nitric oxide* (NO) dan penurunan faktor inflamasi seperti, IL-1b, IL-6, TNF-a dan NF-kB.^{137,139}

RAS telah terbukti terlibat dalam perkembangan aritmia, dimana ACE2 dapat memberikan efek negatif pada aritmia. Aritmia adalah penyakit miokardium yang disebabkan oleh disfungsi elektrofisiologis dan sering dikaitkan dengan stres oksidatif (Gambar 4.2).¹⁴⁰ Pada jantung aritmia, ACE2 menyebabkan gangguan konduksi ventrikel yang ditunjukkan dengan pemanjangan interval PR dan QRS.¹³⁷ Akan tetapi pada atrial fibrilasi (AF), ACE2 mempunyai efek protektif dengan menurunkan protein kolagen fibrosis atrium dan TGF-β.¹⁴¹ Selain itu, ACE2 juga dapat mengubah aliran listrik jantung yang diinduksi hiperglikemia dalam repolarisasi ventrikel, sehingga memperpendek interval QT pada elektrokardiogram. Ang 1-7 merupakan protein penting dalam regulasi ACE2 yang berperan sebagai antiaritmia melalui penurunan fase repolarisasi pada Na⁺-Ca²⁺ *gate channel*, sehingga dapat menjaga keseimbangan Ca²⁺ dalam intraseluler dan retikulum sarkoplasma.¹³⁷

Ketika ACE2 ditemukan, banyak penelitian yang memprioritaskan mengidentifikasi terobosan terapi baru berdasarkan jalur ACE2 pada pasien gagal jantung. *Heart Failure* (HF) merupakan stadium terminal dari cedera jantung yang disebabkan oleh berbagai faktor yang dengan disfungsi sistolik. Selain penyakit di atas, kardiomiopati dilatasi, infark miokard, dan kelebihan tekanan afterload jantung, semuanya dapat menyebabkan terjadinya gagal jantung.¹⁴² ACE2 pada pasien gagal jantung cenderung meningkat. Fungsi utama ACE2 pada gagal jantung adalah degradasi Ang II sedangkan Ang 1-7 mencegah stres oksidatif, fibrosis dan peradangan (Gambar 4.2).¹³⁷ Berkurangnya ACE2 menyebabkan peningkatan aktivitas oksidase *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate* (NADPH) dan fibrosis miokard sehingga mengakibatkan gagal jantung lebih lanjut.^{143,144} Pada kardiomiopati, penurunan ACE2 tidak hanya memperburuk cedera tetapi juga merangsang pelepasan faktor inflamasi melalui pengaktifan jalur MAPK menyebabkan kerusakan miokard. *Recombinant human ACE2* (rhACE2) banyak digunakan dalam penelitian dasar dan klinis untuk mengubah Ang II menjadi Ang 1-7 terhadap kardiomiopati dilatasi pada pasien gagal jantung.¹³⁷



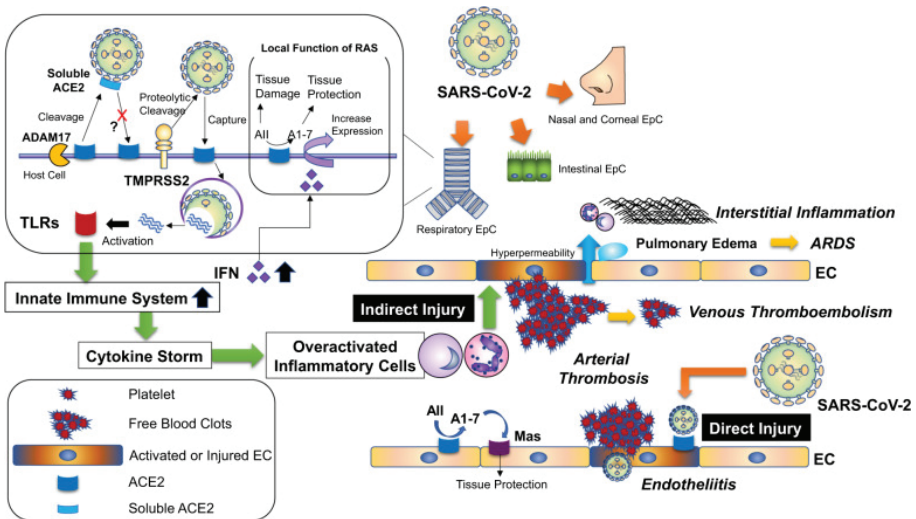
GAMBAR 4.2 Mekanisme ACE2 pada penyakit kardiovaskular.¹³⁷

Berdasarkan penjelasan diatas telah menunjukkan bahwa ACE2 memainkan peran penting dalam penyakit kardiovaskular. Peningkatan ACE2 pada gagal jantung dapat meningkatkan efek vasodilatasi, remodeling antiventrikular, antiinflamasi, antioksidan, dan efek fibrosis antimiokard. Pada hipertensi, fungsi ACE2 adalah untuk vasodilatasi dan menurunkan tekanan darah. Pada aritmia, aktivitas ACE2 dapat mengurangi terjadinya kejadian aritmia dan mengatur pompa $\text{Na}^+ - \text{Ca}^{2+}$. Efek kardiomiopati dari ACE2 terkait erat dengan efek antifibrosisnya melalui regulasi jalur pensinyalan TGF- β . Selanjutnya, ACE2 dapat mengurangi deposisi kolagen miokard yang disebabkan oleh hiperglikemia dan mengaktifkan MMP2. HF adalah keadaan terminal disfungsi jantung akibat berbagai faktor, dan peningkatan ACE2 dapat membalikkan HF dengan meningkatkan remodeling jantung, menghambat stres oksidatif dan mengurangi peradangan.¹³⁷

4. PERAN ACE2 PADA INFEKSI COVID-19

Virus SARS-CoV-2 dapat masuk ke host melalui ikatan antara molekul glikoprotein virus dengan reseptor *angiotensin converting enzyme 2* (ACE2) pada permukaan membran sel host. Virus SARS-CoV-2 hanya dapat menginfeksi sel dengan ekspresi ACE2. Artinya, reseptor ACE2 merupakan reseptor spesifik untuk virus SARS-CoV-2.¹⁴⁵ Reseptor ACE2 diekspresikan pada beberapa jaringan di tubuh manusia seperti paru-paru, jantung, pembuluh darah, ginjal, pankreas, testis, saraf pusat, dan jaringan adiposa.¹⁴⁶

Pada Gambar 4.3 tampak bahwa ikatan pertama antara virus SARS-CoV-2 dimulai dari paparannya pada saluran nafas atas (hidung) dan saluran napas bawah (bronkiolus). Ikatan antara SARS-CoV-2 dengan reseptor ACE-2 mengakibatkan terjadinya aktivasi dari *Toll Like Receptor* (TLR) dan aktivasi *Renin Angiotensin System* (RAS) yang pada akhirnya mengakibatkan peningkatan respons imun *innate* dan badai sitokin. Badai sitokin ditandai dengan terjadinya peningkatan sitokin proinflamasi seperti IL-6, IL-10, IL-2, IFN- γ yang diikuti dengan penurunan sel CD4+ dan CD8+. Hal tersebut mengakibatkan kerusakan secara tidak langsung kepada jaringan interstitial paru yang mengakibatkan peningkatan permeabilitas



GAMBAR 4.3 Patomekanisme kerusakan jaringan akibat infeksi SARS-CoV-2 melalui ACE2.¹⁴⁶

pembuluh darah paru. Peningkatan permeabilitas tersebut akhirnya mengakibatkan edema paru sehingga berpotensi menyebabkan gagal napas.¹⁴⁶

SARS-CoV-2 juga dapat mengakibatkan kerusakan secara langsung pada sel endotel pembuluh darah melalui ikatannya dengan reseptor ACE-2. Ikatan tersebut mengakibatkan terjadinya endotelitis yang kemudian mengakibatkan trombosis pada arteri. Hal ini apabila terjadi pada pembuluh darah koroner akan berpotensi mengakibatkan serangan jantung koroner dan apabila terjadi di pembuluh darah otak dapat berpotensi mengakibatkan stroke.¹⁴⁷

5. PENGARUH OBAT-OBATAN GOLONGAN ACEI/ARB PADA ACE2

Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors (ACEI) atau *Angiotensin II Reseptor Blocker* (ARB) adalah obat lini pertama yang digunakan untuk mengobati dan mengelola hipertensi, yang merupakan salah satu faktor risiko terjadinya penyakit penyakit jantung koroner, gagal jantung, stroke, dan beberapa penyakit kardiovaskular lainnya. Beberapa contoh obat golongan ACEI adalah captopril, lisinopril, enalapril, dan lain sebagainya. Sedangkan contoh obat golongan ARB adalah losartan, valsartan, telmisartan, irbesartan, dan lain sebagainya.^{148,149}

Pada *Renin Angiotensin System* (RAS), Angiotensin II memiliki efek vasokonstriksi pembuluh darah, menghambat pengambilan kembali norepinefrin, merangsang pelepasan katekolamin dari medula adrenal, menurunkan ekskresi natrium dan air urine, merangsang sintesis dan pelepasan aldosteron, dan merangsang penebalan sel otot pembuluh darah dan sel miosit jantung.¹⁵⁰ Mekanisme kerja ACE inhibitor adalah memblokir ACE yang membantu angiotensin I menjadi angiotensin II. Sedangkan *Angiotensin II Reseptor Blocker* (ARB) memblokir secara langsung aktivasi angiotensin II.^{150,151} Penurunan produksi angiotensin II dapat meningkatkan ekskresi natrium, vasodilatasi pembuluh darah, menurunkan tekanan darah, dan mencegah remodeling otot polos dan miosit jantung. Selain itu, ACE *inhibitor* juga memengaruhi degradasi bradikinin, yang merupakan protein yang memiliki efek batuk dan vasodilatasi.¹⁵⁰

ACEI maupun ARB secara konsisten memiliki pengaruh terhadap ekspresi protein ACE2 dengan blokade reseptor AT₁R disertai dengan peningkatan yang signifikan dalam mRNA ACE2. Dalam pembuluh darah secara dominan

metabolisme Ang I dan Ang-(1-7) dihambat oleh obat-obatan ACEI dan ARB. Dengan adanya *negative feedback* tersebut, terjadi peningkatan aktivitas ACE2 dan membuat jalur utama Ang I diubah ke Ang-(1-9) melalui reseptor AT_2R . ACE2 juga berperan penting dalam metabolisme Ang II, yaitu meningkatkan Ang (1-7) secara signifikan dalam jaringan jantung setelah blockade AT_1R . Efek kontras dari terapi tersebut menunjukkan bahwa RAS pada jaringan jantung dan sirkulasi diatur secara *independent*.^{152,71}

Berdasarkan penjelasan diatas, pemberian obat-obatan ACEI atau ARB pada reseptor AT_1R menginduksi peningkatan ACE2 mRNA jantung. ACEI atau ARB dapat menjaga keseimbangan antara mekanisme vasokonstriksi dan vasodilatasi yang melibatkan Ang-(1-7) melalui mekanisme yang berbeda, sehingga menjadikan ACEI dan ARB sebagai obat pilihan penyakit kardiovaskular terutama sebagai obat antihipertensi.¹⁵²

Pengaruh Perindopril pada Derajat Keparahan COVID-19 dan Gangguan Koagulasi pada Obesitas

1. PERINDOPRIL DAN OBESITAS DI MASA PANDEMI COVID-19

a. Penggunaan ACEI pada Masa Pandemi COVID-19

Perjalanan pandemi *coronavirus disease* 2019 (COVID-19) dari tahun 2019 hingga tahun 2022 secara dramatis telah menyebabkan berbagai permasalahan kesehatan

di dunia.¹⁵³ Angka perawatan rumah sakit dan juga kematian selama pandemi COVID-19 terus meningkat pada pasien dengan komorbiditas, khususnya hipertensi.

Berbagai laporan penelitian telah menunjukkan bahwa mekanisme COVID-19 melibatkan salah satu reseptor paling penting didalam pengobatan hipertensi, yaitu reseptor *angiotensin-converting enzyme 2* (ACE2). Beberapa obat-obatan anti hipertensi yang bekerja dengan menghambat ACE atau bekerja dengan menghambat reseptor angiotensin telah dihipotesiskan dapat meningkatkan risiko infeksi dan memperparah derajat COVID-19.¹⁵⁴ Perdebatan antara bolehnya penggunaan obat golongan ACEI maupun ARB akhirnya berkembang dengan cepat. Beberapa peneliti telah merekomendasikan untuk mengganti obat golongan ACEI ataupun ARB dengan obat golongan *Calcium Channel Blocker* (CCB) guna menghindari risiko tersebut.¹⁵⁵ Sementara para peneliti lainnya merekomendasikan agar pasien melanjutkan pengobatan obat antihipertensi mereka kecuali apabila didapatkan indikasi medis yang telah disetujui sebelumnya untuk menghentikan obat-obatan tersebut.¹⁵⁶

Penemuan ACE2 sebagai reseptor SARS-CoV-2, telah menyebabkan kontroversi bagi para klinisi mengenai apakah penggunaan obat-obatan kardiovaskular, seperti *ACE Inhibitor* (ACEI), *Angiotensin II Receptor Blocker* (ARB) maupun Aminoglikosida, bermanfaat atau justru berbahaya pada kondisi infeksi COVID-19.¹⁵⁷ Faktanya tidak semua jenis ARB, ACEI maupun Aminoglikosida memiliki efek yang konsisten terhadap ekspresi ACE2.¹⁵⁸ Di sisi lain, kemampuan ACE2 dalam mencegah badai sitokin juga menjadi salah satu pendekatan yang efektif dalam mencegah COVID-19 gejala berat.¹⁵⁹ Salah satu jenis ACEI yang terbukti meningkatkan ekspresi ACE2 adalah perindopril.¹⁶⁰ Sedangkan ARB yang terbukti meningkatkan ekspresi ACE2 adalah Losartan.¹⁶¹ Golongan Aminoglikosida digoxin juga telah terbukti mampu mencegah replikasi SARS-CoV-2.¹⁶² Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui peran obat-obatan tersebut pada kultur adiposit yang dipapar SARS-CoV-2.

b. Obesitas dan Reseptor ACE2

Obesitas merupakan salah satu faktor risiko independen gejala COVID-19 gejala berat, telah terbukti berhubungan dengan meningkatnya mortalitas dan morbiditas yang dilaporkan dari berbagai penelitian di dunia. Faktor risiko obesitas telah

diketahui memiliki korelasi yang kuat terhadap meningkatnya risiko perawatan secara intensif di rumah sakit dan risiko kematian.¹⁶³⁻¹⁶⁵ Angka prevalensi obesitas dunia dilaporkan telah mencapai lebih dari 20% penduduk dunia, jumlah ini diperkirakan akan menambah jumlah pasien COVID-19 gejala berat dan meningkatkan angka kematian akibat COVID-19.^{166,167}

Sel lemak (adiposit) diketahui memiliki peran sentral dalam patomekanisme infeksi SARS-CoV-2. Adiposit bahkan mampu menjadi perantara penyebaran, reproduksi, dan pelepasan virus SARS-CoV-2 sehingga memicu infeksi berantai yang berakhir dengan kerusakan multiorgan. Adiposit pada pasien obesitas juga dapat memicu produksi sitokin seperti Interleukin-6 (IL-6).¹⁶⁸⁻¹⁷⁰ Interleukin-6 diketahui meningkat secara signifikan pada pasien COVID-19 dengan gejala berat.^{171,172} Temuan tersebut memunculkan hipotesis bahwa kadar IL-6 menyebabkan peningkatan risiko munculnya gejala berat pada pasien COVID-19 dengan obesitas.

