

Dispositivos Eletrônicos para Fumar - Toxicidade

ATUALIZAÇÃO OS 01/2022 GGTAB (PARTE 2)

ATUALIZAÇÃO OS 01/2022 GGTAB

ÍNDICE

TÓPICO	PÁGINA
INTRODUÇÃO	02 a 04
OBJETIVO	04
MÉTODO	05 a 08
RESULTADOS	08
RESULTADOS POR QUESTÃO PROBLEMA	08
QUESTÃO 1	09 a 19
QUESTÃO 2	19 a 98
QUESTÃO 3	98 a 105
QUESTÃO 4	105 a 109
QUESTÃO 5	109 a 160
QUESTÃO 6	160 a 191
SÍNTESE DA EVIDÊNCIA	191 a 193
REFERÊNCIAS	193 a 218

INTRODUÇÃO

Desde o surgimento e aumento drástico nas vendas de produtos de DEFs (E-cigarro) no mercado, as preocupações com a segurança levaram à investigação dos efeitos diretos induzidos por E-líquidos que são evaporados e inalados pelo usuário. Percebeu-se que, além do E-líquido ser relacionado à toxicidade final induzida pelo uso do cigarro eletrônico, o processo de vaporização pode desempenhar um papel crucial para a toxicidade devido a alguns tóxicos gerados durante o aquecimento. Enquanto isso, os pesquisadores vêm tentando desenvolver métodos para simular a exposição real experimentada pelos usuários. Portanto, além da exposição direta a E-líquidos, vários outros métodos de exposição foram estabelecidos para imitar as condições reais como a exposição ao extrato de aerossol de cigarro eletrônico (DEFs) ⁽¹⁾.

Nos últimos anos, as pesquisas sobre as potenciais toxicidades in vivo dos cigarros eletrônicos têm recebido atenção crescente. Ratos, camundongos, peixe-zebra, *Xenopus laevis* e *Caenorhabditis elegans* têm sido usados como organismos modelo. Semelhante aos estudos in vitro, vários métodos de exposição de E-cigarettes (e-líquidos, extrato (ECE) e aerossóis de E-cigarros) são aplicados para discutir as potenciais toxicidades. Os efeitos dos cigarros eletrônicos no sistema cardiovascular e o sistema nervoso central, bem como em outros órgãos (fígado e rim), tem sido publicado ⁽¹⁾.

Os sistemas eletrônicos com nicotina (ENDS) consistem em uma bateria, um elemento de aquecimento (geralmente consistindo em uma bobina e pavio) e líquido (“e-líquido”). A serpentina aquecida aerossoliza o e-líquido que consiste em propilenoglicol (PG), glicerina vegetal (VG), nicotina e agentes aromatizantes. Os ENDS foram introduzidos comercialmente na China em 2003 e nos Estados Unidos e na Europa entre 2006 e 2007. Os ENDS foram propostos como uma estratégia para parar de fumar, ou para a redução do tabagismo, mas também existem preocupações de que ENDS podem servir como uma “porta de entrada” para produtos de tabaco convencionais entre adolescentes. Foi relatado que os aerossóis produzidos pelo ENDS contêm substâncias potencialmente tóxicas que o usuário inala. Uma revisão mais ampla avaliou carbonilas,

compostos orgânicos voláteis (VOCs), metais, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) e nitrosaminas específicas do tabaco (TSNAs) em aerossóis, bem como sabores e solventes em soluções de recarga e cartuchos. Nenhuma revisão resumiu a literatura relacionada ao impacto dos dispositivos (DEFs) em todos os tóxicos de aerossol identificados. Potenciais tóxicos se originam de componentes e-líquido, degradação de materiais ENDS e reações entre o dispositivo e e-líquido, entregando produtos químicos, como VOCs, oligoelementos e carbonilas, como formaldeído, acroleína e acetaldeído. As diferenças no processo de engenharia, modificações individuais e características do dispositivo afetam a composição do aerossol, sendo que as características de design de DEFs associadas à produção ou liberação de substâncias potencialmente nocivas em aerossóis inalados podem modificar os riscos potenciais associados ao seu uso ⁽²⁾.

