

Pengaruh Merokok dan Defisiensi Alfa-1 Antitripsin terhadap Progresivitas Penyakit Paru Obstruktif Kronis (PPOK) dan Emfisema

Dwita Oktaria¹, Maharani Sekar Ningrum²

¹Bagian Pendidikan Kedokteran, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

²Mahasiswa, Fakultas Kedokteran, Universitas Lampung

Abstrak

Penyakit paru obstruktif kronis (PPOK) adalah penyakit yang ditandai oleh keterbatasan aliran udara di saluran napas yang tidak sepenuhnya reversibel. Hal tersebut menyebabkan kesulitan untuk mengeluarkan udara dari paru-paru. Kesulitan dalam mengeluarkan udara dari paru-paru ini (obstruksi jalan napas) dapat menyebabkan sesak napas atau perasaan lelah karena usaha yang lebih keras untuk bernapas. Pada tahun 2002, PPOK merupakan penyebab kematian kelima di dunia. Bronkhitis kronis dan emfisema merupakan penyebab tersering. Emfisema merupakan kontributor terbesar pada kejadian PPOK. Pada survey penderita PPOK di 17 Puskesmas di Jawa Timur ditemukan prevalensi emfisema paru 13,5%, bronkhitis kronis 13,1%, dan asma 7,7%. Emfisema merupakan penyakit pernapasan yang dapat menyebabkan kerusakan alveolar paru. Penyakit ini terjadi di parenkim paru. Orang yang menderita emfisema biasanya mengalami sesak nafas. Adapun faktor risikonya meliputi (1) merokok, (2) genetik, (3) infeksi pernapasan, (4) usia, (5) jenis kelamin, dan (6) polusi. Namun merokok merupakan faktor risiko utama yang dapat menyebabkan PPOK dan emfisema. Selain itu, terdapat juga faktor genetik. Riwayat merokok dan adanya defisiensi alfa-1 antitripsin dapat meningkatkan faktor risiko terjadinya PPOK dan emfisema. Merokok dapat menyebabkan penurunan kadar alfa-1 antitripsin serum. Sedangkan pada perokok yang menderita emfisema, defisiensi alfa-1 antitripsin dapat memperburuk keadaan. Apabila pasien mempunyai riwayat merokok dan mengalami defisiensi alfa-1 antitripsin, maka emfisema yang dideritanya akan lebih buruk dari pada pasien yang hanya mempunyai riwayat merokok atau mempunyai defisiensi alfa-1 antitripsin.

Kata kunci : defisiensi alfa-1 antitripsin, emfisema, perokok, PPOK

The Influence of Smoking and Alpha-1 Antitrypsin Deficiency to Progressivity of Chronic Obstruction Pulmonary Disease (COPD) and Emphysema

Abstract

Chronic Obstruction Pulmonary Disease (COPD) is a disease that has a limitation of airflow in airway which not fully reversible. It makes difficulty to empty air out of the lungs. This difficulty in emptying air out of the lung (airflow obstruction) can lead to shortness of breath or feeling tired because working harder to breathe. In 2002, COPD is the fifth leading cause of the death in the world. Chronic bronchitis and emphysema is the most cause of it. Emphysema is the largest contributor to the incidence of COPD. Survey of COPD patients at 17 health centers in eastern Java prevalence of lung emphysema 13,5%, chronic bronchitis 13,1%, and asthma 7,7%. Emphysema is a respiratory disease that cause a damage in lung alveolar. This disease happens in lung parenchyma. Patients with emphysema usually experience shortness of breath. There are some risk factor like (1) smoking, (2) genetic, (3) respiratory infection, (4) age, (5) gender, and (6) pollution. But smoking is the main risk for incidence of COPD and emphysema. However there is a genetic factor that can cause emphysema. The history of smoking and alpha-1 antitrypsin deficiency may increase the risk factor of COPD and emphysema. Smoking can lead to decrease level of alpha-1 antitrypsin in blood serum. However in smokers who have emphysema, alpha-1 antitrypsin deficeincy can lead a bad condition. If someone has history of smoking and alpha-1 antitrypsin deficiency, the condition of emphysema would worse than someone who only had history of smoking or alpha-1 antitrypsin deficiency.