Tahapan infeksi SARS-CoV-2 berawal dari ikatan antara molekul glikoprotein virus dengan reseptor *angiotensin converting enzyme 2* (ACE2) pada membran sel *host*. Virus SARS-CoV-2 secara eksklusif hanya dapat menginfeksi sel dengan ekspresi ACE2.^{173,174} Peran penting reseptor ACE2 terhadap patogenesis virus SARS-CoV-2 menjadikan ACE2 sebagai pisau bermata dua bagi penderita COVID-19 dengan komorbid penyakit kardiovaskular. Reseptor ACE2 diketahui mampu terdeteksi pada beberapa jaringan tubuh manusia, khususnya adiposa. Jaringan adiposa yang berperan dalam proses penyebaran hingga infeksi COVID-19, diketahui juga memiliki ekspresi ACE2 yang lebih tinggi dibandingkan pada jaringan paru. Hasil studi tersebut berpotensi menjelaskan patomekanisme gejala berat COVID-19 pada pasien dengan obesitas.^{175,176} Namun, hingga saat ini masih belum ada studi eksperimental untuk membuktikan hal tersebut.

Penulis buku ingin menjawab peran sel adiposit dalam mengekspresikan reseptor ACE2 dan IL-6 serta mengetahui efek pemberian perindopril terhadap ekspresi kedua reseptor diatas dengan tujuan sebagai berikut:

- 1) Mengetahui ekspresi reseptor ACE2 dan IL-6 pada adiposit yang dipapar dengan *spike protein* S1 SARS-CoV-2.
- 2) Mengetahui efek dari pemberian terapi Losartan, Perindopril dan Digoxin terhadap ekspresi ACE2 maupun IL-6 dari adiposit yang telah dipapar *spike protein* S1 SARS-CoV-2.

Penelitian yang kami lakukan telah membantu memperjelas mekanisme peningkatan risiko gejala berat akibat COVID-19 pada pasien obesitas. Selain itu, penelitian kami juga telah memperjelas manfaat dari penggunaan obat-obatan kardiovaskular pada pasien obesitas dengan COVID-19. Diharapkan temuan dari penelitian ini menjadi dasar untuk pengembangan kandidat obat untuk gejala berat pada pasien COVID-19 dengan obesitas.

2. PERAN OBESITAS PADA KASUS COVID-19 DENGAN GEJALA BERAT

Obesitas merupakan salah satu faktor risiko yang diduga sangat berperan dalam gejala berat pada pasien COVID-19. Data epidemiologi dari Amerika Serikat menunjukkan bahwa setidaknya 25% pasien yang meninggal karena COVID-19 mengalami obesitas dan 21% lainnya memiliki penyakit kardiovaskular.¹⁷⁷ Pasien COVID-19 dengan obesitas terbukti memiliki faktor risiko yang lebih tinggi untuk mendapatkan perawatan intensif dan memiliki risiko kematian yang lebih tinggi.¹⁷⁷ Hal ini dipengaruhi oleh peningkatan risiko terjadinya hipoventilasi pada pasien COVID-19 yang memudahkan terjadinya proses gagal napas.¹⁷⁸ Sebagai pembandingan bahwa pada saat merebaknya wabah influenza A tipe H1N1, obesitas juga diketahui memiliki hubungan dengan tingkat kematian serta hasil akhir perawatan yang lebih buruk.¹⁷⁹

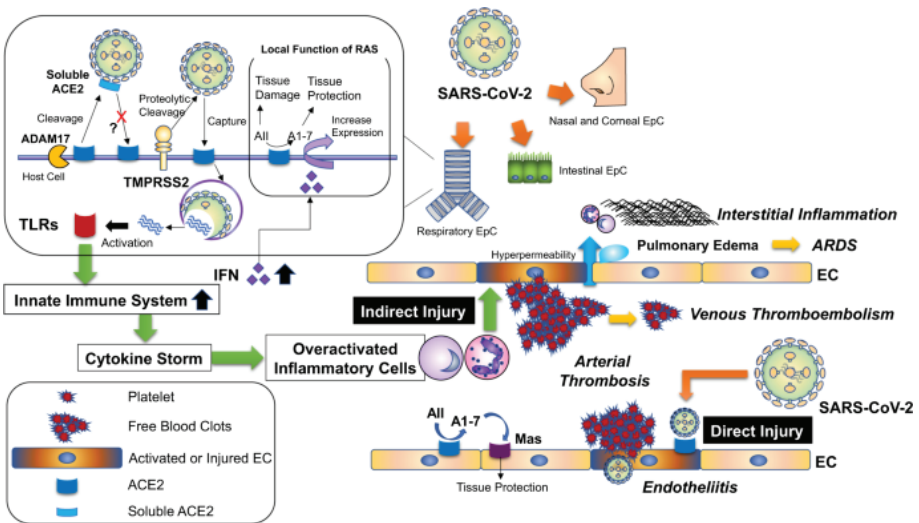
Patomekanisme yang menjelaskan secara langsung antara kejadian obesitas dengan *survival* dari pasien COVID-19 masih belum ditemukan secara jelas. Meskipun demikian, diduga bahwa adanya penumpukan adiposit pada pasien obesitas akan memperkuat respons proinflamasi terhadap infeksi virus COVID-19.¹⁸⁰ Pada individu dengan obesitas, terdapat disregulasi yang ditandai dari respons mieloid dan limfoid pada adiposit yang mengakibatkan disregulasi profil sitokin.¹⁸¹ Hal ini dapat mengakibatkan terjadinya gangguan metabolik dan endokrin seperti resistensi insulin dan disregulasi adipokin yang mengganggu metabolisme lipid dan asam lemak.¹⁸² Adiposit juga memiliki vaskularisasi dan jumlah makrofag yang cukup banyak. Oleh karena itu, adanya gangguan pada adiposit khususnya di lokasi viseral dapat mengakibatkan gangguan inflamasi yang berat yang dapat berpengaruh pada sistem kardiovaskular.¹⁸³ Gangguan tersebut bahkan berpotensi juga mengakibatkan inflamasi berlebihan pada jantung,

pembuluh darah, pankreas, liver dan ginjal. Oleh karena itu, adiposit seringkali menjadi target amplifikasi respons imun dari pathogen eksternal seperti virus.¹⁸⁴

3. PERAN ACE2 DALAM PATOMEKANISME SARS-COV-2

Virus SARS-CoV-2 dapat masuk ke *host* melalui ikatan antara molekul glikoprotein virus dengan reseptor *angiotensin converting enzyme 2* (ACE2) pada permukaan membran sel *host*. Virus SARS-CoV-2 hanya dapat menginfeksi sel dengan ekspresi ACE2 dan tidak dapat menginfeksi sel tanpa ekspresi ACE2. Artinya, reseptor ACE2 merupakan reseptor spesifik untuk virus SARS-CoV-2.^{185,186} Reseptor ACE2 diekspresikan pada beberapa jaringan di tubuh manusia seperti paru-paru, jantung, pembuluh darah, ginjal, pankreas, testis, saraf pusat, dan jaringan adiposa. Pada jaringan adiposa, ditemukan bahwa ekspresi ACE2 lebih tinggi dibandingkan pada jaringan paru.^{187,188}

Pada Gambar 5.1 tampak bahwa ikatan pertama antara virus SARS-CoV-2 dimulai dari paparannya pada saluran napas atas (hidung), saluran napas bawah (bronkiolus) dan saluran cerna. Ikatan antara SARS-CoV-2 (melalui *spike protein*



GAMBAR 5.1 Patomekanisme kerusakan jaringan akibat infeksi SARS-CoV-2 melalui ACE2.¹⁸⁹

yang ada dipermukaannya) dengan reseptor ACE-2 mengakibatkan terjadinya aktivasi dari *Toll Like Receptor* (TLR) dan aktivasi *Renin Angiotensin System* (RAS) yang pada akhirnya mengakibatkan peningkatan respons imun *innate* dan badai sitokin. Badai sitokin ditandai dengan terjadinya peningkatan sitokin proinflamasi seperti IL-6, IL-10, IL-2, IFN- γ yang diikuti dengan penurunan sel CD4⁺ dan sel CD8⁺.¹⁹⁰ Hal tersebut mengakibatkan kerusakan secara tidak langsung pada jaringan paru sehingga terjadi peradangan berlebihan yang mengakibatkan permeabilitas meningkat. Peningkatan permeabilitas akhirnya mengakibatkan edema pada paru-paru sehingga berpotensi mengakibatkan gagal napas.¹⁴⁶

SARS-CoV-2 juga dapat mengakibatkan kerusakan secara langsung pada sel endotel melalui ikatannya dengan reseptor ACE-2. Ikatan tersebut mengakibatkan terjadinya endotelitis yang kemudian mengakibatkan trombosis pada arteri. Hal ini apabila terjadi pada pembuluh darah koroner akan berpotensi mengakibatkan serangan jantung koroner dan apabila terjadi di pembuluh darah otak dapat berpotensi mengakibatkan stroke.¹⁴⁶

4. PERAN IL-6 YANG DIPRODUKSI ADIPOSIT PADA INFEKSI SARS-COV-2

Adanya peran reseptor ACE2 sebagai reseptor spesifik untuk virus SARS-CoV-2 menjadikan reseptor ACE2 sangat penting dalam patomekanisme maupun pengembangan terapi pada COVID-19.^{185,186} Berdasarkan studi *database* genetik oleh Jia *et al.*, dan Al-Benna *et al.*, menunjukkan bahwa ekspresi ACE2 didapatkan lebih tinggi pada jaringan adiposa dibandingkan pada jaringan paru.^{187,188} Pada manusia, reseptor ACE2 juga diekspresikan dalam jaringan adiposit, ketika ekspresi ACE2 pada adiposit viseral lebih tinggi daripada jaringan adiposa subkutan perifer.¹⁹¹ Hal ini menunjukkan bahwa sel adiposit dapat menjadi kunci dari derajat keparahan yang terjadi akibat paparan virus SARS-CoV-2. Meskipun demikian, hingga saat ini masih belum ada studi eksperimental baik secara *in vitro* maupun *in vivo* untuk membuktikan hal tersebut.

Adiposit merupakan salah satu sumber utama dari IL-6 maupun IL-6R. Adiposit dapat menjadi *reservoir* yang memproduksi IL-6 dalam jumlah yang tinggi ketika terjadi infeksi virus.¹⁹² Pada kondisi obesitas, terjadi kenaikan ekspresi

sitokin inflamasi spesifik seperti *tumor necrosis factor* (TNF)- α , interleukin (IL)-1, dan IL-6 yang dilepaskan oleh adiposit.¹⁹³ Oleh karena itu, pasien COVID-19 dengan obesitas memiliki risiko yang sangat tinggi untuk terjadi aktivasi sistem imun pada adiposit akibat virus SARS-CoV-2.

Peran IL-6 pada patomekanisme badai sitokin akibat COVID-19 sangat penting. Ketidakseimbangan sitokin proinflamasi, akibat meningkatnya IL-6 pada pasien COVID-19, dapat terjadi berkepanjangan dalam beberapa hari.¹⁹⁴ Ekspresi IL-6 juga berperan sebagai prediktor kuat dan independen terhadap kematian akibat COVID-19.¹⁹⁵ Oleh karena itu, sangatlah penting untuk melakukan monitor kadar IL-6 untuk memprediksi derajat keparahan akibat badai sitokin yang dipicu infeksi virus SARS-CoV-2.

5. POTENSI OBAT KARDIOVASKULAR PADA INFEKSI SARS-COV-2

Pasien obesitas seringkali memiliki gangguan kardiovaskular sehingga obat-obatan kardiovaskular sering dikonsumsi oleh pasien obesitas.¹⁹⁶ Sejak ditemukannya ACE2 sebagai reseptor SARS-CoV-2, terjadi kontroversi apakah penggunaan obat-obatan kardiovaskular seperti ACEI, ARB maupun Aminoglikosida perlu dihentikan atau dilanjutkan pada kondisi COVID-19.¹⁵⁸

Meskipun demikian, tidak semua ACEI, ARB maupun Aminoglikosida secara konsisten memiliki pengaruh terhadap ekspresi protein ACE2. Contohnya lisinopril mampu meningkatkan ekspresi mRNA ACE2 pada jaringan miokardium tapi ternyata tidak berpengaruh terhadap kadar ACE2 dari membran sel kardiak.¹⁹⁷ Sementara itu, ACEI lain seperti perindopril terbukti mampu meningkatkan ekspresi mRNA maupun protein ACE2 dari jaringan liver.¹⁹⁸ Obat golongan ARB yang terbukti mampu meningkatkan ACE2 adalah Losartan. Peningkatan ACE2 oleh Losartan ini terjadi pada jaringan jantung.¹⁹⁷ Losartan juga terbukti mampu menurunkan sitokin proinflamasi yang menyebabkan terjadinya proses gagal napas pada hewan coba tikus.¹⁹⁹ Sementara itu, dari golongan aminoglikosida ditemukan digoxin yang terbukti mampu mencegah replikasi SARS-CoV-2.²⁰⁰ Sehingga peran ketiga obat tersebut menarik untuk dieksplorasi lebih lanjut untuk menilai efeknya pada adiposit yang dipapar SARS-CoV-2.

6. METODE PENELITIAN EKSPERIMENTAL PEMBERIAN PERINDOPRIL

Pendekatan metode penelitian eksperimental telah digunakan untuk dapat melihat potensi pemberian Perindopril pada derajat keparahan COVID-19 dan gangguan koagulasi pada obesitas. Rincian metode yang digunakan dalam penelitian yang dimaksud adalah sebagai berikut:

a. Rancangan penelitian

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental in vitro study* dengan rancangan penelitian *post-test only control group design*.

b. Waktu dan tempat penelitian

Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium BSL 2 di Departemen Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya. Penelitian akan berlangsung pada tahun 2021–2022.

c. Sampel penelitian

Jaringan adiposa didapatkan dari donor pria yang sehat maupun obesitas usia 30–50 tahun dengan persetujuan tindakan medis. Pengambilan sampel dilakukan di Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya dengan metodologi yang telah disetujui oleh komite etik Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

d. Variabel penelitian

Variabel bebas pada penelitian ini adalah paparan Perindopril, Losartan, Digoxin dan infeksi *spike protein S1 SARS-CoV-2*. Variabel perantara pada penelitian ini adalah ekspresi ACE2. Sedangkan variabel tergantung pada penelitian ini adalah kadar IL-6.

7. PROSEDUR PERSIAPAN SARS-COV-2 S1 SPIKE PROTEIN HINGGA PENGUKURAN VARIABEL

Langkah dan persiapan penelitian oleh penulis juga dirangkum dalam prosedur penelitian sebagai berikut:

a. Persiapan SARS-CoV-2 S1 Spike Protein

SARS-CoV-2 *subunit S1* (RayBiotech, Cat. No. 230-30162-100) digunakan pada eksperimen ini berdasarkan penelitian sebelumnya yang menguji efek

SARS-CoV-2 *spike protein* terhadap *human brain microvascular endothelial cells* (hBMVECs) secara *in vitro*.²⁰¹

b. Isolasi adiposit dari jaringan lemak

Jaringan lemak diisolasi secara enzimatik dengan metode sesuai Carswell *et al.*²⁰² Adiposit diisolasi dari jaringan lemak menggunakan *collagenase* tipe 1 dan hasil isolasi ditumbuhkan dalam media tumbuh yang tersusun atas *Alpha-Minimum Essential Medium* (α -MEM) dengan penambahan suplementasi *penicillin*, *streptomycin* dan *platelet rich plasma* (PRP) kemudian diinkubasi dalam inkubator 37°C dan 5% CO₂.

c. Paparan *spike protein* SARS-CoV-2, Perindopril, Losartan, dan Digoxin
Adiposit ditanam pada 12-*well culture* dan dibagi menjadi kelompok:

- 1) P0: Kontrol negatif tanpa diberikan perlakuan
- 2) P1: Kontrol positif (infeksi *spike protein* S1 SARS-CoV-2)
- 3) P2: SARS-CoV-2 S1 *spike protein* + paparan antibodi anti-ACE2 100 $\mu\text{g/mL}$ ²⁰³
- 4) P3: SARS-CoV-2 S1 *spike protein* + paparan Perindopril dengan dosis 0.5 μM ¹⁹⁸
- 5) P4: SARS-CoV-2 S1 *spike protein* + paparan Losartan dengan dosis 0.7 μM ¹⁶¹
- 6) P5: SARS-CoV-2 S1 *spike protein* + paparan Digoxin pada dosis 0.15 μM ²⁰⁰

Penelitian ini menggunakan konsentrasi subunit SARS-CoV-2 S1 *spike protein* 10 nM berdasarkan penelitian sebelumnya yang menguji efek protein SARS-CoV-2 pada stimulasi sel kekebalan tubuh manusia.²⁰⁴ Pemeriksaan ekspresi ACE2 dan IL-6 dilakukan 2 jam pasca-pemberian Perindopril, Losartan dan Digoxin. Untuk menjaga validitas data, tiap kelompok dilakukan pengulangan secara *triplicate*.²⁰⁵

8. PENGUKURAN EKSPRESI ACE2 DAN IL-6 DAN ANALISIS DATA PENELITIAN

Sebanyak 100 μL larutan sampel suspensi dari tiap perlakuan dimasukkan ke dalam *well* lalu diinkubasi semalam. Sampel kemudian diberi *HRP-conjugated anti-human*

ACE-2 *antibody* dari ELISA Kit kemudian ditambahkan dan diinkubasi selama 1 jam. Hasil dibaca pada λ 450 nm dengan ELISA *reader*. Langkah yang sama juga dilakukan pada pemeriksaan IL-6 namun menggunakan *HRP-conjugated anti-human IL-6 antibody*.