Em geral, os dispositivos eletrônicos para fumar (DEFs) ou cigarros eletrônicos costumam conter ingredientes como propileno glicol (PG) e glicerol, misturados com sabores concentrados e, opcionalmente, uma porcentagem variável de nicotina. Estudos quantitativos e qualitativos identificaram uma grande variedade de componentes químicos nos cartuchos, soluções de recarga e aerossóis de e-cigarros. Em mais de um estudo foi detectado cerca de 60 a 70 compostos (não identificados e identificados) em cada líquido testado, variando apenas por vários constituintes em todo o líquido, como também 113 produtos químicos em 50 marcas de líquidos. Ainda mais compostos são observados no aerossol sobre sua respectiva solução porque alguns produtos químicos são gerados durante o processo de vaporização. Um aerossol gerado a partir de um único produto testado mostrou 18 compostos adicionais observados na solução ⁽³⁾.

As substâncias identificadas em líquidos e aerossóis de cigarros eletrônicos incluem nicotina, transportadores de solvente (PG e glicerol), nitrosaminas específicas do tabaco (TSNAs), aldeídos, metais, compostos orgânicos voláteis (VOCs), compostos fenólicos, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs), aromatizantes, alcalóides do tabaco e drogas. Várias substâncias químicas e partículas ultrafinas conhecidas por serem tóxicas, cancerígenas e / ou causadoras de doenças respiratórias e cardíacas foram identificadas em

aerossóis de cigarros eletrônicos, cartuchos, líquidos de recarga e emissões ambientais. Alguns dos TSNAs identificados, aldeídos, metais, VOCs, compostos fenólicos, PAHs e alcalóides do tabaco são constituintes nocivos ou potencialmente nocivos e os seus riscos gerais para a saúde serão descritos a seguir⁽³⁾.

OBJETIVO

Este produto (OS 01/2022– GGTAB – Parte 2 – Atualização da OS 002/2020) foi dividido em duas partes, sendo que esta segunda parte tem como objetivo atualizar a resposta fornecida pela OS 002/2020 a 6 questões problema descritas a seguir, incorporando a evidência científica gerada e publicada posteriormente (período de 2020 a 2022).

1. Qual a toxicidade das **substâncias contidas** nos **refis líquidos** e de **tabaco aquecido**, utilizados nos Dispositivos Eletrônicos para Fumar (DEF)?
2. Qual a toxicidade das **substâncias emitidas** por estes diversos **refis**?
3. Qual a toxicidade da **nicotina**, especialmente das novas formas (**sais de nicotina**), utilizadas nos DEFs?
4. Qual a toxicidade das **substâncias ou plantas ilícitas**, que podem ser utilizadas por meio dos DEF?
5. É possível afirmar que o **consumo** destes produtos é **seguro** do ponto de vista toxicológico?
6. Estes produtos, à luz do conhecimento atual, poderiam **substituir** os produtos de **tabaco convencionais**, sem oferecer riscos adicionais, do ponto de vista toxicológico, aos usuários de tabaco?

MÉTODO

A metodologia utilizada é baseada na revisão sistemática (aberta e com critérios previamente definidos) da literatura publicada e não publicada nacional e mundial sobre o uso de dispositivos eletrônicos de fumar nas diferentes populações.