Keyword : alpha-1 antitrypsin, cigarette smoke, COPD, emphysema

Korespondensi : Maharani Sekar Ningrum, Alamat Alysha Home Jl. Soemantri Brojonegoro No. 1 Bandar Lampung, HP 081369108490, Email sekarningrum@gmail.com

Pendahuluan

Penyakit paru obstruktif kronik (PPOK) adalah suatu keadaan yang ditandai oleh keterbatasan aliran udara yang tidak sepenuhnya reversibel. Keterbatasan aliran udara ini biasanya progresif dan disertai respons inflamasi abnormal paru terhadap partikel atau gas toksik.^{1,2} PPOK merupakan

sebuah kelompok penyakit dengan gejala klinis bronkhitis kronis dan emfisema.³ Faktor risiko PPOK meliputi dua kelompok besar yaitu faktor pejamu dan paparan lingkungan. Faktor pejamu meliputi genetik, hipereaktivitas jalan napas dan pertumbuhan paru. Paparan lingkungan meliputi kebiasaan merokok, polusi

udara, infeksi, debu dan bahan kimia di tempat kerja serta status sosial ekonomi. Faktor genetik akan meningkatkan atau menurunkan risiko seseorang terhadap perkembangan PPOK.

Menurut *World Health Organization* (WHO) tahun 2002 PPOK menempati urutan kelima sebagai penyebab kematian di dunia dan WHO memprediksi tahun 2030 PPOK akan menempati urutan ketiga sebagai penyebab kematian di dunia. Dari hasil Riset Kesehatan Dasar (RISKESDAS) 2013 menunjukkan bahwa prevalensi PPOK di Indonesia sebanyak 3,7%.⁴ Pada survey penderita PPOK di 17 Puskesmas yang berada di Jawa Timur, prevalensi emfisema paru 13,5%, bronkitis kronik 13,5%, dan asma 7,7%.⁴

Emfisema merupakan kontributor terbesar dalam kejadian PPOK. Pada emfisema terjadi distensi rongga udara di sebelah distal bronkiolus terminalis dengan disertai destruksi septum alveolaris.^{2,5} Terdapat beberapa faktor risiko penyebab emfisema diantaranya polusi udara dan faktor genetik. Polusi udara didapatkan dari merokok, paparan debu, sulfur dioksida (SO₂), nitrogen dioksida (NO₂) dan gas beracun lainnya. Sedangkan faktor genetik yang dapat menyebabkan emfisema adalah defisiensi alfa-1 antitripsin.⁵

Merokok merupakan temuan paling umum yang berhubungan dengan luasnya emfisema pascamati. Merokok dapat mengganggu pegerakan silia, menghambat fungsi makrofag alveolar, menyebabkan hipertrofi dan hipersekresi kelenjar mukus, dan paparan yang masif dapat menyebabkan perubahan emfisematus.³ Paparan akut dari rokok ini sendiri dapat menyebabkan kerusakan paru tetapi apabila bersamaan dengan faktor genetik maka akan menyebabkan kerusakan yang lebih parah.⁶

Alfa-1 antitripsin (AAT) merupakan inhibitor penting pada elastase neutrofil pada paru. Elastase neutrofil adalah protease utama yang terlibat dalam cedera paru-paru akut, sindrom gangguan pernapasan akut, serta banyak banyak proses inflamasi lain seperti emfisema, fibrosis kistik, PPOK, penyembuhan luka, rheumathoid arthritis, dan iskemia reperfusi.⁷

Dalam beberapa penelitian, merokok dan defisiensi alfa-1 antitripsin dapat menyebabkan emfisema dan memperburuk

keadaannya. Pada artikel ini akan membahas tentang progresivitas emfisema karena pengaruh paparan rokok dan defisiensi alfa-1 antitripsin.⁸

Isi

PPOK adalah suatu penyakit paru kronik yang ditandai oleh adanya hambatan aliran udara di saluran nafas yang tidak sepenuhnya reversible.⁹ Penyakit tersebut biasanya progresif dan berhubungan dengan respons inflamasi abnormal paru terhadap partikel berbahaya atau gas beracun.^{7,10} Penyakit paru obstruktif kronik (PPOK) merupakan kumpulan gejala klinis pada pasien dengan bronkitis kronik dan emfisema dan menyebabkan kematian serta kesakitan yang tinggi di seluruh dunia.¹¹