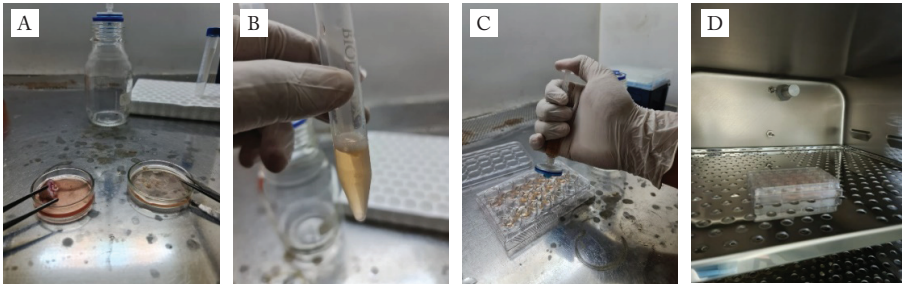
Analisa data dilakukan dengan menggunakan *software* SPSS 25.0. Analisa *One Way ANOVA* dilakukan jika data berdistribusi normal. Analisa *Kruskall-Wallis* dilakukan jika data berdistribusi tidak normal. Perbedaan rerata dikatakan signifikan jika $p < 0.05$.

9. OPTIMASI METODE ISOLASI DAN KULTUR ADIPOSIT DARI JARINGAN LEMAK

Optimasi metode isolasi dan kultur adiposit dilakukan pada penelitian kami untuk menilai apakah metode yang kami lakukan sudah maksimal dan menunjukkan hasil terbaik sebelum kami lanjutkan pada penelitian utama. Adapun proses yang kami lakukan adalah sebagai berikut:

a. Proses skrining subjek

Pemilihan subjek penelitian sesuai kriteria inklusi menjadi hal krusial untuk mendapatkan kultur adiposit yang optimal. Peneliti telah mendapatkan subjek penelitian dengan proses skrining ketat agar memenuhi kriteria inklusi penelitian. Adapun karakteristik subjek penelitian ini adalah: 1. Pasien laki-laki; 2. Usia 42 tahun; 3. Obesitas dengan BMI >30 (dibuktikan dengan hasil pengukuran BMI = 30,86); 4. Bukan penyintas COVID-19 dan tidak pernah terkonfirmasi positif COVID-19 melalui swab PCR/antigen (dibuktikan dengan pemeriksaan swab PCR negatif); 5. tidak ada riwayat diabetes melitus, hipertensi atau penyakit jantung (dibuktikan dengan pemeriksaan GDP (103 mg/dl), GD2JPP (173 mg/dl), tekanan darah (130/85), elektrokardiografi (normal), dan ekokardiografi (normal)); dan 6. dalam keadaan sehat (dibuktikan dengan pemeriksaan laboratorium darah lengkap, urine lengkap, serum elektrolit, fungsi ginjal, dan fungsi liver yang menunjukkan hasil dengan nilai normal). Subjek penelitian telah menyetujui untuk dilakukan pengambilan jaringan lemak, dibuktikan dengan penandatanganan *informed consent* dan lembar penjelasan penelitian.



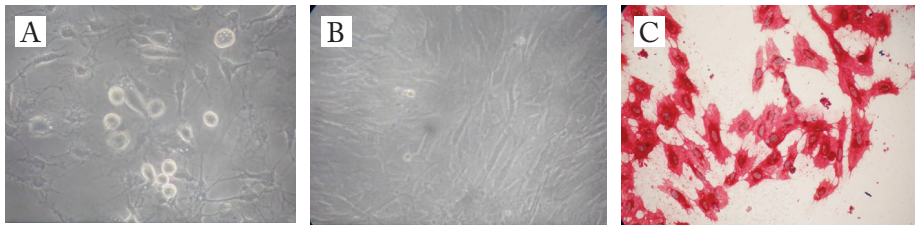
GAMBAR 5.2 Prosedur Isolasi sel lemak. (A) Proses lisis jaringan lemak (B) Hasil isolasi adiposit (C) Proses *seeding* adiposit pada *well* (D) Proses inkubasi dan ekspansi adiposit (Sumber: Dokumen pribadi).

b. Pengambilan sampel lemak dan isolasi

Pengambilan sampel lemak subkutan dilakukan dengan teknik insisi kulit (elips) sesuai Carswell *et al.*,²⁰⁶ di rumah sakit Universitas Muhammadiyah Malang oleh dokter spesialis bedah plastik. Jaringan lemak yang diambil selanjutnya dimasukkan ke dalam medium basal *Dulbecco's Modified Eagle Medium* (DMEM) dan dikirim langsung ke laboratorium fisiologi Universitas Brawijaya Malang untuk dilakukan isolasi dan kultur adiposit. Jaringan lemak selanjutnya diproses dalam kondisi steril untuk memisahkan jaringan lemak dengan jaringan lainnya yang ikut terambil, kemudian jaringan lemak dilisiskan untuk menjadi suspensi (Gambar 5.2A). Selanjutnya, jaringan lemak diletakkan ke dalam tabung 50 cc berisi 1 mg/ml *collagenase* tipe 1 dan dihomogenisasi. Hasil isolasi adiposit (Gambar 5.2B) selanjutnya ditanam pada *well culture* (Gambar 5.2C) dan ditumbuhkan dalam medium basal DMEM dengan penambahan antibiotik *penicillin* dan *streptomycin*. Kultur diinkubasi dalam inkubator 37°C dan 5% CO₂ selama 48 jam untuk proses ekspansi (Gambar 5.2D). Setelah 48 jam, kultur adiposit diamati menggunakan mikroskop.

Hasil pengamatan pada hari ke-1 dan hari ke-7 menunjukkan bahwa sel sehat dan viabel untuk dapat dilakukan intervensi selanjutnya. Sel adiposa dikatakan viabel dan sehat apabila menunjukkan gambaran adheren dan *spindle-shaped cell* (Gambar 5.3A dan B). Setelah 7 hari, kultur sel adiposa dilakukan pengecatan *Oil Red O* untuk membuktikan keberhasilan kultur sel adiposa seperti yang ditunjukkan pada Gambar 5.3C. Protokol pengecatan *Oil Red O* telah sesuai dengan penelitian Zhao *et al.*²⁰⁷

BAB 5



GAMBAR 5.3 Hasil Optimasi Metode Isolasi Sel Lemak. (A) Hari ke-1 kultur sel adiposa (B) Hari ke-7 kultur sel adiposa (C) Pembuktian keberhasilan kultur sel adiposa dengan pengecatan *Oil Red O* (Sumber: Dokumen Pribadi).

10. TEKNIK PENGUKURAN NILAI *BASELINE* ACE2 DAN IL-6 PADA ADIPOSIT

Proses pengukuran *baseline* kadar ACE2 dan IL-6 bertujuan untuk menentukan nilai *cut off* dari parameter tersebut. Nilai *cut off* parameter berguna untuk menentukan pengaruh intervensi terhadap *outcome* penelitian. Pengukuran kadar ACE2 dan IL-6 dilakukan dengan metode ELISA menggunakan ELISA kit ACE2 (Abcam ab235649, USA) dan IL-6 (Elabscience E-EL-H6156, China).^{3,4} Hasil menunjukkan bahwa nilai *cut off* dari ACE2 adalah 13,33 ng/mL dan IL-6 adalah 21,33 ng/mL. Hasil disajikan pada Tabel 5.1.

11. OPTIMASI METODE INFEKSI SPIKE PROTEIN SARS-COV-2 PADA ADIPOSIT

Infeksi *spike protein* S1 SARS-CoV-2 dilakukan dengan cara paparan langsung terhadap kultur adiposit. Sejumlah 10 nM *spike protein* S1 SARS-CoV-2 ditambahkan pada medium kultur adiposit. Hasil perlakuan ini menunjukkan bahwa infeksi *spike protein* S1 SARS-CoV-2 dapat meningkatkan kadar ACE-2 (90,22) dibandingkan dengan *baseline* (13,33) ($p=0,000$). Sementara itu, infeksi *spike protein* S1 SARS-CoV-2 dapat meningkatkan kadar IL-6 (60,008) dibanding *baseline* (21,33) ($p=0,000$). Hasil disajikan pada Tabel 5.1. Peningkatan ACE-2 dan IL-6 ini membuktikan bahwa paparan *spike protein* S1 telah optimal menginfeksi kultur adiposit. Hal ini didukung oleh penelitian Patra *et al.*,⁵ yang menunjukkan

TABEL 5.1 Hasil pengukuran ACE2 dan IL-6

Kelompok	Replikasi (n)	ACE2 (ng/mL)		IL-6 (ng/mL)	
		Mean ± SD	Min-Maks	Mean ± SD	Min-Maks
Baseline	3	13,339 ± 1,513	11,826-14,853	21,336 ± 2,566	18,770-23,903
Paparan <i>spike protein</i> S1 SARS-CoV-2	3	90,220 ± 4,725	85,495-94,945	60,008 ± 1,327	58,681-61,336

Sumber: Data primer

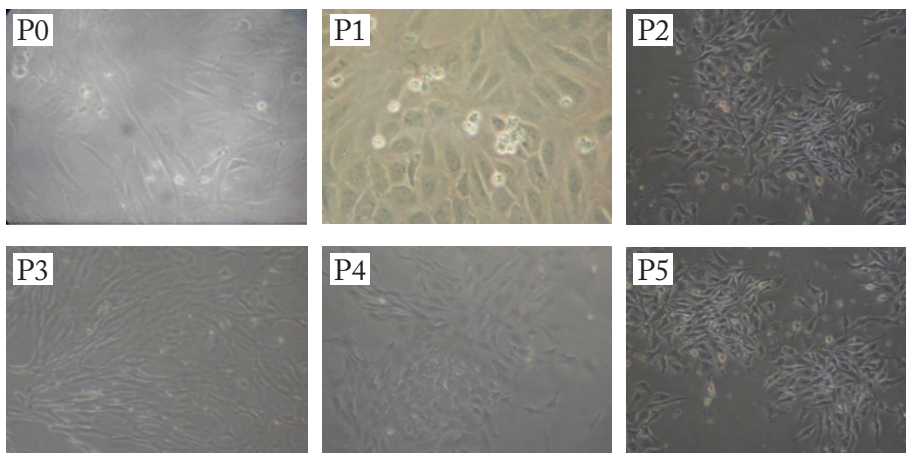
bahwa keberhasilan paparan *spike protein* S1 dalam menginfeksi sel epitel dapat dinilai berdasarkan peningkatan kadar ACE2 dan IL-6.

12. OPTIMASI METODE DAN DOSIS PAPAN PERINDOPRIL, LOSARTAN DAN DIGOKSIN PADA ADIPOSIT

Selain optimalisasi metode paparan *spike protein* S1 SARS-CoV-2, tahapan ini juga mengecek efek pemberian perindopril dengan dosis 0,5 µM⁶, losartan dengan dosis 0,7 µM⁷, dan digoxin pada dosis 0,15 µM⁸ terhadap viabilitas sel. Medium kultur adiposit ditanam pada 12 *well culture* yang dibagi menjadi enam kelompok yaitu kontrol negatif (P0), kontrol positif paparan SARS-CoV-2 *spike protein* (P1), SARS-CoV-2 *spike protein* + paparan antibodi anti-ACE2 100 µg/mL²¹² (P2), SARS-CoV-2 *spike protein* + paparan perindopril dengan dosis 0,5 µM⁶ (P3), SARS-CoV-2 *spike protein* + paparan losartan dengan dosis 0,7 µM⁷ (P4), dan SARS-CoV-2 *spike protein* + paparan digoxin pada dosis 0.15 µM⁸ (P5). Setelah 24 jam, kultur adiposit diamati menggunakan mikroskop.

Hasil pengamatan menunjukkan bahwa kultur sel adiposit pada grup P2, P3, P4, dan P5 tetap sehat, viabel, dan tidak terdapat tanda toksitas pada sel jika dibandingkan dengan kontrol negatif (Gambar 5.4). Sel adiposa dikatakan sehat dan viabel apabila menunjukkan gambaran sel yang adheren yang ditandai dengan bentuk *spindle-shaped cell* serta secara bertahap koloni akan tumbuh semakin besar dan konfluens.²¹³ Hal ini menunjukkan bahwa metode dan dosis paparan yang digunakan telah optimal untuk digunakan pada tahapan selanjutnya (tahap kedua) yaitu pengukuran parameter variabel penelitian.

BAB 5



GAMBAR 5.4 Kultur Sel Adiposit pasca-paparan. (P0) Kontrol negatif; (P1) Kontrol positif; (P2) SARS-CoV-2 *spike protein* + paparan antibodi anti-ACE2 100 $\mu\text{g}/\text{mL}$; (P3) SARS-CoV-2 *spike protein* + paparan perindopril dengan dosis 0.5 μM ; (P4) SARS-CoV-2 *spike protein* + paparan losartan dengan dosis 0.7 μM ; (P5) SARS-CoV-2 *spike protein* + paparan digoxin pada dosis 0.15 μM (Sumber gambar: Dokumen Pribadi).