Critérios de elegibilidade dos estudos selecionados

Os critérios de elegibilidade para este produto (OS 01/2022– GGTAB – Parte 2 – Atualização da OS 002/2020) foram:

- Pacientes (crianças, adolescentes, jovens, jovens adultos, adultos, gestantes) expostos ou em uso de dispositivos de fumar (DEFs);
- As intervenções de “heat-not-burn” apesar de incluídas nos DEFs não serão avaliadas com profundidade e totalidade, devendo-se-lo em outra avaliação específica e dedicada ao tema;
- Desenhos de estudo: revisões sistemáticas e/ou narrativas; estudos observacionais (coorte e/ou transversais); estudos experimentais [ensaios clínicos (randomizados ou não)]; séries de casos; relato de casos; estudos experimentais em animais, *in vivo* ou *in vitro*; legislações, normas ou regulamentações;
- Idioma: português, espanhol, inglês, italiano;
- Sem limite de período consultado;
- Texto completo e/ou resumo com dados de interesse.

Bases de informação consultadas

Foram acessadas as seguintes bases de informação científica publicada virtual: Medline via Pubmed, Embase, Lilacs e Central Cochrane. Executou-se ainda busca manual nas referências das referências selecionadas, e busca da informação científica não publicada (cinzenta) no Google Scholar e em algumas das agências reguladoras de saúde internacionais [U.S. Food & Drug Administration (FDA)⁴, Centers for Disease Control and Prevention (CDC)⁵, World Health Organization (WHO)⁶, European Medicine Agency (EMEA)⁷, Public Health Agency of Canada (Canada.ca)⁸, Australian Government Department of Health⁹, Public Health England¹⁰, National Health System (NHS)¹¹]

Estratégias de busca utilizadas (por fontes de informação acessadas)**Medline**

((Smoking Devices OR Smoking Device) OR (Electronic Nicotine Delivery Systems OR (Electronic Cigarettes OR Electronic Cigarette OR E-Cigarettes OR E Cigarettes OR E-Cigarette OR E Cigarette OR E Cig OR E-Cigs OR E Cigs OR E-Cig) OR (Vaping OR Vape OR Vapes))

Embase

(Electronic Cigarettes OR Electronic Cigarette OR E-Cigarettes OR E Cigarettes OR E-Cigarette OR E Cigarette OR E Cig OR E-Cigs OR E Cigs OR E-Cig)

Lilacs, Central Cochrane e Busca cinzenta

(Electronic Cigarettes OR Electronic Cigarette)

Método de seleção da informação recuperada nas buscas

A informação científica recuperada por cada base consultada foi acessada em um primeiro processo de seleção pelo seu título para eliminar a evidência não relacionada com o tema alvo de dispositivos eletrônicos para fumar.

Sequencialmente os estudos selecionados nesse primeiro processo tiveram seus resumos e/ou textos completos acessados para, em atenção aos critérios de elegibilidade, serem inseridos em planilha informatizada apropriada (csv/excel), sendo diferenciados em incluídos (classificados pelo desenho do estudo e/ou tipo do aspecto abordado) ou em excluídos (apontando-se os motivos).

Os estudos ou informação científica incluídos tiveram seus textos completos obtidos, e a seleção final da evidência para sustentar a resposta às questões abordadas neste produto obedeceu aos seguintes princípios:

- Customizar os critérios de elegibilidade, sobretudo os componentes do P.I.C.O. e o desenho de estudo, na dependência da categoria da pergunta a ser respondida;
- Utilizar a hierarquia da evidência segundo o desenho do estudo para sustentar primariamente a resposta, a saber, iniciando pela revisão sistemática (revisão das revisões), e se necessário utilizando os estudos

primários em humanos (observacionais, experimentais, séries ou relatos de casos), ou mesmo os estudos experimentais animais, *in vivo* ou *in vitro*, e revisões narrativas;

- Utilizar a revisão ou revisões mais recentes, complementando-as (se necessário) com os estudos primários novos posteriores relevantes e não incluídos nessas revisões;
- Disponibilizar (referendar nas tabelas e referências) o acesso a todos os estudos incluídos e não necessariamente utilizados na confecção das respostas às questões problemas (por já fazerem parte das revisões utilizadas ou por trazerem informação redundante ou repetitiva);
- As intervenções de “heat-not-burn” apesar de recuperadas nas estratégias de busca utilizadas para os DEFs, não serão incluídas e avaliadas com profundidade e totalidade neste produto, devendo sê-lo em outra avaliação e produto específicos e dedicados ao tema.