Emfisema adalah jenis penyakit paru obstruktif kronik yang melibatkan kerusakan pada kantung udara (alveoli) di paru-paru. Emfisema disebabkan karena hilangnya elastisitas alveolus. Asap rokok dan kekurangan enzim alfa-1-antitripsin adalah penyebab kehilangan elastisitas ini.¹ Pada penderita emfisema, volume paru-paru lebih besar dibandingkan dengan orang yang sehat karena karbondioksida yang seharusnya dikeluarkan dari paru-paru terperangkap didalamnya.^{2,5} Akibatnya, tubuh tidak mendapatkan oksigen yang diperlukan. Emfisema membuat penderita sulit bernafas. Penderita mengalami batuk kronis dan sesak napas.¹²

Faktor risiko PPOK meliputi 2 kelompok besar yaitu faktor pejamu dan paparan lingkungan. Penyakit biasanya timbul akibat interaksi kedua faktor tersebut. Faktor pejamu meliputi genetik, hipereaktivitas jalan napas dan pertumbuhan paru. Paparan lingkungan meliputi kebiasaan merokok, polusi udara, infeksi, debu dan bahan kimia di tempat kerja serta status sosial ekonomi. Faktor genetik akan meningkatkan atau menurunkan risiko seseorang terhadap perkembangan PPOK.¹⁰ Faktor risiko paling utama pada PPOK adalah kebiasaan merokok, tetapi hanya sedikit perokok yang berkembang menjadi PPOK.¹² Walaupun kebiasaan merokok adalah faktor lingkungan yang paling dominan untuk PPOK tapi hanya 15% yang didapat penurunan Volume Ekspirasi Paksa detik 1 (VEP1). Apabila kebiasaan merokok ini terjadi dengan adanya faktor genetik, maka hal ini dapat

memperburuk keadaan.^{11,13} Risiko untuk terjadi PPOK pun akan meningkat seiring dengan lamanya seseorang tersebut merokok dan jumlah batang rokok yang dihisap perharinya. Risiko terkena PPOK akibat merokok dapat diketahui melalui penilaian derajat berat merokok seseorang melalui Indeks *Brinkman* (IB), yakni perkalian antara jumlah rata-rata batang rokok yang dihisap sehari dikalikan lama merokok dalam tahun. Kategori perokok ringan apabila merokok antara 0-200 batang, disebut perokok sedang apabila jumlah batang antara 200-600, dan disebut perokok berat apabila menghabiskan 600 batang atau lebih.¹²

Kebiasaan merokok juga merupakan faktor risiko utama pada emfisema. Paparan rokok yang berkelanjutan menyebabkan peningkatan ekspresi makrofag paru pada matriks metalloproteinases (MMP). MMP 9 dan MMP 12 dapat menghambat antiproteinase endogen (misal, alfa-1 antitripsin) dan degradasi molekul matriks paru (misal, elastin, kolagen) yang penting untuk pertahanan integritas paru.⁶

Paparan akut rokok tidak langsung menyebabkan emfisema, tetapi hal ini menyebabkan terjadinya proses inflamasi dan stres oksidatif. Dari sekian banyak sel yang berperan, makrofag alveolar (AMs) memiliki peran yang paling penting. Paparan rokok memicu pengaktifan makrofag alveolar yang akan memproduksi sitokin pro-inflamasi yang mengaktifkan sel lain, dan kemokin yang menarik neutrofil dan sel T limfosit yang merupakan faktor paling menonjol dalam inflamasi. Adapun sitokin pro-inflamasi yang berperan seperti TNF- α , IL-1 β , IL-6 and IL-8.^{14,15}