13. HASIL PENELITIAN PERINDOPRIL

Infeksi spike protein SARS-COV-2 S1 berhasil dilakukan pada kultur adiposit selama penelitian. Ekspresi ACE2, TF, dan PAI-1 diukur setelah 48 jam menggunakan metode imunofluoresensi (antibodi ACE2 anti-manusia terkonjugasi FITC) dan ELISA (antibodi TF anti-manusia terkonjugasi-HRP dan PAI-manusia anti-manusia terkonjugasi HRP). 1 antibodi). Hasil penelitian menunjukkan bahwa infeksi lonjakan protein SARS-COV-2 S1 dapat meningkatkan kadar ACE2 (80,31) dibandingkan baseline (14,48) ($p=0,000$). Hasil yang berbeda ditunjukkan oleh kelompok perindopril. Kelompok yang diberikan perindopril memiliki kadar ACE2 yang lebih tinggi (112,67) dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p=0,000$). Kelompok perindopril juga mampu menurunkan nilai TF (4,843) secara signifikan dibandingkan dengan kontrol ($p=0,005$). Hasil lain menunjukkan bahwa kelompok yang diberi perindopril mampu menurunkan kadar PAI-1 (3,484) dibandingkan dengan kelompok kontrol ($p=0,001$),

TABEL 5.2 Hasil kadar *angiotensin-converting enzyme 2* (ACE2), *tissue factor* (TF), dan *plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1)

Grup	n	ACE2 (ng/mL)		Tissue factor (ng/mL)		PAI-1 (ng/mL)	
		Mean ± SD	Min-Max	Mean ± SD	Min-Max	Mean ± SD	Min-Max
Negative control (baseline)	3	14.48 ± 2.756	11.73-17.24	2.993 ± 0.641	2.43-3.69	1.956 ± 0.076	1.88-2.03
Positive control	3	80,312 ± 9,312	71,00-89,62	6,857 ± 0,228	6,60-7,02	4,865 ± 0,115	4,75-4,98
Perindopril	3	47.54 ± 1.36	46.05-48.71	4.843 ± 0.396	4.43-5.22	3.484 ± 0.252	3.22-3.72
ACE2 protein recombinant	3	11.107 ± 1.577	10.13-12.93	4.121 ± 0.437	3.76-4.61	3.375 ± 0.443	3.10-3.89

Sumber: Data Primer

14. ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME INHIBITOR (ACEI) MEMODULASI ACE2

Pembahasan mengenai hasil penelitian yang kami lakukan menunjukkan keberadaan ACE2 pada jaringan adiposa yang mengandung spike protein S1 SARS-CoV-2.²¹⁴ Penelitian kami berhasil menunjukkan peran ACE2 pada aktivasi jalur ekstrinsik dan kadar PAI-1 dalam mekanisme fibrinolisis. Sel adiposit yang diberi spike protein SARS-COV-2 S1 memiliki peningkatan jumlah kadar ACE2 yang signifikan dibandingkan dengan baseline. Patel dkk., juga menunjukkan adanya peningkatan aktivitas ACE2 selama infeksi SARS-COV-2 dan terus meningkat setelahnya.²¹⁵

Peningkatan ACE2 berhubungan dengan peningkatan proses shedding ACE2 membran pada sel yang terinfeksi.²¹⁶ Ada banyak hipotesis tentang bagaimana ACE inhibitor mampu memengaruhi ekspresi protein ACE2, yang dapat mengubah kerentanan inang terhadap infeksi SARS-COV-2. Untuk menetapkan peran ACEI dalam memodulasi ekspresi ACE2, Perindopril digunakan dalam penelitian ini. Perindopril telah terbukti mampu meningkatkan kadar ACE2 lebih tinggi dari *baseline*. Studi sebelumnya menemukan bahwa pemberian lisinopril dosis tunggal juga menyebabkan peningkatan ACE2 yang signifikan dibandingkan dengan kontrol positif.²¹⁷ Studi lain pada sel alveolar manusia menunjukkan peningkatan tajam ekspresi gen ACE2, 24 jam pasca- pemberian kaptopril.²¹⁸

BAB 5

Pengaruh Perindopril pada Derajat Keparahan COVID-19 dan Gangguan Koagulasi pada Obesitas

Angiotensin converting enzyme inhibitor (ACEi) bekerja dengan mengurangi Angiotensin II bebas, sedangkan ARB meningkatkan kadar Angiotensin II bebas dalam sirkulasi.^{219,220} Perbedaan tersebut juga memberikan hasil yang tidak sama antara pemberian Perindopril dan Losartan. Perindopril mampu menghambat respons Angiotensin II yang dapat memengaruhi reseptor Angiotensin 1 untuk mengurangi regulasi ACE2 melalui jalur ERK1/2 atau p38 MAPK. Selain itu, Perindopril juga meningkatkan kadar ACE2 bebas melalui proses pelepasan reseptor ACE2 dari permukaan sel (*Shedding*) oleh disintegrin dan metalloprotease ADAM17.²²¹ Namun demikian, penelitian lebih lanjut diperlukan di masa depan untuk menjelaskan peran ACEI pada Angiotensin II.

15. PENCEGAHAN KOMPLIKASI TROMBOTIK DENGAN PEMBERIAN ANGIOTENSIN CONVERTING ENZYME INHIBITOR (ACEI)

Pada dasarnya penurunan aktivitas ACE2 berperan penting dalam kejadian tromboemboli pada pasien dengan COVID-19. ACE2 memainkan peran penting dalam mencegah peningkatan paparan TF dan PAI-1 sehingga menghambat peningkatan aktivasi jalur ekstrinsik dan penurunan fibrinolisis. Keduanya bertanggung jawab atas kejadian komplikasi trombotik pada pasien COVID-19.²²²

Aktivasi TF menyebabkan gangguan pembuangan fibrin, koagulasi intravaskular diseminata (DIC), konsumsi fibrin, dan penurunan jumlah trombosit.²²³ Inciardi *et al.*, menemukan bahwa pasien COVID-19 dengan komorbid penyakit kardiovaskular memiliki prognosis yang sangat buruk akibat tromboemboli dibandingkan dengan penderita COVID-19 tanpa komorbid kardiovaskular.²²⁴ Peningkatan TF akibat paparan spike protein S1 SARS-COV-2 disebabkan oleh aktivitas ATII yang tinggi. ATII bekerja dengan mengikat *Angiotensin II Receptor Type 1* (AGTR1), yang meningkatkan ekspresi TF dan PAI-1.²²⁵

Untuk membuktikan peran ACEI dalam menurunkan kadar TF, kami menguji perindopril pada sampel penelitian *in vitro*. Hasil penelitian kami menunjukkan bahwa Perindopril mampu menurunkan kadar TF dan PAI-1 yang berperan pada proses koagulasi. Hasil tersebut juga mendukung penelitian sebelumnya saat pemberian perindopril secara signifikan mengurangi kadar TF dibandingkan dengan kontrol positif.²²⁶

PAI-1 sebagai indikator disfungsi endotel diproduksi oleh molekul penyebab cedera sel endotel, termasuk TNF, TGF, ATII, dan Thrombin.²²⁷ Penelitian kami menggunakan adiposit sel yang terpapar spike protein S1 SARS-COV-2. Tingkat PAI-1 meningkat secara signifikan pada kelompok yang dipapar Spike protein S1 dibandingkan dengan baseline. Penelitian *in vitro* Han dan Pandey sebelumnya juga menunjukkan bahwa *glycoprotein spike envelope* SARS-COV-2-S1 sangat merangsang produksi PAI-1.²²⁷ Dalam hal ini, fokus penelitian kami adalah pada kapasitas ACEI untuk menghentikan kenaikan PAI-1, yang telah terbukti merugikan efek pada tromboemboli.

Studi kami telah menunjukkan efek ACEi terhadap level PAI-1 pasca dipapar spike protein. Jika dibandingkan dengan kontrol positif, obat perindopril berhasil menurunkan secara signifikan tingkat PAI-1. Temuan ini menunjukkan bahwa ACEI dapat membantu mencegah masalah trombotik, khususnya pada pasien COVID-19. ACEI telah berhasil meningkatkan aktivitas fibrinolitik dengan menurunkan kadar plasma PAI-1. Efek positif ACEI pada sistem fibrinolitik adalah terkait dengan penurunan pelepasan Angiotensin II yang dimediasi PAI-1 dan peningkatan pelepasan TPA, yang diinduksi oleh Bradikinin.²²⁸ Penelitian kami secara bersamaan menanggapi pertanyaan penelitian kohort sebelumnya dengan memeriksa pengaruh potensial terapi ACE2 terhadap terjadinya peristiwa trombotik pada pasien COVID-19.²²⁹ Penelitian kami menunjukkan bahwa ACEI justru berpotensi untuk berkontribusi pada fibrinolisis, terutama dalam kasus COVID-19.

Pengaruh Pemberian Losartan pada Derajat Keparahan COVID-19 dan Gangguan Koagulasi

1. EKSPRESI PAI-1 DAN TF SEBAGAI PENANDA HIPERKOAGULASI PADA COVID-19

Wabah penyakit *coronavirus disease* 2019 (COVID-19) dinyatakan sebagai pandemi global oleh WHO dan telah menyebabkan jutaan kasus kematian di seluruh dunia. Umumnya pasien yang meninggal mengalami gagal napas dan gangguan koagulasi darah yang merupakan penyebab kematian utama pasien

COVID-19.²³⁰ Koagulopati adalah salah satu kondisi yang paling mengancam pada pasien COVID-19 dengan gejala berat, ditandai dengan peningkatan prothrombin, D-dimer, dan kadar fibrinogen.²³¹

Infeksi COVID-19 diawali dengan masuknya virus SARS-CoV-2 melalui ikatan antara molekul glikoprotein virus dengan reseptor *angiotensin converting enzyme 2* (ACE2) pada membran sel inang. Virus SARS-CoV-2 secara eksklusif hanya dapat menginfeksi sel dengan ekspresi ACE2.²³² Selain itu, SARS-CoV-2 juga berperan dalam disfungsi endotel pembuluh darah dan koagulasi yang ditandai dengan peningkatan pembentukan trombin dan kadar D-Dimer.^{231,233}

Saat terjadi infeksi, sel endotel melepaskan sitokin proinflamasi seperti TNF- α , IL-1, dan IL-6 yang dapat meningkatkan ekspresi TF pada lapisan endotel dan juga *plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1). Ekspresi TF dan PAI-1 yang diinduksi endotoksin oleh endotel dapat memberikan stimulus yang memicu komplikasi trombotik.^{234,235} TF adalah protein transmembran yang berfungsi sebagai reseptor dan kofaktor untuk faktor koagulasi VII dan VIIa.²³⁵

Pada infeksi SARS-CoV-2 terjadi penurunan *TF pathway inhibitor* (TFPI) dan peningkatan fibrinogen terutama pada pasien covid-19 yang memiliki gejala berat.²³⁶ TFPI adalah inhibitor protease serin yang menghambat TF-FVIIa dan kompleks protrombinase (FXa/FVa) dan mengatur pembentukan thrombin.²³⁷ Penurunan TFPI mendorong pembentukan trombin melalui jalur TF dan aktivasi FX yang pada akhirnya menginduksi aktivasi trombosit dan terbentuk thrombus yang tidak stabil. Keadaan tersebut menyebabkan peningkatan kadar PAI-1 untuk mencegah fibrinolisis terutama pada pasien COVID-19 yang memiliki gejala sedang.²³⁶

ACE2 merupakan reseptor SARS-CoV-2, downregulation dari ACE2 dapat meningkatkan regulasi AT-II sekunder,²³⁸ sehingga penggunaan obat-obatan kardiovaskular, seperti ACE *Inhibitor* (ACEI) atau *Angiotensin II Receptor Blocker* (ARB) masih kontroversi karena tidak semua memiliki efek yang konsisten terhadap ekspresi ACE2.²³⁹ Di sisi lain, pencegahan gejala berat dari COVID-19 seperti gangguan koagulasi, diduga dapat dicegah melalui peningkatan ACE2 dan mencegah badai sitokin.²⁴⁰ Salah satu jenis ARB yang terbukti meningkatkan ekspresi ACE2 adalah Losartan.²¹¹ Oleh karena itu, perlu dilakukan penelitian untuk mengetahui peran obat-obatan tersebut terhadap ekspresi PAI-1 dan TF pada kultur adiposit yang dipapar SARS-CoV-2.

2. METODE ELISA UNTUK PEMERIKSAAN EKSPRESI PAI-1 DAN TF

Penelitian ini merupakan penelitian *true experimental in vitro study* dengan rancangan penelitian *post-test only control group design*. Penelitian ini akan dilakukan di Laboratorium BSL 2 di Departemen Fisiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.

Penelitian ini menggunakan Jaringan adiposa didapatkan dari donor pria yang sehat dan obesitas dengan kriteria inklusi (IMT ≥ 30), usia 30–50 tahun, tanpa komorbid seperti; 1. Infeksi menular HIV, HBV dan HCV; 2. infark miokard akut, gagal jantung, aritmia ganas, penyakit katup jantung, stroke, transient ischemic attack, penyakit arteri perifer, diabetes mellitus dan gagal ginjal; 3. Memiliki struktur dan fungsi jantung normal secara ekokardiografi; dan 4. Swab PCR COVID-19, belum pernah terkena dan vaksinasi COVID-19.

Jaringan lemak yang telah diambil kemudian diisolasi secara enzimatik dengan metode sesuai Carswell *et al.*,²⁰⁶ Sel adiposit diisolasi menggunakan *collagenase* tipe 1 dan ditumbuhkan dalam media *Alpha-Minimum Essential Medium* (α -MEM) dengan penambahan suplementasi *penicillin*, *streptomycin* dan *platelet rich plasma* (PRP) kemudian diinkubasi dalam inkubator 37°C dan 5% CO₂. Sel adiposit ditanam pada *well culture* dan dibagi menjadi beberapa kelompok.

Penelitian ini menggunakan konsentrasi *subunit SARS-CoV-2 S1* spike protein 10 nM²⁴¹ dan paparan Losartan dengan dosis 0,7 μ M.²¹¹ Pemeriksaan ekspresi PAI-1 dan TF menggunakan metode ELISA yang dilakukan 2 jam pasca-pemberian Losartan. Untuk menjaga validitas data, tiap kelompok dilakukan pengulangan secara *triplicate*.²⁰⁶

Analisa data dilakukan dengan menggunakan *software* SPSS 25.0. Analisa One Way ANOVA dilakukan jika data berdistribusi normal. Analisa Kruskal-Wallis dilakukan jika data berdistribusi tidak normal. Perbedaan rerata dikatakan signifikan jika $p < 0,05$.

3. LOSARTAN MEMENGARUHI KADAR ACE2, TF DAN PAI-1

Hasil penelitian kadar ACE2, TF, dan PAI-1 pasca- infeksi spike protein SARS-COV-2 terhadap jaringan adiposit yang telah diberikan losartan menunjukkan bahwa infeksi lonjakan protein SARS-COV-2 S1 berhasil dilakukan pada kultur

adiposit selama penelitian. Ekspresi ACE2, TF, dan PAI-1 diukur setelah 48 jam menggunakan metode imunofluoresensi (antibodi ACE2 anti-manusia terkonjugasi FITC) dan ELISA (antibodi TF anti-manusia terkonjugasi-HRP dan PAI-manusia anti-manusia terkonjugasi HRP). 1 antibodi).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa infeksi spike protein SARS-COV-2 S1 dapat meningkatkan kadar ACE2 (80,31) dibandingkan baseline (14,48) ($p=0,000$). Kelompok Losartan menunjukkan kadar ACE2 yang jauh lebih rendah (27,522) dibandingkan kelompok kontrol ($p=0,000$). Jika dibandingkan dengan kelompok perindopril, Losartan diketahui memiliki perbedaan yang signifikan dengan Perindopril terhadap kadar ACE2 ($p=0,000$).

Studi yang sama juga menunjukkan bahwa infeksi spike protein SARS-COV-2 S1 juga dapat meningkatkan kadar TF (6,857) dibandingkan dengan baseline (2,993) ($p=0,000$). Losartan mampu menurunkan nilai TF (5,624) dibandingkan dengan kontrol positif, namun perbedaannya tidak terlalu signifikan ($p=0,111$). Jika dibandingkan dengan Perindopril (Gambar 5.1) tidak ada perbedaan nilai TF yang terlihat antara kelompok perindopril dan losartan ($p=0,772$).

Menurut faktor koagulasinya, infeksi spike protein SARS-COV-2 S1 mampu meningkatkan kadar PAI-1 (4,865) dibandingkan baseline (1,956) ($p=0,000$). Kelompok yang diberi Losartan mampu secara efektif menurunkan kadar PAI (2,633) ($p=0,000$).