Risco de vieses da evidência incluída

O risco de vieses na dependência do desenho incluído foi estimado utilizando os seguintes princípios:

1. Foram classificados em muito alto, alto, moderado ou baixo;
2. Quando a informação utilizada for advinda de relatos de casos, estudos experimentais animais, *in vivo* ou *in vitro* e revisões narrativas, esta será naturalmente considerada com risco de vieses muito alto;
3. Evidência decorrente de revisões sistemáticas seguirão o risco atribuível aos estudos incluídos por essas revisões, que será avaliada pelo AMSTAR⁽¹²⁾;
4. O risco de ensaios clínicos, de estudos coortes e de séries de casos será avaliado quando utilizados serão avaliados respectivamente pelo Robins-I e II⁽¹³⁾ e Joanna Briggs⁽¹⁴⁾, respectivamente.

Extração e expressão dos resultados dos estudos incluídos

Os resultados serão extraídos preferencialmente dos textos completos e excepcionalmente de resumos desde que os dados de interesse estejam disponíveis.

A expressão dos resultados dependerá da categoria da questão problema, podendo ser descritiva ou analítica (qualitativa ou quantitativa). Uma vez utilizando-se dados numéricos como forma de expressar os resultados, estes deverão conter o tamanho do efeito e sua variação por meio de variáveis categóricas (números absolutos, porcentagens, riscos, diferenças de risco com intervalos de confiança) ou de variáveis contínuas (médias ou diferenças de médias com desvio padrão). O nível de confiança adotado é de 95%. Não será realizada meta-análise nesta revisão sistemática.

Qualidade da evidência

Apesar de idealmente dever-se utilizar o instrumento GRADE⁽¹⁵⁾ para avaliação da qualidade da evidência, sabe-se que também idealmente este deve ser utilizado em revisões sistemáticas cuja expressão dos resultados é feita por meio da meta-análise. Entretanto, o instrumento GRADE será utilizado para classificar a qualidade da evidência em alta, moderada, baixa ou muito baixa, extrapolando-se a qualidade da evidência a partir da estimativa do risco de vieses.

Síntese da evidência

Após a expressão do texto referente a cada questão problema será expressa a síntese da evidência acompanhada de sua respectiva qualidade. Caso não haja evidência nesta atualização, modificando a síntese ou sua qualidade já expresso na OS 002/2020, esta será mantida com a observação “**Inalterada**”.

RESULTADOS

Foram recuperados nas bases de informação científica virtuais um total de **32.523**, sendo na base Medline 28.179 publicações, na Embase 3.325, na Lilacs 39, na Central Cochrane 570 e no Google Scholar 410. Após avaliação inicial pelo título foram selecionados **6.283** trabalhos. Destes e nas buscas manual e cinzenta foram incluídos para sustentar esta avaliação (OS 01/2022– GGTAB – Parte 2 (Toxicidade) – Atualização da OS 002/2020) **148 trabalhos^{1-3, 16-161}**, sendo 140 na atualização. Os estudos recuperados, selecionados, incluídos e excluídos (com motivos) no processo de atualização estão dispostos na Tabela 1/OS 01/2022 – Parte 2 (atualização OS 02/2020). O processo de recuperação,

seleção, inclusão e exclusão está ilustrado no diagrama de fluxo (Figura 1/ OS 01/2022 – Parte 2 (atualização OS 02/2020)). Os motivos de exclusão da OS 02/2020 foram explicitados em tabelas previamente enviadas junto ao documento original.

RESULTADOS POR QUESTÃO PROBLEMA

Para sustentar estes resultados foram incluídos 148; estudos^{1-3, 16-161} avaliando a toxicidade de dispositivos eletrônicos para fumar. A evidência incluída na atualização (140), relativa às 6 questões clínicas foi distribuída da seguinte forma: questão 1 (n: 4 trabalhos); questão 2 (n: 59); questão 3 (n: 2); questão 4 (n: 7); questão 5 (n: 47); questão 6 (n: 29).