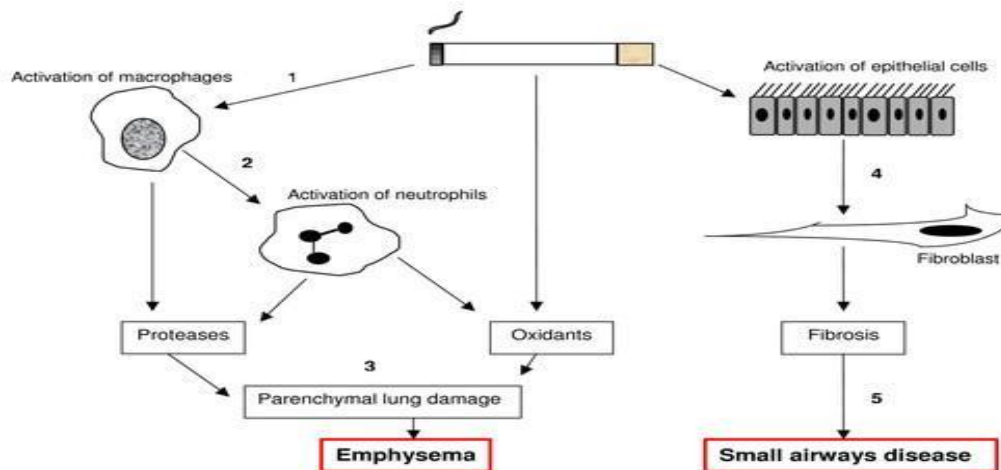
AMs juga merupakan sumber utama terjadinya penurunan protease elastin yang mendorong sebagian besar kerusakan septal.¹⁶ Produksi oksidan terkait inflamasi oleh AMs

juga berkontribusi dalam degradasi septal.¹⁵ Oksidan terkait inflamasi termasuk NO dan turunan nitrogen reaktif bereaksi dengan asam lemak tak jenuh untuk menghasilkan asam lemak nitrosasi (NFAs), termasuk asam 10-nitrooleat (OA-NO₂) dan asam 12-nitrolinoleic (LNO₂), produk reksi NO yang paling umum dalam aliran darah manusia.^{17,18}

Kontributor penting lain yang berperan terhadap disregulasi imun pada emfisema adalah *peroxisome proliferator-activated receptor γ* (PPAR- γ). PPAR- γ diekspresikan di APC. Paparan rokok dapat mengaktifkan PPAR- γ yang akan mengubah penyerapan antigen, pematangan sel, aktivasi, migrasi, dan produksi sitokin.^{19,20}

Selain rokok, genetik juga merupakan faktor risiko kejadian PPOK. Beberapa penelitian menunjukkan peningkatan prevalensi pada keluarga PPOK dibandingkan kontrol dan memberi kesan bahwa PPOK terjadi pada individu yang rentan secara genetik setelah cukup terpajan oleh asap rokok.¹⁹ Sampai saat ini belum semua gen yang berperan sebagai komponen genetik terhadap PPOK diketahui. Sebagian besar penelitian mengindikasikan bahwa komponen genetik terdiri dari beberapa gen, masing-masing dengan efek yang kecil. Gen yang berperan dalam kejadian PPOK mungkin dapat melalui beberapa mekanisme yang berbeda. Faktor genetik tersebut bisa saling berinteraksi satu dengan lainnya serta dengan faktor risiko lingkungan sehingga mengaburkan efek gen terhadap fenotip,⁷ sebagaimana terlihat pada gambar 1.

Faktor risiko genetik yang paling dipercaya saat ini adalah defisiensi α 1-antitripsin yang merupakan penghambat utama protease serin dalam sirkulasi. Defisiensi α 1-antitripsin terdapat pada sebagian kecil populasi di seluruh dunia tetapi dapat



Gambar 1. Ringkasan Alur Patogenesis Emifsema.⁸

menggambarkan interaksi antara faktor pejamu dan paparan lingkungan pada kejadian PPOK terutama pada emfisema.^{5,13} α 1-antitripsin adalah protein serum yang diproduksi oleh hepar dan pada keadaan normal terdapat di paru untuk menghambat kerja enzim elastase neutrofil yang destruktif terhadap jaringan paru.⁸