TABEL 6.1 Hasil kadar *angiotensin-converting enzyme 2* (ACE2), *tissue factor* (TF), dan *plasminogen activator inhibitor-1* (PAI-1)

Grup	n	ACE2 (ng/mL)		Tissue factor (ng/mL)		PAI-1 (ng/mL)	
		Mean \pm SD	Min-Max	Mean \pm SD	Min-Max	Mean \pm SD	Min-Max
Negative control (baseline)	3	14.48 \pm 2.756	11.73-17.24	2.993 \pm 0.641	2.43-3.69	1.956 \pm 0.076	1.88-2.03
Positive control	3	80,312 \pm 9,312	71,00-89,62	6,857 \pm 0,228	6,60-7,02	4,865 \pm 0,115	4,75-4,98
Losartan	3	150.98 \pm 9.47	141.37-1160.32	5.624 \pm 0.606	5.01-6.22	2.633 \pm 0.269	2.40-2.93
ACE2 protein recombinant	3	11.107 \pm 1.577	10.13-12.93	4.121 \pm 0.437	3.76-4.61	3.375 \pm 0.443	3.10-3.89

4. KEMAMPUAN ANGIOTENSIN RECEPTOR BLOCKER (ARB) MEMODULASI ACE2 PADA COVID-19

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan pada Tabel 6.1 maka dalam menetapkan peran ARB dalam memodulasi ekspresi ACE2, kami menggunakan losartan dalam penelitian ini. Losartan menunjukkan penurunan kadar ACE2 yang signifikan dibandingkan *baseline*. Hasil uji perindopril pada Tabel 5.1 menunjukkan perbedaan peran perindopril yang dapat meningkatkan kadar ACE2 secara signifikan berkebalikan dengan peran Losartan. Meskipun ACEI dan ARB sama-sama memengaruhi ACE2 secara langsung, namun keduanya memiliki efek yang berbeda terhadap reseptor Angiotensin II. *Angiotensin Converting Enzyme Inhibitor* (ACEi) bekerja dengan mengurangi Angiotensin II bebas, sedangkan ARB meningkatkan kadar Angiotensin II bebas dalam sirkulasi.^{219,220} Terdapat tiga mekanisme saat Angiotensin II mampu memengaruhi reseptor Angiotensin I untuk mengurangi regulasi ACE2: 1. Angiotensin II menurunkan ekspresi ACE2 dengan menginduksi ERK1/2 atau p38 MAPK; 2. Angiotensin II menyebabkan pelepasan ACE2 dari permukaan sel oleh disintegrin dan metalloprotease ADAM17; 3. Angiotensin II menyebabkan internalisasi ACE2 untuk masuk ke dalam sel.²⁴² Namun demikian, penelitian lebih lanjut diperlukan di masa depan untuk menjelaskan peran ACEI/ARB pada ATII.

5. PENCEGAHAN KOMPLIKASI TROMBOTIK DENGAN PEMBERIAN ARB

Penurunan aktivitas ACE2 berperan penting dalam kejadian tromboemboli pada pasien dengan COVID-19. ACE2 memainkan peran penting dalam mencegah peningkatan paparan TF dan PAI-1 sehingga menghambat peningkatan aktivasi jalur ekstrinsik dan penurunan fibrinolisis. Keduanya bertanggung jawab atas kejadian komplikasi trombotik pada pasien COVID-19.²²²

Pemberian spike protein SARS-CoV-2 S1 menyebabkan peningkatan kadar TF pada kelompok kontrol positif, yang secara signifikan berbeda dengan *baseline*.²⁴³ Peningkatan TF akibat lonjakan protein SARS-COV-2 S1 disebabkan oleh aktivitas Angiotensin II yang tinggi. Angiotensin II bekerja dengan mengikat Angiotensin 1 (AGTR1) reseptor, yang meningkatkan ekspresi TF dan PAI-1.²²⁵

Untuk menetapkan peran ARBs dalam menurunkan kadar TF, dilakukan uji in vitro terhadap losartan.

Penelitian kami menggunakan adiposit sel yang terpapar spike protein S1 SARS-COV-2. Jaringan adiposa yang kami paparkan spike protein menjadi sumber utama sirkulasi PAI-1 dibuktikan dengan nilai PAI-1 pada kelompok kontrol positif (Tabel 6.1). Hal tersebut menjelaskan bagaimana obesitas meningkatkan risiko tromboemboli, rawat inap, dan kematian terkait COVID-19.²²⁸ Lapisan glikoprotein spike protein SARS-COV-2-S1 pada bagian permukaan virus (*envelope*) sangat merangsang produksi PAI-1 di dalam percobaan penelitian terhadap sel endotel *human pulmonary microvascular* (HPMMecs).²²⁷ Hasil penelitian kami sejalan dengan fokus penelitian kami dalam menjelaskan kapasitas ARB untuk menghentikan kenaikan PAI-1 yang terbukti merugikan efek pada tromboemboli.

Studi kami berhasil menunjukkan efek paparan spike protein terhadap kadar PAI-1 pasca- pemberian ARB. Meskipun tidak sebaik Perindopril dalam menurunkan kadar Tf, Losartan mampu menekan peningkatan PAI-1 lebih unggul dibandingkan ACEi. Penelitian kami menunjukkan bahwa ARB berpotensi mencegah kejadian hiperkoagulasi dengan memicu mekanisme fibrinolisis dalam kasus COVID-19.

Studi kami juga menjadi yang pertama dalam membandingkan peran ACEI dan ARB dalam sel adiposit yang telah terpapar spike protein SARS-Cov-2 S1. Beberapa teori menyebutkan adanya hubungan antara ARB dan peningkatan Angiotensin II bebas yang dianggap mampu menyebabkan instabilitas fibrinolitik dan plak pecah.²⁴⁴ Penelitian lebih lanjut diperlukan untuk menetapkan sejauh mana peran ARB dapat berkontribusi terhadap potensi pencegahan komplikasi tromboemboli.

Daftar Pustaka

1. Rothan HA, Byrareddy SN. The epidemiology and pathogenesis of coronavirus disease (COVID-19) outbreak. *J Autoimmun.* 2020;109:102433. doi:10.1016/J.JAUT.2020.102433
2. WHO. Naming the coronavirus disease (COVID-19) and the virus that causes it. Published 2020. Accessed July 22, 2022. [https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-\(covid-2019\)-and-the-virus-that-causes-it](https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019/technical-guidance/naming-the-coronavirus-disease-(covid-2019)-and-the-virus-that-causes-it)
3. Huang C, Wang Y, Li X, et al. Clinical features of patients infected with 2019 novel coronavirus in Wuhan, China. *Lancet.* 2020;395(10223):497-506. doi:10.1016/S0140-6736(20)30183-5
4. Khan K, Karim F, Ganga Y, et al. Omicron sub-lineages BA.4/BA.5 escape BA.1 infection elicited neutralizing immunity. *medRxiv.* 2022;(7):2022.04.29.22274477. doi:10.1101/2022.04.29.22274477
5. Tegally H, Moir M, Everatt J, et al. Continued Emergence and Evolution of Omicron in South Africa: New BA.4 and BA.5 lineages. *medRxiv.* Published online May 2, 2022:2022.05.01.22274406. doi:10.1101/2022.05.01.22274406
6. Pandey A, Yadav S. Essentials of COVID-19 and treatment approaches. *Data Science for COVID-19: Volume 2: Societal and Medical Perspectives.* Published online January 1, 2022:397-422. doi:10.1016/B978-0-323-90769-9.00026-8
7. WHO. *WHO Coronavirus (COVID-19) Dashboard.*; 2022. <https://covid19.who.int/>
8. South AM, Diz DI, Chappell MC. COVID-19, ACE2, and the cardiovascular consequences. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2020;318(5):H1084-H1090. doi:10.1152/AJPHEART.00217.2020
9. Richardson S, Hirsch JS, Narasimhan M, et al. Presenting Characteristics, Comorbidities, and Outcomes Among 5700 Patients Hospitalized With COVID-19 in the New York City Area. *JAMA.* 2020;323(20):2052-2059. doi:10.1001/JAMA.2020.6775

10. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*. 2020; 323(13): 1239-1242. doi:10.1001/JAMA.2020.2648
11. Klok FA, Kruip MJHA, van der Meer NJM, et al. Incidence of thrombotic complications in critically ill ICU patients with COVID-19. *Thromb Res*. 2020;191:145-147. doi:10.1016/J.THROMRES.2020.04.013
12. Kang Y, Chen T, Mui D, et al. Cardiovascular manifestations and treatment considerations in COVID-19. *Heart*. 2020;106(15):1132. doi:10.1136/HEARTJNL-2020-317056
13. Carrieri V, De Paola M, Gioia F. The health-economy trade-off during the Covid-19 pandemic: Communication matters. *PLoS One*. 2021;16(9):e0256103. doi:10.1371/JOURNAL.PONE.0256103
14. Ranzani OT, Bastos LSL, Gelli JGM, et al. Characterisation of the first 250 000 hospital admissions for COVID-19 in Brazil: a retrospective analysis of nationwide data. *Lancet Respir Med*. 2021;9(4):407-418. doi:10.1016/S2213-2600(20)30560-9/ATTACHMENT/A8634329-C7DD-4C89-8122-12A37A07845E/MMC2.PDF
15. COVID-19 pandemic triggers 25% increase in prevalence of anxiety and depression worldwide. Accessed July 24, 2022. <https://www.who.int/news/item/02-03-2022-covid-19-pandemic-triggers-25-increase-in-prevalence-of-anxiety-and-depression-worldwide>
16. Silva SJR da, Pena L. Collapse of the public health system and the emergence of new variants during the second wave of the COVID-19 pandemic in Brazil. *One Health*. 2021;13. doi:10.1016/J.ONEHLT.2021.100287
17. Capurro A, Deagosto G, Ferro F, Ithurralde S, Oddone G. Social and Economic Impact of COVID-19 and Policy Options in Uruguay. *The Socio-Economic Implications of the COVID-19 Pandemic*. 2021;(10):109-143. doi:10.18356/9789210055413c010
18. Panneer S, Kantamaneni K, Palaniswamy U, et al. Health, Economic and Social Development Challenges of the COVID-19 Pandemic: Strategies for Multiple and Interconnected Issues. *Healthcare*. 2022;10(5):770. doi:10.3390/healthcare10050770
19. Gupta M, Abdelmaksoud A, Jafferany M, Lotti T, Sadoughifar R, Goldust M. COVID-19 and economy. *Dermatol Ther*. 2020;33(4). doi:10.1111/DTH.13329
20. United Nations. Socio-economic impact of COVID-19 | United Nations Development Programme. United nations development programme. Published 2020. Accessed July 24, 2022. https://www.undp.org/asia-pacific/socio-economic-impact-covid-19?utm_source=EN&utm_medium=GSR&utm_content=US_UNDP_PaidSearch_Brand_English&utm_campaign=CENTRAL&cc_src=CENTRAL&cc_src2=GSR&gclid=Cj0KCQjwuO6WBhDLARIsAIdeyDKd4ou76B4hfryYO-JjE6tfsdhNHIPnfy__7ZK
21. Grasselli G, Zangrillo A, Zanella A, et al. Baseline Characteristics and Outcomes of 1591 Patients Infected With SARS-CoV-2 Admitted to ICUs of the Lombardy Region, Italy. *JAMA*. 2020;323(16):1574-1581. doi:10.1001/JAMA.2020.5394

22. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and Important Lessons From the Coronavirus Disease 2019 (COVID-19) Outbreak in China: Summary of a Report of 72 314 Cases From the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*. 2020;323(13):1239-1242. doi:10.1001/JAMA.2020.2648
23. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *J Thromb Haemost*. 2020;18(4):844-847. doi:10.1111/JTH.14768
24. University Hospitals Birmingham. *COVID19 INFOGRAPHIC*.; 2020.
25. Fried JA, Ramasubbu K, Bhatt R, et al. The Variety of Cardiovascular Presentations of COVID-19. *Circulation*. 2020;141(23):1930-1936. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.120.047164
26. Basu-Ray I, Almaddah N k, Adeboye A, Soos MP. Cardiac Manifestations Of Coronavirus (COVID-19). *StatPearls*. Published online May 2, 2022.
27. Cardiology TTF for the management of C 19 of the ES of, Baigent C, Windecker S, et al. European Society of Cardiology guidance for the diagnosis and management of cardiovascular disease during the COVID-19 pandemic: part 1—epidemiology, pathophysiology, and diagnosis. *Eur Heart J*. 2022;43(11):1033-1058. doi:10.1093/eurheartj/ehab696
28. Nishiga M, Wang DW, Han Y, Lewis DB, Wu JC. COVID-19 and cardiovascular disease: from basic mechanisms to clinical perspectives. *Nature Reviews Cardiology* 2020 17:9. 2020;17(9):543-558. doi:10.1038/s41569-020-0413-9
29. Monteil V, Kwon H, Prado P, et al. Inhibition of SARS-CoV-2 Infections in Engineered Human Tissues Using Clinical-Grade Soluble Human ACE2. *Cell*. 2020;181(4):905-913. e7. doi:10.1016/j.cell.2020.04.004
30. Cai L, Guo X, Cao Y, et al. Determining available strategies for prevention and therapy: Exploring COVID-19 from the perspective of ACE2 (Review). *Int J Mol Med*. 2021;47(4):1-1. doi:10.3892/IJMM.2021.4876/HTML
31. Almejdi AM, Khoder G, Alchakee AS, Alsayyid AT, Sarg NH, Soliman SSM. SARS-CoV-2 spike protein: pathogenesis, vaccines, and potential therapies. *Infection*. 2021;49(5):855-876. doi:10.1007/s15010-021-01677-8
32. Bian J, Li Z. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2): SARS-CoV-2 receptor and RAS modulator. *Acta Pharm Sin B*. 2021;11(1):1-12. doi:10.1016/j.apsb.2020.10.006
33. Zhang P, Zhu L, Cai J, et al. Association of Inpatient Use of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors and Angiotensin II Receptor Blockers With Mortality Among Patients With Hypertension Hospitalized With COVID-19. *Circ Res*. 2020;126(12):1671-1681. doi:10.1161/CIRCRESAHA.120.317134
34. Tang Y, Liu J, Zhang D, Xu Z, Ji J, Wen C. Cytokine Storm in COVID-19: The Current Evidence and Treatment Strategies. *Front Immunol*. 2020;11:1708. doi:10.3389/fimmu.2020.01708/BIBTEX

35. South AM, Tomlinson L, Edmonston D, Hiremath S, Sparks MA. Controversies of renin-angiotensin system inhibition during the COVID-19 pandemic. *Nature Reviews Nephrology* 2020;16:6. 2020;16(6):305-307. doi:10.1038/s41581-020-0279-4
36. Luo J, Zhu X, Jian J, Chen X, Yin K. Cardiovascular disease in patients with COVID-19: Evidence from cardiovascular pathology to treatment. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2021;53(3):273-282. doi:10.1093/abbs/gmaa176
37. Luo J, Zhu X, Jian J, Chen X, Yin K. Cardiovascular disease in patients with COVID-19: Evidence from cardiovascular pathology to treatment. *Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai)*. 2021;53(3):273-282. doi:10.1093/abbs/gmaa176
38. Chung MK, Zidar DA, Bristow MR, et al. COVID-19 and Cardiovascular Disease. *Circ Res*. 2021;128(8):1214-1236. doi:10.1161/CIRCRESAHA.121.317997
39. Wu Z, McGoogan JM. Characteristics of and important lessons from the coronavirus disease 2019 (COVID-19) outbreak in China: summary of a report of 72 314 cases from the Chinese Center for Disease Control and Prevention. *JAMA*. 2020;323:1239-1242.
40. Chen C, Chen C, Yan J, Zhou N, Zhao J, Wang D. Analysis of myocardial injury in patients with COVID-19 and association between concomitant cardiovascular diseases and severity of COVID-19. *Zhonghua Xin Xue Guan Bing Za Zhi*. 2020;48:567-571.
41. Chen T, Wu D, Chen H, et al. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study. *BMJ*. 2020;368:m1091. doi:10.1136/bmj.m1091
42. Chen T, Wu D, Chen H, et al. Clinical characteristics of 113 deceased patients with coronavirus disease 2019: retrospective study. *BMJ*. 2020;368:m1091. doi:10.1136/bmj.m1091
43. Zhou F, Yu T, Du R, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult in patients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020;395:1054-1062. doi:10.1016/S0140-6736(20)30566-3
44. Zhou F, Yu T, Du R, et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult in patients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. *Lancet*. 2020;395:1054-1062. doi:10.1016/S0140-6736(20)30566-3
45. Jabri A, Kalra A, Kumar A, et al. Incidence of stress cardiomyopathy during the coronavirus disease 2019 pandemic. *JAMA Netw Open*. 2020;3:e2014780. doi:10.1001/jamanetworkopen.2020.14780
46. Arentz M, Yim E, Klaff L, et al. Characteristics and outcomes of 21 critically ill patients with COVID-19 in Washington State. *JAMA*. 2020;323:1612-1614. doi:10.1001/jama.2020.4326
47. Simonnet A, Chetboun M, Poissy J, Raverdy V, Noulette J, Duhamel A et al. High Prevalence of Obesity in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) Requiring Invasive Mechanical Ventilation. *Obesity*. 2020;28(7):1195-1199.