Questão 1

Qual a toxicidade das substâncias contidas nos refis líquidos e de tabaco aquecido, utilizados nos Dispositivos Eletrônicos para Fumar (DEF)?

Umectantes (Solventes)⁽³⁾

Dispositivos eletrônicos para fumar (DEFs) usam umectantes como transportadores de solventes em e-líquidos para produzir aerossóis que simulam fumaça de cigarro de tabaco combustível, e em adição a esses umectantes, a água é um ingrediente comum dos e-líquidos. Propilenoglicol (PG) e glicerol (comumente referido como "glicerina vegetal" em formulações líquidas) são os solventes de vaporização mais comuns usados em cigarros eletrônicos. Tanto o PG quanto o glicerol também são comumente usados como ingredientes umectantes em cigarros manufaturados para controlar e manter o teor de umidade do enchimento de tabaco cortado. Usuários de cigarros eletrônicos frequentemente relatam que PG produz melhor "impacto na garganta" e carrega sabor melhor do que glicerol enquanto o glicerol é muito mais suave do que PG. O PG é fisicamente muito mais fino que o glicerol⁽³⁾.

A análise de vários tipos de umectantes em 54 líquidos disponíveis comercialmente para uso, incluindo dihidroxi (dióis, glicóis) e polihidroxi álcoois,

revelou que o PG e glicerol são detectados em todas as amostras em concentrações variando de 0,4 a 98g/100g, e de 0,3 a 95g/100g, respectivamente. Níveis mais baixos de outro solvente, etileno glicol (média 10g / 100 g), foram detectados. Extrapolando-se a concentração pulmonar de PG e glicerol emitido de cigarros eletrônicos as concentrações pulmonares estimadas foram 160 e 220 mg / m³ para PG e glicerol, respectivamente. O sintoma mais comum relatado por usuários de cigarros eletrônicos é boca e garganta secas, devido à propriedade de absorção de água do PG e glicerol ⁽³⁾. Ambos os compostos podem pirolisar, levando à formação de compostos carbonílicos (aldeídos), que contribuem a potenciais riscos à saúde em usuários de cigarros eletrônicos ⁽³⁾.

Propilenoglicol (PG) ⁽³⁾

O PG é bem absorvido por via oral e também pode ser absorvido pela pele ou membranas mucosas de preparações tópicas. Após a absorção, os rins eliminam 45% do PG, e o fígado metaboliza o restante para ácido láctico, ácido pirúvico ou acetona. Assim, os pacientes com insuficiência hepática e / ou renal são geralmente considerados com maior risco de desenvolver toxicidade após altas doses orais ou administração intravenosa de PG. A meia-vida de eliminação do PG é dependente da dose; com doses de 3 ou 4,5g/m² (mais de 4 horas), a meia-vida terminal é de aproximadamente 1,8h. No entanto, a uma dose de 7,5g/m² ao longo de 4 horas, a meia-vida aumentou para aproximadamente 3,1h, sugerindo saturação na eliminação em doses acima de 5g/m². A exposição mais longa, por 120 minutos, altera as células caliciformes e induz a alterações visíveis nas células epiteliais ciliadas. Resultados da exposição de cães por 15 minutos de inalação de aerossol com PG (10 ou 20%) demonstram associação dose resposta de efeitos hemodinâmicos e de hemólise. Uma dose de 5g/kg/dia foi associada com aumento da produção urinária e diminuição do consumo de água, sugestivo de efeitos adversos na função renal ⁽³⁾.