Varian genetik α 1-antitripsin tersering adalah M, S dan Z. Alel M adalah normal sedang alel S dan Z berhubungan dengan defisiensi α 1- antitripsin. Defisiensi α 1-antitripsin sedang paling sering disebabkan oleh genotip MS dan MZ, pada populasi kulit putih sebesar 10% dan 3%. Individu genotip MM mempunyai kadar α 1-antitripsin normal, sedangkan heterozigot MS dan MZ mengalami pengurangan kadar α 1-antitripsin sebesar 80% dan 60%. Heterozigot SZ jarang (<1%) dengan kadar α 1-antitripsin sekitar 40% normal dan risiko PPOK meningkat bila memiliki kebiasaan merokok.¹³

Genotip ZZ sudah dipastikan sebagai faktor risiko genetik PPOK, tetapi sangat banyak variasi penyebab penyakit pada pasien dengan genotip ZZ. Pasien dengan α 1-antitripsin varian Z bentuk homozigot (ZZ) mempunyai risiko sangat tinggi terhadap perkembangan emfisema pada usia muda jika mereka merokok dan yang tidak merokok terjadi penurunan faal paru dengan cepat. Insidens defisiensi α 1-antitripsin varian Z sangat rendah maka sulit untuk bisa menjelaskan predisposisi PPOK pada populasi

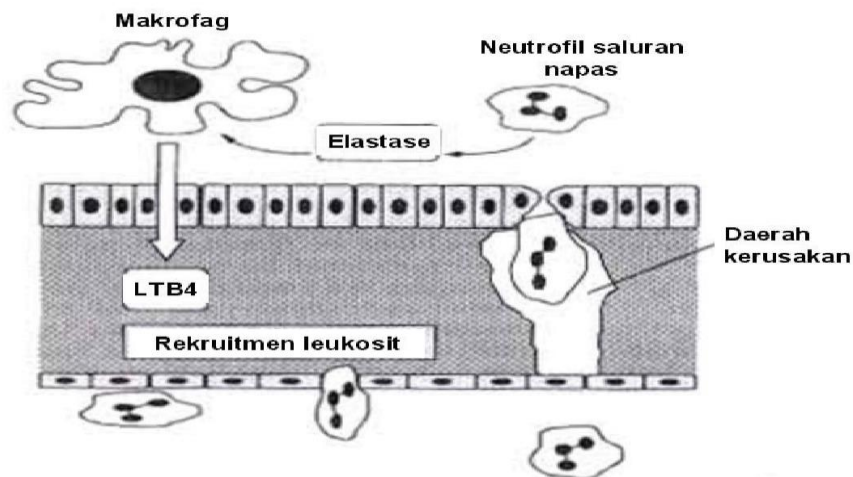
umum. Oleh karena itu perlu faktor genetik lain yang berperan pada patogenesis PPOK.⁸

Seseorang dengan defisiensi α 1-antitripsin mempunyai risiko mengidap emfisema 4,37 kali dan bronkitis kronik sebesar 3,09 kali lebih tinggi dibanding subjek normal. Defisiensi α 1-antitripsin disertai merokok akan meningkatkan risiko emfisema menjadi 10,67 kali dan bronkitis kronik menjadi 9,59 kali lebih tinggi dibanding subjek normal.⁸

Patofisiologi defisiensi α 1-antitripsin berhubungan langsung dengan mutasi gen *SERPINA1* yang berlokasi di lengan panjang kromosom 14 (14q31–32.3). *SERPINA1* mengkodekan α 1-antitripsin, yang sebagian besar diproduksi oleh hepatosit.¹³ Tidak hanya hepatosit, α 1-antitripsin juga diproduksi dalam jumlah yang sedikit oleh organ respirasi, sel epitelial intestinal, neutrofil dan makrofag.²¹

Sebagai protein fase akut dan inhibitor utama serin protease dengan afinitas untuk neutrofil elastase (ELANE2) dan proteinase3 (PR3), α 1-antitripsin menghambat tidak terkontrolnya proteolisis di jaringan ikat pada jalur respirasi bawah, khususnya selama inflamasi akut dan kronik. Di samping itu, α 1-antitripsin menghambat sifat imunomodulator yang sangat penting dalam patofisiologi dan penghentian respon inflamasi.⁸

Patogenesis PPOK dengan defisiensi α 1-antitripsin berhubungan erat dengan inhibisi neutrofil elastase dan enzim yang berperan dalam pengembangan emfisema.¹² Penurunan kadar α 1- antitripsin sampai kurang dari 35%