48. Mraz M, Haluzik M. The role of adipose tissue immune cells in obesity and low-grade inflammation. *J Endocrinol.* 2014;222(3):113-127.
49. Pahlavani M, Kalupahana N, Ramalingam L, Moustaid-Moussa N. Regulation and Functions of the Renin-Angiotensin System in White and Brown Adipose Tissue. *Compr Physiol.* 2017;7(4):1137-1150.
50. Guan WJ, Ni Z, Hu Y, Liang W, Ou CQ, He J et al. Clinical characteristics of coronavirus disease 2019 in China. *N Engl J Med.* 2020;382:1708-1720. doi:10.1056/NEJMoa2002032
51. Lanza K, Perez LG, Costa LB, Cordeiro TM, Palmeira VA, Ribeiro VT et al. Covid-19: the renin-angiotensin system imbalance hypothesis. *Clin Sci.* 2020;134:1259-1264. doi:10.1042/CS20200492
52. Vieira C, Nery L, Martins L, Jabour L, Dias R, Simões E et al. (. Downregulation of membrane-bound angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) receptor has a pivotal role in COVID-19 immunopathology. *Curr Drug Targets.* 2021;22:253-281.
53. Costa LB, Perez LG, Palmeira VA, Macedo e Cordeiro T, Ribeiro VT, Lanza K et al. Insights on SARS-CoV-2 molecular interactions with the renin-angiotensin system. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:559841.
54. Connors J, Levy J. COVID-19 and its implications for thrombosis and anticoagulation. *Blood.* 2020;135:2033-2040. doi:10.1182/blood.202006000
55. Panigada M, Bottino N, Tagliabue P, et al. Hypercoagulability of COVID-19 patients in intensive care unit: a report of thromboelastography findings and other parameters of hemostasis. *J Thromb Haemost.* 2020;18:1738-1742.
56. Chau V, Giustino G, Mahmood K, et al. Cardiogenic shock and hyperinflammatory syndrome in young males with COVID-19. *Circ Heart Fail.* 2020;13(5):e00748.
57. Yu Y, Xu D, Fu S, et al. Patients with COVID-19 in 19 ICUs in Wuhan, China: a cross-sectional study. *Crit Care.* 2020;24:219.
58. Chau V, Giustino G, Mahmood K, et al. Cardiogenic shock and hyperinflammatory syndrome in young males with COVID-19. *Circ Heart Fail.* 2020;13(5):e00748.
59. T. J. Sayre, Allana J. Sucher. Cardiovascular Impact of Coronavirus Disease 2019 (COVID-19). US Pharmacist. Published February 2021. Accessed January 18, 2023. <https://www.uspharmacist.com/article/cardiovascular-impact-of-coronavirus-disease-2019-covid19>
60. Zhang P, Zhu L, Cai J, Lei F, Qin JJ, Xie J et al. Association of inpatient use of angiotensin-converting enzyme inhibitors and angiotensin II receptor blockers with mortality among patients with hypertension hospitalized with COVID-19. *Circ Res.* 2020;126:1671-1681.
61. Muñoz-Durango N, Fuentes CA, Castillo AE, González-Gómez LM, Vecchiola A, Fardella CE et al. Role of the renin-angiotensin-aldosterone system beyond blood pressure regulation: molecular and cellular mechanisms involved in end-organ damage during arterial hypertension. *Int J Mol Sci.* 2016;17:797.

62. Mori J, Oudit GY, Lopaschuk GD. SARS-CoV-2 perturbs the renin-angiotensin system and energy metabolism. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2020;319:E43–E47. doi:10.1152/ajpendo.00219.2020
63. Mordwinkin NM, Meeks CJ, Jadhav SS, Espinoza T, Roda N, DiZerega GS et al (2012). Angiotensin-(1-7) administration reduces oxidative stress in diabetic bone marrow. *Endocrinology.* 2012;153:2189–2197. doi:10.1210/en.2011-2031
64. Santos RAS, Sampaio WO, Alzamora AC, Motta-Santos D, Alenina N, Bader M et al. The ACE2/Angiotensin-(1-7)/MAS axis of the renin-angiotensin system: focus on angiotensin-(1-7). *Physiol Rev.* 2017;98.:505-553. doi:10.1152/physrev.00023.2016
65. Ocaranza MP, Michea L, Chiong M, Lagos CF, Lavandero S, Jalil JE. Recent insights and therapeutic perspectives of angiotensin-(1-9) in the cardiovascular system. *Clin Sci (Lond).* 2014;127:549–557. doi:10.1042/CS20130449
66. Muhamad SA, Ugusman A, Kumar J, Skiba D, Hamid AA, Aminuddin A. COVID-19 and Hypertension: The What, the Why, and the How. *Front Physiol.* 2021;12(May):1-11. doi:10.3389/fphys.2021.665064
67. Konukoglu D, Uzun H. Endothelial dysfunction and hypertension. *Adv Exp Med Biol.* 2017;956:511–540. doi:10.1007/5584_2016_90
68. Verdecchia P, Cavallini C, Spanevello A, Angeli F. The pivotal link between ACE2 deficiency and SARS-CoV-2 infection. *Eur J Intern Med.* 2020;76:14-20.
69. Vieira C, Nery L, Martins L, Jabour L, Dias R, Simões E et al. (. Downregulation of membrane-bound angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) receptor has a pivotal role in COVID-19 immunopathology. *Curr Drug Targets.* 2021;22:253-281.
70. Costa LB, Perez LG, Palmeira VA, Macedo e Cordeiro T, Ribeiro VT, Lanza K et al. Insights on SARS-CoV-2 molecular interactions with the renin-angiotensin system. *Front Cell Dev Biol.* 2020;8:559841.
71. Muhamad SA, Ugusman A, Kumar J, Skiba D, Hamid AA, Aminuddin A. COVID-19 and Hypertension: The What, the Why, and the How. *Front Physiol.* 2021;12(May):1-11. doi:10.3389/fphys.2021.665064
72. Becker RC. COVID-19 update: Covid-19-associated coagulopathy. *J Thromb Thrombolysis.* 2020;50:1-14.
73. Henry BM, de Oliveira MHS, Benoit S, Plebani M, Lippi G. Hematologic, biochemical and immune biomarker abnormalities associated with severe illness and mortality in coronavirus disease 2019 (COVID-19): a meta-analysis. *Clin Chem Lab Med.* 2020;58:1021–1028.
74. Ranucci M, Ballotta A, Di Dedda U, et al. The procoagulant pattern of patients with COVID-19 acute respiratory distress syndrome. *J Thromb Haemost.* 2020;18:1747–1751.
75. Keragala CB, Draxler DF, McQuilten ZK, Medcalf RL. Haemostasis and innate immunity—A complementary relationship: A review of the intricate relationship between coagulation and complement pathways. *Br J Haematol.* 2018;180:782–798.

76. Zucoloto AZ, Jenne CN. Platelet-neutrophil interplay: insights into neutrophil extracellular trap (NET)-driven coagulation. *Front Cardiovasc Med.* 2019;6:85.
77. Kohansal Vajari M, Shirin M, Pourbagheri-Sigaroodi A, Akbari ME, Abolghasemi H, Bashash D. COVID-19-related coagulopathy: A review of pathophysiology and pharmaceutical management. *Cell Biol Int.* 2021;45(9):1832-1850. doi:10.1002/cbin.11623
78. Godo S, Shimokawa H. Endothelial functions. *Arterioscler Thromb. Vasc Biol.* 2017;37:e108-e114.
79. Bracamonte-baran W, Daniela Č. The Immunology of Cardiovascular Homeostasis and Pathology. *Adv Exp Med Biol.* 2017;1003:187-221.
80. Bing Z liu xing, Zhi xue za. *The Epidemiological Characteristics of an Outbreak of 2019 Novel Coronavirus Diseases (COVID-19) in China (2020)*. Vol 41.; 2020.
81. Varga, Z. , Flammer, A. J. , Steiger P, Haberecker M, Andermatt R, et al. Endothelial cell infection and endotheliitis in COVID-19. *Lancet.* 2020;395:1417-1418.
82. Levi M, Poll T. Coagulation in patients with severe sepsis. *Semin Thromb Hemost.* 2015; 41: 9-15.
83. Wright FL, Vogler TO, Moore EE, et al. Fibrinolysis shutdown correlation with thromboembolic events in severe COVID-19 infection. *J Am Coll Surg.* 2020;231:193-203.
84. Loo J, Spittle DA, Newnham M. COVID-19, immunothrombosis and venous thromboembolism: Biological mechanisms. *Thorax.* 2021;76(4):412-420. doi:10.1136/thoraxjnl-2020-216243
85. Kwaan HC. Coronavirus disease 2019: The role of the fibrinolytic system from transmission to organ injury and sequelae. *Semin Thromb Hemost.* 2020;46:841-844.
86. Ward S, Curley G, Lavin M, Fogarty H, Karampini E, McEvoy, NL. et al. Von Willebrand factor propeptide in severe coronavirus disease 2019 (COVID-19): evidence of acute and sustained endothelial cell activation. *Br J Haematol.* 2021;192:714-719.
87. Li F, Li W, Farzan M, Harrison SC. Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor. *Science.* 2005;309(5742):1864-1868. doi:10.1126/SCIENCE.1116480
88. Xu X, Chen P, Wang J, et al. Evolution of the novel coronavirus from the ongoing Wuhan outbreak and modeling of its spike protein for risk of human transmission. *Sci China Life Sci.* 2020;63(3):457-460. doi:10.1007/S11427-020-1637-5
89. Walls AC, Park YJ, Tortorici MA, Wall A, McGuire AT, Veesler D. Structure, Function, and Antigenicity of the SARS-CoV-2 Spike Glycoprotein. *Cell.* 2020;181(2):281. doi:10.1016/J.CELL.2020.02.058
90. Huang Y, Yang C, Xu X feng, Xu W, Liu S wen. Structural and functional properties of SARS-CoV-2 spike protein: potential antivirus drug development for COVID-19. *Acta Pharmacologica Sinica 2020 41:9.* 2020;41(9):1141-1149. doi:10.1038/s41401-020-0485-4

91. Bittmann S. The Role of TMPRSS2 and TMPRSS2- Inhibitors in Cell Entry Mechanism of COVID-19. *Journal of Regenerative Biology and Medicine*. Published online 2020:2-5. doi:10.37191/maps-ci-2582-385x-2(3)-026
92. Hoffmann M, Kleine-Weber H, Schroeder S, et al. SARS-CoV-2 Cell Entry Depends on ACE2 and TMPRSS2 and Is Blocked by a Clinically Proven Protease Inhibitor. *Cell*. 2020;181(2):271-280.e8. doi:10.1016/j.cell.2020.02.052
93. Velusamy P, Kiruba K, Su CH, et al. SARS-CoV-2 spike protein: Site-specific breakpoints for the development of COVID-19 vaccines. *J King Saud Univ Sci*. 2021;33(8):101648. doi:10.1016/j.jksus.2021.101648
94. Xia S, Liu M, Wang C, et al. Inhibition of SARS-CoV-2 (previously 2019-nCoV) infection by a highly potent pan-coronavirus fusion inhibitor targeting its spike protein that harbors a high capacity to mediate membrane fusion. *Cell Research* 2020 30:4. 2020;30(4):343-355. doi:10.1038/s41422-020-0305-x
95. Xia X. Domains and Functions of Spike Protein in SARS-Cov-2 in the Context of Vaccine Design. *Viruses*. 2021;13(1). doi:10.3390/V13010109
96. Xu J, Jia W, Wang P, et al. Antibodies and vaccines against Middle East respiratory syndrome coronavirus. *Emerg Microbes Infect*. 2019;8(1):841-856. doi:10.1080/22221751.2019.1624482
97. Amanat F, Krammer F. SARS-CoV-2 Vaccines: Status Report. *Immunity*. 2020;52(4):583-589. doi:10.1016/j.immuni.2020.03.007
98. Zhang J, Zeng H, Gu J, Li H, Zheng L, Zou Q. Progress and Prospects on Vaccine Development against SARS-CoV-2. *Vaccines (Basel)*. 2020;8(2). doi:10.3390/VACCINES8020153
99. Suzuki YJ, Nikolaienko SI, Dibrova VA, et al. SARS-CoV-2 spike protein-mediated cell signaling in lung vascular cells. *Vascul Pharmacol*. 2021;137. doi:10.1016/j.vph.2020.106823
100. Kuba K, Imai Y, Rao S, et al. A crucial role of angiotensin converting enzyme 2 (ACE2) in SARS coronavirus-induced lung injury. *Nat Med*. 2005;11(8):875-879. doi:10.1038/NM1267
101. Patra T, Meyer K, Geerling L, et al. SARS-CoV-2 spike protein promotes IL-6 trans-signaling by activation of angiotensin II receptor signaling in epithelial cells. *PLoS Pathog*. 2020;16(12). doi:10.1371/JOURNAL.PPAT.1009128
102. Suzuki YJ, Gychka SG. SARS-CoV-2 Spike Protein Elicits Cell Signaling in Human Host Cells: Implications for Possible Consequences of COVID-19 Vaccines. *Vaccines (Basel)*. 2021;9(1):1-8. doi:10.3390/VACCINES9010036
103. Banerjee S, Wang X, Du S, et al. Comprehensive role of SARS-CoV-2 spike glycoprotein in regulating host signaling pathway. *J Med Virol*. 2022;94(9):4071-4087. doi:10.1002/JMV.27820

104. Ryan PMD, Caplice NM. Is Adipose Tissue a Reservoir for Viral Spread, Immune Activation, and Cytokine Amplification in Coronavirus Disease 2019? *Obesity (Silver Spring)*. 2020;28(7):1191-1194. doi:10.1002/OBY.22843
105. Al-Benna S. Association of high level gene expression of ACE2 in adipose tissue with mortality of COVID-19 infection in obese patients. *Obes Med*. 2020;19. doi:10.1016/J.OBMED.2020.100283
106. Jia X, Yin C, Lu S, et al. Two Things about COVID-19 Might Need Attention. Published online February 23, 2020. doi:10.20944/PREPRINTS202002.0315.V1
107. Chen X, Zhao B, Qu Y, et al. Detectable serum SARS-CoV-2 viral load (RNAemia) is closely correlated with drastically elevated interleukin 6 (IL-6) level in critically ill COVID-19 patients. *Clin Infect Dis*. 2020;71(8):1937-1942. doi:10.1093/CID/CIAA449
108. Fontana L, Eagon JC, Trujillo ME, Scherer PE, Klein S. Visceral fat adipokine secretion is associated with systemic inflammation in obese humans. *Diabetes*. 2007;56(4):1010-1013. doi:10.2337/DB06-1656
109. Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, et al. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor-alpha, in vivo. *J Clin Endocrinol Metab*. 1997;82(12):4196-4200. doi:10.1210/JCEM.82.12.4450
110. Ulhaq ZS, Soraya GV. Interleukin-6 as a potential biomarker of COVID-19 progression. *Med Mal Infect*. 2020;50(4):382-383. doi:10.1016/J.MEDMAL.2020.04.002
111. Shin J, Toyoda S, Nishitani S, et al. Possible Involvement of Adipose Tissue in Patients With Older Age, Obesity, and Diabetes With SARS-CoV-2 Infection (COVID-19) via GRP78 (BIP/HSPA5): Significance of Hyperinsulinemia Management in COVID-19. *Diabetes*. 2021;70(12):2745. doi:10.2337/DB20-1094
112. Frühbeck G, Catalán V, Valentí V, et al. FNDC4 and FNDC5 reduce SARS-CoV-2 entry points and spike glycoprotein S1-induced pyroptosis, apoptosis, and necroptosis in human adipocytes. *Cellular & Molecular Immunology* 2021 18:10. 2021;18(10):2457-2459. doi:10.1038/s41423-021-00762-0
113. Hikmet F, Méar L, Edvinsson A, Micke P, Uhlén M, Lindskog C. The protein expression profile of ACE2 in human tissues. *Mol Syst Biol*. 2020;16(7):e9610. doi:10.15252/msb.20209610
114. Hamming I, Timens W, Bulthuis M, Lely A, Navis G, van Goor H. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol*. 2004;203(2):631-637. doi:10.1002/path.1570
115. Hikmet F, Méar L, Edvinsson A, Micke P, Uhlén M, Lindskog C. The protein expression profile of ACE2 in human tissues. *Mol Syst Biol*. 2020;16(7):e9610. doi:10.15252/msb.20209610
116. Hamming I, Timens W, Bulthuis M, Lely A, Navis G, van Goor H. Tissue distribution of ACE2 protein, the functional receptor for SARS coronavirus. A first step in understanding SARS pathogenesis. *J Pathol*. 2004;203(2):631-637. doi:10.1002/path.1570