Para a questão dos efeitos potenciais do PG para a saúde no contexto do uso de cigarro eletrônico são as concentrações e doses reais inaladas durante uma tragada. As exposições para PG em uma aspiração (Puff) de 50 a 70 mL seria de 430 a 603 mg/m³, observando que as concentrações de exposição foram

maiores do que os pontos de partida para irritação das vias aéreas com base em um estudo em humanos (propilenoglicol, concentração média de 309 mg/m³), nos quais apesar da ausência de efeitos na função pulmonar, foram observados irritação nos olhos e garganta ⁽³⁾.

Glicerol

Glicerol (também conhecido como glicerina) é um líquido oleoso e higroscópico com um gosto quente e doce. Embora o glicerol possa ser derivado naturalmente de gorduras e óleos ("glicerina vegetal"), o glicerol sintético é produzido de produtos petroquímicos. O glicerol é usado em produtos alimentícios, suplementos nutricionais, produtos farmacêuticos, produtos de higiene pessoal e produtos de higiene bucal. A maioria dos líquidos usados em DEFs (e-cigarros) contêm uma mistura de PG e glicerol. Normalmente, as misturas estão em algum lugar na faixa de 30-50 por cento de glicerol, com o equilíbrio com o PG. Entre a comunidade vaporizadora há uma percepção que é sustentada por estudos de toxicologia aguda, que PG é mais irritante para vias respiratórias do que o glicerol. A ingestão do glicerol em cada refeição a uma dose de 1,3 a 2,2g/kg/dia por 50 dias não evidencia toxicidade ou efeitos adversos no sangue ou urina, o que definiu um nível de efeito adverso para o glicerol maior ou igual a 2,2 g/kg/dia. Após a administração oral em doses não especificadas pode haver eventos adversos como dor de cabeça leve, tontura, náusea, vômito, sede e diarreia ⁽³⁾.

O glicerol exógeno é rapidamente absorvido pelo estômago e intestino, com distribuição ocorrendo em todo o espaço extracelular. O caminho principal de biotransformação é via fosforilação mediada por glicerol quinase para a-glicerofosfato no fígado (80 a 90 por cento) e rins (10 a 20 por cento). O a-glicerofosfato é então transformado para formar glicose (gliconeogênese) e glicogênio por meio de vias metabólicas intermediárias. A maior parte da dose de glicerol administrado por via oral é metabolizada em cerca de 2,5h, com 7 a 14% eliminado inalterado na urina. No fígado, o glicerol administrado exogenamente pode sofrer lipogênese (combinando com ácidos graxos livres para formar triglicerídeos), e as gorduras podem ser distribuídas para os tecidos adiposos ⁽³⁾.

Em relação à toxicidade aguda, os valores de dose letal 50% (DL50) oral de glicerol variaram de 2,53 a 58,4g/kg em ratos. A dose mais alta usada em um estudo foi de 24 g/kg, e mortes não foram relatadas. Os valores de DL50 oral relatados para o glicerol foram de 4,1 a superior a 38 g/kg em camundongos, 27g/kg em coelhos e 77,5g/kg em suínos (CIR, 2015). O valor dérmico LD50 de glicerol em ratos foi relatado ser maior que 21,9g/kg, e em coelhos, maior que 18,7g/kg. O valor aproximado para o tempo de morte de 50% dos ratos (LT50) foi de 423 minutos para a exposição a aerossóis de glicerol a 11,0 mg/L. Os valores de LD50 intraperitoneal relatados de glicerol foram 4,42-10,1g/kg em ratos e 8,6-9,5g/kg em camundongos. Valores de LD50 de glicerol via subcutânea foi de 100mg/kg em ratos e 91-100mg/kg em camundongo ⁽³⁾.