Gambar 2. Mekanisme Destruksi Jaringan Paru pada Defisiensi α 1-Antitripsin.⁸

nilai normal (150-350 mg/dL) menyebabkan proteksi terhadap jaringan parenkim paru berkurang, terjadi penghancuran dinding alveoli yang bersebelahan, dan akhirnya menimbulkan emfisema paru. Aktivasi neutrofil jalan napas menyebabkan pelepasan elastase neutrofil. Elastase akan merangsang makrofag melepaskan *chemoattractant* leukotrien B4 (LTB4) yang menimbulkan penarikan neutrofil plasma. Penarikan neutrofil melewati jaringan interstitial menyebabkan kerusakan jaringan ikat⁸ sebagaimana terlihat pada gambar 2.

Ringkasan

Penyakit Paru Obstruktif Kronis (PPOK) merupakan penyakit paru yang ditandai dengan keterbatasan aliran udara untuk keluar dari paru karena adanya sumbatan pada jalan napas. Kumpulan gejala klinis emfisema dan bronkitis kronis terjadi pada pasien penderita PPOK.

Emfisema adalah penyakit yang mengenai parenkim paru. Orang yang emfisema mengalami kerusakan pada alveoli. Alveoli merupakan tempat pertukaran gas pernapasan sehingga penderita emfisema akan sulit bernapas.

Merokok merupakan faktor risiko utama dari penyebab PPOK. Terjadinya PPOK pada perokok tergantung dari lamanya merokok dan jumlah rokok yang dihisap perharinya. Selain rokok, faktor resiko lain dari adalah genetik. Defisiensi alfa-1 antitripsin dapat menyebabkan emfisema. Hal tersebut berhubungan erat dengan peran neutrofil. Inhibisi elastase neutrofil dan enzim tertentu merupakan mekanisme utama terjadinya emfisema. Apabila terjadi penurunan kadar

alfa-1 antitripsin hingga 35%, maka proteksi terhadap parenkim paru berkurang sehingga terjadi pelepasan elastase neutrofil.

15% perokok yang mengalami penurunan VEP₁. Jumlah tersebut meningkat ketika orang tersebut mempunyai defisiensi alfa-1 antitripsin. Jadi alfa-1 antitripsin dapat memperburuk keadaan penderita emfisema yang disebabkan oleh rokok. Selain itu, peningkatan kejadian defisiensi alfa-1 antitripsin juga meningkat pada orang yang memiliki kebiasaan merokok.

Orang yang mengalami defisiensi alfa-1 antitripsin mempunyai risiko 4,37 kali lebih besar untuk mengidap emfisema dibanding orang normal. Apabila disertai merokok angka tersebut meningkat menjadi 10,67.

Simpulan

Merokok merupakan faktor risiko utama terjadinya PPOK dan emfisema. Selain merokok, genetik juga berperan terhadap insidensi PPOK dan emfisema. Apabila kebiasaan merokok disertai defisiensi alfa-1 antitripsin maka risiko terjadinya PPOK dan emfisema akan semakin besar. Begitu pula dengan orang yang mengalami defisiensi alfa-1 antitripsin yang disertai dengan kebiasaan merokok.

Daftar Pustaka

1. Perhimpunan Dokter Spesialis Penyakit Dalam. Obstruksi Saluran Napas Akut. Dalam: Sudoyo AW, Setiyohadi B, Alwi I, Simadibrata M, Setiati S, Editor. Buku Ajar Ilmu Penyakit Dalam. Jakarta: Interna Publishing; 2009. hlm. 2216-2229.