117. Turner AJ. *ACE2 Cell Biology, Regulation, and Physiological Functions*. Elsevier Inc.; 2015. doi:10.1016/B978-0-12-801364-9.00025-0
118. Keidar S, Kaplan M, Gamliel-Lazarovich A. ACE2 of the heart: From angiotensin I to angiotensin (1-7). *Cardiovasc Res*. 2007;73(3):463-469.
119. Wang W, McKinnie S, Farhan M, Paul M, McDonald T, McLean B et al. Angiotensin-Converting Enzyme 2 Metabolizes and Partially Inactivates Pyr-Apelin-13 and Apelin-17: Physiological Effects in the Cardiovascular System. *Hypertension*. 2016;68(2):365-377. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.115.06892
120. Chamsi-Pasha M, Shao Z, Tang W. Angiotensin-converting enzyme 2 as a therapeutic target for heart failure". *Current Heart Failure Reports Springer Science and Business Media LLC*. 2014;11(1):58-63. doi:10.1007/s11897-013-0178-0
121. Turner AJ. *ACE2 Cell Biology, Regulation, and Physiological Functions*. Elsevier Inc.; 2015. doi:10.1016/B978-0-12-801364-9.00025-0
122. Singh B, Singh D, Verma V, Yadav R, Kumar R. Angiotensin-converting enzyme 2 as a potential therapeutic target for COVID-19: A review. *J Pharm Anal*. 2021;12(2):215-220. doi:10.1016/j.jpha.2021.12.003
123. Zou K, Yamaguchi H, Akatsu H, Sakamoto T, Ko M, Mizoguchi K et al. Angiotensin-converting enzyme converts amyloid β -protein 1-42 (A β (1-42)) to A β (1-40), and its inhibition enhances brain A β deposition. *J Neurosci*. 2007;7:8628-8635.
124. AbdAlla S, Langer A, Fu X, Quitterer U. ACE inhibition with captopril retards the development of signs of neurodegeneration in an animal model of Alzheimer's disease. *Int J Mol Sci*. 2013;14:16917-16942.
125. Bernstein KE, Koronyo Y, Salumbides BC, Sheyn J, Pelissier L, Lopes DH et al. Angiotensin-converting enzyme overexpression in myelomonocytes prevents Alzheimer's-like cognitive decline. *J Clin Invest*. 2014;124:1000-1012.
126. Li W, Moore MJ, Vasilieva N, Sui J, Wong SK, Berne MA et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*. 2003;26:450-454.
127. Li W, Moore MJ, Vasilieva N, Sui J, Wong SK, Berne MA et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*. 2003;26:450-454.
128. Oudit GY, Penninger JM. Recombinant human angiotensin-converting enzyme 2 as a new renin-angiotensin system peptidase for heart failure therapy. *Curr Heart Fail Rep*. 2011;8:176-183.
129. Riquelme C, Acuña MJ, Torrejón J, Rebolledo D, Cabrera D, Santos RA et al. ACE2 is augmented in dystrophic skeletal muscle and plays a role in decreasing associated fibrosis. *PLoS One*. 2014;9:e93449.
130. Chamsi-Pasha M, Shao Z, Tang W. Angiotensin-converting enzyme 2 as a therapeutic target for heart failure". *Current Heart Failure Reports Springer Science and Business Media LLC*. 2014;11(1):58-63. doi:10.1007/s11897-013-0178-0

131. Benjamin E, Muntner P, Alonso A et al. Heart disease and stroke statistics-2019 update: A report from the American heart association. *Circulation*. 2019;139(10):e56-e528.
132. Burrell L, Risvanis J, Kubota E et al. Myocardial infarction increases ACE2 expression in rat and humans. *Eur Heart J*. 2005;26(4):369-375.
133. Ortiz-Pérez J, Riera M, Bosch X et al. Role of circulating angiotensin converting enzyme 2 in left ventricular remodeling following myocardial infarction: A prospective controlled study. *PLoS One*. 2013;8(4):e61695.
134. Zhu H, Zhang L, Ma Y, et al. The role of SARS-CoV-2 target ACE2 in cardiovascular diseases. *J Cell Mol Med*. 2021;25(3):1342-1349. doi:10.1111/jcmm.16239
135. Zhao Y, Yin H, Yu QT et al. ACE2 overexpression ameliorates left ventricular remodeling and dysfunction in a rat model of myocardial infarction. *Hum Gene Ther*. 2010;21(11):1545-1554.
136. Williams B, Mancia G, Spiering W et al. ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *Eur Heart J*. 2018;39(33):3021-3104.
137. Zhu H, Zhang L, Ma Y, et al. The role of SARS-CoV-2 target ACE2 in cardiovascular diseases. *J Cell Mol Med*. 2021;25(3):1342-1349. doi:10.1111/jcmm.16239
138. Xu J, Sriramula S, Xia H et al. Clinical relevance and role of neuronal AT receptors in ADAM17-mediated ACE2 shedding in neurogenic hypertension. *Circ Res*. 2017;121(1):43-55.
139. Ferreira A, Shenoy V, Yamazato Y et al. Evidence for angiotensin-converting enzyme 2 as a therapeutic target for the prevention of pulmonary hypertension. *Am J Respir Crit Care Med*. 2009;179(11):1048-1054.
140. Adameova A, Shah A, Dhalla N. Role of oxidative stress in the genesis of ventricular arrhythmias. *Int J Mol Sci*. 2020;21(12):E4200.
141. Walters T, Kalman J, Patel SK et al. Angiotensin converting enzyme 2 activity and human atrial fibrillation: increased plasma angiotensin converting enzyme 2 activity is associated with atrial fibrillation and more advanced left atrial structural remodelling. *Europace*. 2017;19(8):1280-1287.
142. Sliwa K. Heart failure can affect everyone: the ESC Geoffrey Rose lecture. *Eur Heart J*. 2020;41(12):1298-1306.
143. Bodiga S, Zhong J, Wang W et al. Enhanced susceptibility to biomechanical stress in ACE2 null mice is prevented by loss of the p47(phox) NADPH oxidase subunit. *Cardiovasc Res*. 2011;91(1):151-161.
144. Patel V, Bodiga S, Fan D et al. Cardioprotective effects mediated by angiotensin II type 1 receptor blockade and enhancing angiotensin 1-7 in experimental heart failure in angiotensin-converting enzyme 2-null mice. *Hypertension*. 2012;59(6):1195-1203.
145. Ni W, Yang X, Yang D, Bao J, Li R, Xiao Y et al. Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in COVID-19. *Critical Care BioMed Central*. 2020;24:422.

146. Shibata S, Arima H, Asayama K, et al. Hypertension and related diseases in the era of COVID-19: a report from the Japanese Society of Hypertension Task Force on COVID-19. *Hypertension Research*. 2020;43(10):1028-1046. doi:10.1038/s41440-020-0515-0
147. Shibata S, Arima H, Asayama K, et al. Hypertension and related diseases in the era of COVID-19: a report from the Japanese Society of Hypertension Task Force on COVID-19. *Hypertension Research*. 2020;43(10):1028. doi:10.1038/S41440-020-0515-0
148. Manickavasagam S, Merla R, Koerner M, et al. Management of Hypertension in Chronic Heart Failure. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 7(4):423-433.
149. Herman L, Padala S, Ahmed I et al. Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors (ACEI). *StatPearls Publishing*. Published online 2022.
150. Herman L, Padala S, Ahmed I et al. Angiotensin Converting Enzyme Inhibitors (ACEI). *StatPearls Publishing*. Published online 2022.
151. Manickavasagam S, Merla R, Koerner M, et al. Management of Hypertension in Chronic Heart Failure. *Expert Rev Cardiovasc Ther*. 7(4):423-433.
152. Ferrario CM, Jessup J, Chappell MC, et al. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II receptor blockers on cardiac angiotensin-converting enzyme 2. *Circulation*. 2005;111(20):2605-2610. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.104.510461
153. Organization WH. Coronavirus disease (COVID-19). Accessed October 23, 2020. <https://www.who.int/emergencies/diseases/novel-coronavirus-2019>
154. Semenzato L, Botton J, Drouin J, et al. Antihypertensive Drugs and COVID-19 Risk: A Cohort Study of 2 Million Hypertensive Patients. *Hypertension*. 2021;77(3):833-842. doi:10.1161/HYPERTENSIONAHA.120.16314
155. Ciulla MM. Switching to another antihypertensive effective drug when using ACEIs/ARBs to treat arterial hypertension during COVID-19. *Eur Heart J*. 2020;41(19):1856-1856. doi:10.1093/EURHEARTJ/EHAA331
156. Lévy BI, Fauvel JP. Renin-angiotensin system blockers and severe acute respiratory syndrome coronavirus 2. *Arch Cardiovasc Dis*. 2020;113(8-9):572-578. doi:10.1016/J.ACVD.2020.07.001
157. Bian J, Li Z. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2): SARS-CoV-2 receptor and RAS modulator. *Acta Pharm Sin B*. Published online 2020:1-19. doi:<https://doi.org/10.1016/j.apsb.2020.10.006>
158. Bian J, Li Z. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2): SARS-CoV-2 receptor and RAS modulator. *Acta Pharm Sin B*. Published online 2020:1-19. doi:<https://doi.org/10.1016/j.apsb.2020.10.006>
159. Tang Y, Liu J, Zhang D, Xu Z, Ji J, Wen C. Cytokine Storm in COVID-19: The Current Evidence and Treatment Strategies. *Front Immunol*. 2020;11:1708. doi:10.3389/fimmu.2020.01708

160. Huang M liang, Li X, Meng Y, et al. Upregulation of angiotensin-converting enzyme (ACE) 2 in hepatic fibrosis by ACE inhibitors. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2010;37(1):e1-e6. doi:10.1111/j.1440-1681.2009.05302.x
161. Ferrario CM, Jessup J, Chappell MC, et al. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II receptor blockers on cardiac angiotensin-converting enzyme 2. *Circulation.* 2005;111(20):2605-2610. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.104.510461
162. Cho J, Lee YJ, Kim JH, et al. Antiviral activity of digoxin and ouabain against SARS-CoV-2 infection and its implication for COVID-19. *Sci Rep.* 2020;10(1):16200. doi:10.1038/s41598-020-72879-7
163. Simonnet A, Chetboun M, Poissy J, et al. High Prevalence of Obesity in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) Requiring Invasive Mechanical Ventilation. *Obesity.* 2020;28(7):1195-1199. doi:10.1002/oby.22831
164. Petrilli CM, Jones SA, Yang J, et al. Factors associated with hospital admission and critical illness among 5279 people with coronavirus disease 2019 in New York City: Prospective cohort study. *The BMJ.* 2020;369(m1966):1-15. doi:10.1136/bmj.m1966
165. Lighter J, Phillips M, Hochman S, et al. Obesity in Patients Younger Than 60 Years Is a Risk Factor for COVID-19 Hospital Admission. *Clin Infect Dis.* 2020;71(15):896-897. doi:10.1093/cid/ciaa415
166. Popkin BM, Du S, Green WD, et al. Individuals with obesity and COVID-19: A global perspective on the epidemiology and biological relationships. *Obesity Reviews.* 2020;21(11):1-17. doi:10.1111/obr.13128
167. Sattar N, Mcinnes IB, McMurray JJ V. Obesity Is a Risk Factor for Severe COVID-19 Infection: Multiple Potential Mechanisms. *Circulation.* 2020;142:4-6. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.120.047659
168. Ryan PMD, Caplice NM. Is Adipose Tissue a Reservoir for Viral Spread, Immune Activation, and Cytokine Amplification in Coronavirus Disease 2019? *Obesity.* 2020;28(7):1191-1194. doi:10.1002/oby.22843
169. Fontana L, Eagon JC, Trujillo ME, Scherer PE, Klein S. Visceral fat adipokine secretion is associated with systemic inflammation in obese humans. *Diabetes.* 2007;56(4):1010-1013. doi:10.2337/db06-1656
170. Mohamed-Ali V, Goodrick S, Rawesh A, et al. Subcutaneous adipose tissue releases interleukin-6, but not tumor necrosis factor- α , in vivo. *Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism.* 1997;82(12):4196-4200. doi:10.1210/jcem.82.12.4450
171. Chen X, Zhao B, Qu Y, et al. Detectable serum SARS-CoV-2 viral load (RNAemia) is closely correlated with drastically elevated interleukin 6 (IL-6) level in critically ill COVID-19 patients. *Clin Infect Dis.* Published online April 17, 2020:1-6. doi:10.1093/cid/ciaa449
172. Ulhaq ZS, Soraya GV. Interleukin-6 as a potential biomarker of COVID-19 progression. *Med Mal Infect.* 2020;50(4):382-383. doi:10.1016/j.medmal.2020.04.002

173. Ni W, Yang X, Yang D, et al. Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in COVID-19. *Crit Care*. 2020;24(1):422. doi:10.1186/s13054-020-03120-0
174. Li W, Moore MJ, Vasllieva N, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*. 2003;426(6965):450-454. doi:10.1038/nature02145
175. Al-Benna S. Association of high level gene expression of ACE2 in adipose tissue with mortality of COVID-19 infection in obese patients. *Obes Med*. 2020;19:100283. doi:10.1016/j.obmed.2020.100283
176. Jia X, Yin C, Lu S, et al. Two Things About COVID-19 Might Need Attention. *Preprints (Basel)*. Published online February 23, 2020. doi:10.20944/preprints202002.0315.v1
177. Simonnet A, Chetboun M, Poissy J, et al. High Prevalence of Obesity in Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus-2 (SARS-CoV-2) Requiring Invasive Mechanical Ventilation. *Obesity*. 2020;28(7):1195-1199. doi:10.1002/oby.22831
178. Marik PE, Chen C. The clinical characteristics and hospital and post-hospital survival of patients with the obesity hypoventilation syndrome: analysis of a large cohort. *Obes Sci Pract*. 2016;2(1):40-47. doi:10.1002/osp4.27
179. Tsatsanis C, Margioris AN, Kontoyiannis DP. Association between H1N1 infection severity and obesity-adiponectin as a potential etiologic factor. *J Infect Dis*. 2010;202(3):459-460. doi:10.1086/653842
180. Mraz M, Haluzik M. The role of adipose tissue immune cells in obesity and low-grade inflammation. *J Endocrinol*. 2014;222(3):R113-27. doi:10.1530/JOE-14-0283
181. Mraz M, Haluzik M. The role of adipose tissue immune cells in obesity and low-grade inflammation. *J Endocrinol*. 2014;222(3):R113-27. doi:10.1530/JOE-14-0283
182. Trim W, Turner JE, Thompson D. Parallels in Immunometabolic Adipose Tissue Dysfunction with Ageing and Obesity. *Front Immunol*. 2018;9:169. doi:10.3389/fimmu.2018.00169
183. Pahlavani M, Kalupahana NS, Ramalingam L, Moustaid-Moussa N. Regulation and Functions of the Renin-Angiotensin System in White and Brown Adipose Tissue. *Compr Physiol*. 2017;7(4):1137-1150. doi:10.1002/cphy.c160031
184. Chait A, den Hartigh LJ. Adipose Tissue Distribution, Inflammation and Its Metabolic Consequences, Including Diabetes and Cardiovascular Disease. *Front Cardiovasc Med*. 2020;7:22. doi:10.3389/fcvm.2020.00022
185. Ni W, Yang X, Yang D, et al. Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in COVID-19. *Crit Care*. 2020;24(1):422. doi:10.1186/s13054-020-03120-0
186. Li W, Moore MJ, Vasllieva N, et al. Angiotensin-converting enzyme 2 is a functional receptor for the SARS coronavirus. *Nature*. 2003;426(6965):450-454. doi:10.1038/nature02145