Estudos de toxicidade de dose repetida, pois o glicerol tem sido usado extensivamente como um veículo para a entrega de drogas em muitos estudos de toxicologia de drogas, quatro laboratórios estudaram o uso de glicerol e outros veículos para experimentos in vivo. Foi encontrado a mais alta dose na qual não há eventos adversos ou toxicidade (NOAEL) de 500 mg/kg para cobaias e 15g/kg para ratos durante 30 a 90 dias de administração oral. O glicerol administrado na dieta de ratos por 2 anos a 5% e 10% da dieta não verificou efeitos toxicológicos ou patológicos, embora o consumo de alimentos tenha aumentado em homens. O glicerol não diluído causa uma variedade de efeitos relacionados a irritantes, incluindo hemorragia petequial e erosões no intestino delgado dependentes da dose. Em vários experimentos de alimentação de curto prazo, glicerol a 20% administrado na dieta por 4 semanas não produziu efeitos adversos, embora houve aumento no peso dos rins e aumento das enzimas hepáticas em mais da metade dos animais. Em outro estudo de curto prazo, a calcificação nos túbulos renais entre o córtex e medula foi observada em ratos administrados com 3,3g/kg/dia de glicerol na água potável por 6 meses. A dosagem oral de 3 dias de glicerol em cães de raça mista estabeleceu um NOAEL de 950 mg/kg/dia. Na dose mais alta de 3,8g/kg/dia, a mucosa do estômago estava severamente hiperêmica com hemorragias petequais. Outro estudo de alimentação de longo prazo em cães usando 35% de glicerol na dieta encontrou perda de peso após 36 semanas. A perda de peso continuou após a

redução do glicerol em 50 a 80% para o restante de um estudo de cinquenta semanas⁽³⁾.

A inalação em animais de glicerol foi estudada expondo ratos por 6 horas por dia, 5 dias por semana durante 2 semanas para concentrações de 0, 1.000, 1.930 e 3.910 mg/m³ de glicerol aerossolizado, sendo observada metaplasia escamosa da epiglote em volumes variando de 0, 33, 167 e 662 mg/L, e determinado um menor nível de valor de efeito adverso de irritação local no trato respiratório superior a 1.000 mg/m³.

O NOAEL para toxicidade materna e teratogenicidade pode variar de 1.180 a 1.310 mg/kg/dia. Já na fertilidade masculina quando o glicerol é injetado nos testículos de ratos (50–200 µL e 862 mg/kg de peso corporal) e macacos (119 mg/kg de peso corporal) a espermogênese é suprimida⁽³⁾.

Um bioensaio crônico em ratos, com glicerol administrado em concentrações em até 20% por 1 ano ou até 10 g/kg por 2 anos, falhou em aumentar a incidência de tumor. Assim, há evidências substanciais indicando que o glicerol em si não é mutagênico. Porém, quando queimado, o glicerol pode formar produtos de decomposição térmica, que também devem ter sua genotoxicidade avaliada⁽³⁾.

E-líquidos

Até o momento, a maioria dos estudos in vitro tem se concentrado na investigação da toxicidade respiratória e na avaliação de quais componentes em e-cigarros influenciam os efeitos tóxicos. O teste de 36 amostras de E-líquido contendo vários aromas e nicotina em concentrações de diferentes marcas em células-tronco de embriões humanos, células-tronco neurais de camundongo e em fibroblastos de pulmão humano demonstrou que nem todas as amostras tinham efeitos deletérios sobre os três tipos de células, e a nicotina não contribui para a citotoxicidade. O aroma de canela ceilão foi o único E-líquido que produziu forte efeitos citotóxicos em todos os três tipos de células. Para verificar se a canela aromatizante tem quaisquer efeitos adversos, foram separados 10 e-líquidos com sabor de canela de várias marcas concluindo de fato que os aromas de canela estão ligados à citotoxicidade. Dois tipos de monócitos humanos foram