2. Price SA, Wilson LM. Pola Obstruktif pada Penyakit Pernapasan. Dalam: Hartanto H, Wulansari P, Susi N, Mahanani DA, Editor. Patofisiologi Konsep Klinis Proses-Proses Penyakit. Jakarta: EGC; 2006. hlm. 783-95.
3. Kumar V, Cotran RS, Robbins SL. Penyakit Paru Obstruktif. Dalam: Hartanto H, Darmaniah N, Wulandari N, Editor. Robbins Buku Ajar Patologi. Jakarta: EGC; 2007. hlm. 511-23.
4. Badan Penelitian dan Pengembangan Kementerian Kesehatan Republik Indonesia. Riset Kesehatan Dasar. Indonesia: Kemenkes RI; 2013.
5. Isselbacher KJ, Braunwald, Wilson, Martin, Fauci, Kasper. Bronkitis Kronik, Emfisema, dan Obstruksi Jalan Napas. Dalam: Asdie AH, Editor. Harrison Prinsip-Prinsip Ilmu Penyakit Dalam. Jakarta: EGC; 2000. hlm. 1347-56.
6. Shan M, You R, Yuan X. Agonistic Induction Of PPAR γ Reverses Cigarette Smoke-Induced Emphysema. *The Journal Of Clinicial Investigation*. 2014; 124(3):1371-81.
7. Alam S, Li Z, Atkinson C, Jonigu D, Janciausikne S, Mahadeva RZ. Alpha-1 antitrypsin confers a proinflammatory phenotype that contibutes to chronic obstructive pulmonary disease. *Am J Respir Crit Care Med*. 2014; 189(8):909-31.
8. Supriyadi M. Faktor Genetik Penyakit Paru Obstruktif Kronis. *CDK [internet]*. 2013; 40(8):572-8.
9. Oemiati, Ratih. Kejadian Epidemiologis Penyakit Paru Obstruksi Kronis. *Media Litbangkes*. 2013; 23(2):82-88.
10. Soeroto AY, Suryadinata H. Penyakit Paru Obstruksi Kronis. *Ina J Chest Emerg Med*. 2014; 1(2):83-8.
11. Wood AM, Pablo P, Buckley CD, Ahmad A, Stockley RA. Msoke Exposure as A Determinant of Autoantibody Titre in Alpha-1 Antitrypsin Deficiency and COPD. *Eur Respi J*. 2011; 37(1):32-8.
12. Wynimko JC. Disease modification in emphysema related to alpha-1 antitrypsin deficiency. *Tylor and Francis Group*. 2016; 1(1):1-9.
13. Stockley JA, Stockley RA. Pulmonary Physiology of Chronic Obstructive Pulmonary Disease, Cystic Fibrosis, and Alpha-1 Antitrypsin Deficiency. *Ann Am Thorax Soc*. 2016; 13(2):118-22.
14. Puspitasari SD. Hubungan antara kebiasaan merokok dengan kejadian penyakit paru obstruksi kronis (PPOK) di RS Paru Jember [skripsi]. Jember: Fakultas Farmasi Universitas Jember; 2012
15. Balhara J, Gounni As. The alveolar mechrophage in asthma a double edged sword. *mucosal immunology*. 2012; 5(6):605-9.
16. Li X, Zhang Y, Liang Y, Cui Y, Yeung SC, Ip MSM, et al. iPSC-Derived mesenchymal stem cells exert scf-dependent recovery of cigarrete smoke-induced apoptosis/proliferation imbalance in airway cells. *J Cell Mol Med*. 2016; 20(10):1-13.
17. Mebratu YA, Smith KR, Agga GE, Tesfaigzi Y. Inflammation and emphysema in cigarette smoke-exposed mice when instilled with poly (I:C) or infected with influenza a or respiratory syncytial viruses. *Respiratory Researh*. 2016; 17(1):75.
18. Sun D, Ouyang Y, Gu Y, Lin X. Cigarette smoke-induced chronic obstructive pulmonary disease is attenuated by CCL-20-blockeri: a rat model. *Croat Med J*. 2016; 57(1):363-70.
19. Feitosa EK, Okuro RT. Eucalyptol attenuates cigarette smoke-induced acute lung inflammation and oxidative stress in the mouse. *Elsevier*. 2016; 41(1):11-8.
20. Laberl M, Kratzer A, Stewart LJ. Tobacco smoke induced copd/emphysema in the animal model. are we all on the same page?. *Frontliners in Physiology*. 2013; 91(4):1-23.
21. Duk K, Zdril A, Szumna B, Rosy A, Chorostowska Wj. Frequency of rare alpha-1 antitrypsin variants in polish patient with chronic respiratory disorders. *Adv Exp Medicine*. 2016; 1(8):1129–39.