187. Al-Benna S. Association of high level gene expression of ACE2 in adipose tissue with mortality of COVID-19 infection in obese patients. *Obes Med.* 2020;19:100283. doi:10.1016/j.obmed.2020.100283
188. Jia X, Yin C, Lu S, et al. Two Things About COVID-19 Might Need Attention. *Preprints (Basel)*. Published online February 23, 2020. doi:10.20944/preprints202002.0315.v1
189. Shibata S, Arima H, Asayama K, et al. Hypertension and related diseases in the era of COVID-19: a report from the Japanese Society of Hypertension Task Force on COVID-19. *Hypertension Research.* 2020;43(10):1028-1046. doi:10.1038/s41440-020-0515-0
190. Chen S, Takanashi S, Zhang Q, et al. Reversine increases the plasticity of lineage-committed mammalian cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2007;104(25):10482-10487. doi:10.1073/pnas.0704360104
191. Zhang Y, Somers KR, Becari C, et al. Comparative Expression of Renin-Angiotensin Pathway Proteins in Visceral Versus Subcutaneous Fat. *Front Physiol.* 2018;9:1370. doi:10.3389/fphys.2018.01370
192. Sindhu S, Thomas R, Shihab P, Sriraman D, Behbehani K, Ahmad R. Obesity Is a Positive Modulator of IL-6R and IL-6 Expression in the Subcutaneous Adipose Tissue: Significance for Metabolic Inflammation. *PLoS One.* 2015;10(7):e0133494. doi:10.1371/journal.pone.0133494
193. Kern L, Mittenbühler MJ, Vesting AJ, Ostermann AL, Wunderlich CM, Wunderlich FT. Obesity-Induced TNF α and IL-6 Signaling: The Missing Link between Obesity and Inflammation-Driven Liver and Colorectal Cancers. *Cancers (Basel).* 2018;11(1). doi:10.3390/cancers11010024
194. Yiu HH, Graham AL, Stengel RF. Dynamics of a cytokine storm. *PLoS One.* 2012;7(10):e45027. doi:10.1371/journal.pone.0045027
195. Ruan Q, Yang K, Wang W, Jiang L, Song J. Clinical predictors of mortality due to COVID-19 based on an analysis of data of 150 patients from Wuhan, China. *Intensive Care Med.* 2020;46(5):846-848. doi:10.1007/s00134-020-05991-x
196. Sattar N, McInnes IB, McMurray JJ V. Obesity Is a Risk Factor for Severe COVID-19 Infection: Multiple Potential Mechanisms. *Circulation.* 2020;142:4-6. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.120.047659
197. M. FC, Jewell J, C. CM, et al. Effect of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibition and Angiotensin II Receptor Blockers on Cardiac Angiotensin-Converting Enzyme 2. *Circulation.* 2005;111(20):2605-2610. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.104.510461
198. Huang M liang, Li X, Meng Y, et al. Upregulation of angiotensin-converting enzyme (ACE) 2 in hepatic fibrosis by ACE inhibitors. *Clin Exp Pharmacol Physiol.* 2010;37(1):e1-e6. doi:10.1111/j.1440-1681.2009.05302.x
199. Gaddam RR, Chambers S, Bhatia M. ACE and ACE2 in inflammation: a tale of two enzymes. *Inflamm Allergy Drug Targets.* 2014;13(4):224-234. doi:10.2174/1871528113666140713164506

200. Cho J, Lee YJ, Kim JH, et al. Antiviral activity of digoxin and ouabain against SARS-CoV-2 infection and its implication for COVID-19. *Sci Rep.* 2020;10(1):16200. doi:10.1038/s41598-020-72879-7
201. Buzhdygan TP, DeOre BJ, Baldwin-Leclair A, et al. The SARS-CoV-2 spike protein alters barrier function in 2D static and 3D microfluidic in-vitro models of the human blood-brain barrier. *Neurobiol Dis.* 2020;146:105131. doi:10.1016/j.nbd.2020.105131
202. Carswell KA, Lee MJ, Fried SK. Culture of isolated human adipocytes and Isolated adipose tissue. *Methods in Molecular Biology.* 2012;806:203-214. doi:10.1007/978-1-61779-367-7_14
203. Monteil V, Kwon H, Prado P, et al. Inhibition of SARS-CoV-2 Infections in Engineered Human Tissues Using Clinical-Grade Soluble Human ACE2. *Cell.* 2020;181(4):905-913. e7. doi:10.1016/j.cell.2020.04.004
204. Dosch SF, Mahajan SD, Collins AR. SARS coronavirus spike protein-induced innate immune response occurs via activation of the NF- κ B pathway in human monocyte macrophages in vitro. *Virus Res.* 2009;142(1-2):19-27. doi:10.1016/j.virusres.2009.01.005
205. Carswell KA, Lee MJ, Fried SK. Culture of isolated human adipocytes and Isolated adipose tissue. *Methods in Molecular Biology.* 2012;806:203-214. doi:10.1007/978-1-61779-367-7_14
206. Carswell KA, Lee MJ, Fried SK. Culture of isolated human adipocytes and Isolated adipose tissue. *Methods in Molecular Biology.* 2012;806:203-214. doi:10.1007/978-1-61779-367-7_14
207. Zhao N, Tan H, Wang L, et al. Palmitate induces fat accumulation via repressing FoxO1-mediated ATGL-dependent lipolysis in HepG2 hepatocytes. *PLoS One.* 2021;16(1):1-13. doi:10.1371/journal.pone.0243938
208. Del Valle DM, Kim-Schulze S, Huang HH, et al. An inflammatory cytokine signature predicts COVID-19 severity and survival. *Nature Medicine* 2020 26:10. 2020;26(10):1636-1643. doi:10.1038/s41591-020-1051-9
209. Fu W, Chen Y, Wang K, et al. Repurposing FDA-approved drugs for SARS-CoV-2 through an ELISA-based screening for the inhibition of RBD/ACE2 interaction. *Protein & Cell* 2020 12:7. 2020;12(7):586-591. doi:10.1007/S13238-020-00803-W
210. Patra T, Meyer K, Geerling L, et al. SARS-CoV-2 spike protein promotes IL-6 trans-signaling by activation of angiotensin II receptor signaling in epithelial cells. *PLoS Pathog.* 2020;16(12):e1009128.
211. Ferrario CM, Jessup J, Chappell MC, et al. Effect of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin II receptor blockers on cardiac angiotensin-converting enzyme 2. *Circulation.* 2005;111(20):2605-2610. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.104.510461
212. Monteil V, Kwon H, Prado P, et al. Inhibition of SARS-CoV-2 Infections in Engineered Human Tissues Using Clinical-Grade Soluble Human ACE2. *Cel.* 2020;181(4):905-913.

213. Debnatha T, Chelluri L. Standardization and quality assessment for clinical grade mesenchymal stem cells from human adipose tissue. *Hematol Transfus Cell Ther.* 2019;41(1):7-16.
214. Beyerstedt S, Casaro EB, Rangel ÉB. COVID-19: angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) expression and tissue susceptibility to SARS-CoV-2 infection. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2021;40(5):905-919. doi:10.1007/S10096-020-04138-6
215. Patel S, Juno J, Lee WS, et al. PLASMA ACE2 ACTIVITY IS INCREASED IN PATIENTS RECOVERED FROM SARS-COV-2 INFECTION: IMPLICATIONS FOR THE PROLONGED CONSEQUENCES OF COVID-19. *J Hypertens.* 2021;39(Supplement 1):e394. doi:10.1097/01.HJH.0000749140.12677.66
216. Patel SK, Juno JA, Lee WS, et al. Plasma ACE2 activity is persistently elevated following SARS-CoV-2 infection: Implications for COVID-19 pathogenesis and consequences. *European Respiratory Journal.* 2021;57(5). doi:10.1183/13993003.03730-2020
217. Brooks SD, Smith RL, Moreira AS, Ackerman HC. Oral Lisinopril Raises Tissue Levels of ACE2, the SARS-CoV-2 Receptor, in Healthy Male and Female Mice. *Front Pharmacol.* 2022;13:491. doi:10.3389/fphar.2022.798349
218. Wu C, Ye D, Mullick AE, et al. Effects of Renin-Angiotensin Inhibition on ACE2 and TMPRSS2 Expression: Insights into COVID-19. *bioRxiv.* doi:10.1101/2020.06.08.137331
219. Aronson JK, Ferner RE. Drugs and the renin-angiotensin system in covid-19. *BMJ.* 2020;369. doi:10.1136/BMJ.M1313
220. Vaduganathan M, Vardeny O, Michel T, McMurray JJV, Pfeffer MA, Solomon SD. Renin-Angiotensin-Aldosterone System Inhibitors in Patients with Covid-19. *New England Journal of Medicine.* 2020;382(17):1653-1659. doi:10.1056/NEJMSR2005760/SUPPL_FILE/NEJMSR2005760_DISCLOSURES.PDF
221. Kriszta G, Kriszta Z, Vánca S, et al. Effects of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors and Angiotensin Receptor Blockers on Angiotensin-Converting Enzyme 2 Levels: A Comprehensive Analysis Based on Animal Studies. *Front Pharmacol.* 2021;12:619524. doi:10.3389/FPHAR.2021.619524/FULL
222. Gue YX, Gorog DA. Reduction in ACE2 may mediate the prothrombotic phenotype in COVID-19. *Eur Heart J.* 2020;41(33):3198-3199. doi:10.1093/eurheartj/ehaa534
223. Acanfora D, Ciccone MM, Scicchitano P, Acanfora C, Casucci G. Sacubitril/valsartan in COVID-19 patients: the need for trials. *Eur Heart J Cardiovasc Pharmacother.* 2020;6(4):253-254. doi:10.1093/EHJCVP/PVAA044
224. Inciardi RM, Adamo M, Lupi L, et al. Characteristics and outcomes of patients hospitalized for COVID-19 and cardiac disease in Northern Italy. *Eur Heart J.* 2020;41(19):1821-1829. doi:10.1093/EURHEARTJ/EHAA388
225. D'elia JA, Bayliss G, Gleason RE, Weinrauch LA. Cardiovascular-renal complications and the possible role of plasminogen activator inhibitor: a review. *Clin Kidney J.* 2016;9(5):705-712. doi:10.1093/CKJ/SFW080

226. Napoleone E, di Santo A, Camera M, Tremoli E, Lorenzet R. Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors Downregulate Tissue Factor Synthesis in Monocytes. *Circ Res.* 2000;86(2):139-143. doi:10.1161/01.RES.86.2.139
227. Han M, Pandey D. ZMPSTE24 regulates SARS-CoV-2 spike protein-enhanced expression of endothelial PAI-1. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2021;65(3):300-308. doi:10.1165/rcmb.2020-0544OC
228. Hendren NS, de Lemos JA, Ayers C, et al. Association of Body Mass Index and Age With Morbidity and Mortality in Patients Hospitalized With COVID-19: Results From the American Heart Association COVID-19 Cardiovascular Disease Registry. *Circulation.* 2021;143(2):135-144. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.120.051936
229. Lupi L, Adamo M, Inciardi RM, Metra M. ACE2 down-regulation may contribute to the increased thrombotic risk in COVID-19. *Eur Heart J.* 2020;41(33):3200-3200. doi:10.1093/eurheartj/ehaa583
230. (WHO) WHO. Coronavirus Disease (COVID-19) Situation Reports. In ; 2021.
231. Tang N, Li D, Wang X, Sun Z. Abnormal coagulation parameters are associated with poor prognosis in patients with novel coronavirus pneumonia. *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* 2020;18(4):844-847. doi:10.1111/jth.14768
232. Ni W, Yang X, Yang D, Bao J, Li R, Xiao Y et al. Role of angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2) in COVID-19. *BioMed Central.* 2020;24:422.
233. Guan W jie, Ni Z yi, Hu Y, et al. Clinical Characteristics of Coronavirus Disease 2019 in China. *New England Journal of Medicine.* 2020;382(18):1708-1720. doi:10.1056/nejmoa2002032
234. Sonja A et al. Since January 2020 Elsevier has created a COVID-19 resource centre with free information in English and Mandarin on the novel coronavirus COVID-. *Ann Oncol.* 2020;(January):19-21.
235. Libby P, Simon D. Inflammation and thrombosis: the clot thickens. *Circulation.* 2001;103(13):1718-1720.
236. Al-Tamimi AO, Yusuf AM, Jayakumar MN, et al. SARS-CoV-2 infection induces soluble platelet activation markers and PAI-1 in the early moderate stage of COVID-19. *Int J Lab Hematol.* 2022;(November 2021):1-10. doi:10.1111/ijlh.13829
237. Wood JP, Bunce MW, Maroney SA, Tracy PB, Camire RM, Mast AE. Tissue factor pathway inhibitor-alpha inhibits prothrombinase during the initiation of blood coagulation. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2013;110(44):17838-17843. doi:10.1073/pnas.1310444110
238. Bautista-Vargas M, Bonilla-Abadía F, Cañas CA. Potential role for tissue factor in the pathogenesis of hypercoagulability associated with in COVID-19. *J Thromb Thrombolysis.* 2020;50(3):479-483. doi:10.1007/s11239-020-02172-x
239. Bian J, Li Z. Angiotensin-converting enzyme 2 (ACE2): SARS-CoV-2 receptor and RAS modulator. *Acta Pharm Sin B.* Published online 2020:1-19. doi:https://doi.org/10.1016/j.apsb.2020.10.006

240. Tang Y, Liu J, Zhang D, Xu Z, Ji J, Wen C. Cytokine Storm in COVID-19: The Current Evidence and Treatment Strategies. *Front Immunol.* 2020;11:1708. doi:10.3389/fimmu.2020.01708
241. Dosch SF, Mahajan SD, Collins AR. SARS coronavirus spike protein-induced innate immune response occurs via activation of the NF- κ B pathway in human monocyte macrophages in vitro. *Virus Res.* 2009;142(1-2):19-27. doi:10.1016/j.virusres.2009.01.005
242. Kriszta G, Kriszta Z, Vánca S, et al. Effects of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors and Angiotensin Receptor Blockers on Angiotensin-Converting Enzyme 2 Levels: A Comprehensive Analysis Based on Animal Studies. *Front Pharmacol.* 2021;12. doi:10.3389/FPHAR.2021.619524/FULL
243. Subrahmanian S, Borczuk A, Salvatore S, et al. Tissue factor upregulation is associated with SARS-CoV-2 in the lungs of COVID-19 patients. *Journal of Thrombosis and Haemostasis.* 2021;19(9):2268-2274. doi:10.1111/jth.15451
244. Dézsi CA, Szentes V. Effects of Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitors and Angiotensin Receptor Blockers on Prothrombotic Processes and Myocardial Infarction Risk. *American Journal of Cardiovascular Drugs.* 2016;16(6):399. doi:10.1007/S40256-016-0185-0



Airlangga
University
Press

ISBN 978-602-473-930-0



9 786024 739300