usados para estudar a imunotoxicidade e efeitos de produtos químicos aromatizantes (diacetil, cinamaldeído, acetoína, pentanodiona, o-vanilina, maltol e cumarina) em E-líquidos com sabor sem nicotina, concluindo que a maioria dos produtos químicos aromatizantes testados aumentaram significativamente a liberação de citocinas pró-inflamatórias pelos monócitos. Entre aqueles detectados, cinamaldeído, vanilina e pentanodiona foram os mais tóxicos. Eles também verificaram que misturar vários sabores de e-líquido causou a maior citotoxicidade. A exposição de células primárias do epitélio traqueobrônquico humano para e-líquido com sabor de tabaco, com ou sem nicotina, descobriu que os e-líquidos sem nicotina promoveram níveis pró-inflamatórios, enquanto o e-líquido com nicotina amplifica os efeitos. Eles não diferenciaram os efeitos do aromatizante e da nicotina, por isso não está claro se o aromatizante também estava envolvido na indução desse resultado adverso. Outro grupo de investigadores usou uma mistura de laboratório de e-líquido, propilenoglicol puro e glicerol com ou sem 2% de nicotina misturada com dois aromas diferentes para especificar quais componentes têm efeitos adversos nas células epiteliais brônquicas humanas normais, sendo observado que a nicotina sozinha não poderia induzir citotoxicidade, e que a citotoxicidade só ocorreu na presença dos aromas. Foram testados os efeitos de 13 diferentes e-líquidos com sabor em célula epitelial do pulmão humano usando uma faixa de dosagem biologicamente relativa, e observou-se uma diminuição dependente da dose da viabilidade celular. Além disso, identificou-se que alguns aromas (pudim de banana, cola, doces quentes de canela, e mentol tabaco) provocaram efeitos mais prejudiciais do que outros aromas. Posteriormente, outro estudo do mesmo grupo relatou que a concentração de cinamaldeído e vanilina, mas não a triacetina, foi correlacionada com a toxicidade. Além disso, na concentração de 10% v/v o e-líquido (PG/VG sozinho) também pode causar citotoxicidade. Um estudo recente expôs células epiteliais brônquicas humanas (BEAS-2B) a diferentes concentrações de 8 aromatizantes e-líquido (Cool Mint, Creme Brulee, Manga, Frutas Medley, Virginia Tobacco, Cool Pepino, Mentol Clássico e Tabaco Clássico), encontrando que as curvas de concentração-resposta para e-líquidos foram notavelmente semelhante entre os 8 aromas e todos eram citotóxicos em uma diluição de 1:10 (10%). O mesmo grupo também fez outro estudo para detectar citotoxicidade de 20 E-líquidos populares, encontrando que a

concentração total de aromatizante foi maior do que a concentração de nicotina em 19 testados e-líquidos. A uma concentração de 1% v/v, 16 e-líquidos induziram citotoxicidade em células-tronco neurais de camundongo (mNSC). Embora muitos estudos existentes sugerem que os E-líquidos causam citotoxicidade, correlações entre qual dos ingredientes (nicotina, aromatizantes e solventes) em e-líquidos foi responsável pelo efeito adverso precisam ser consistentes. Claramente, a toxicidade causada por e-líquidos depende de muitos fatores, incluindo a doses expostas, duração da exposição, os tipos de células expostas ou a composição de E-líquidos ⁽¹⁾.

Em fígados de ratos adultos e rins após injeção intraperitoneal com E-líquidos diariamente por 4 semanas; tanto o fígado quanto o rim apresentaram lesões por estresse de oxidação, infiltração de células inflamatórias, morte celular hepática, e a maioria das células com redução nuclear estava localizada nos dutos coletores renais. Também foi detectado efeitos em testículos de ratos por via intraperitoneal durante a administração de 4 semanas, mostrando que o e-líquido induziu mudanças histopatológicas e distúrbios moleculares na esteroidogênese ⁽¹⁾.

Ratos tratados com ovalbumina (OVA) para induzir hiperresponsividade das vias aéreas (AHR), tiveram administração intra-traqueal de E-líquidos duas vezes por semana durante 10 semanas, que resultou no aumento da infiltração de células inflamatórias como eosinófilos nas vias aéreas, assim agravando ainda mais a inflamação asmática das vias aéreas (AI) causada pela OVA, e estimulando a produção de citocinas inflamatórias. Isso sugere que os e-líquidos podem exacerbar o sintoma de asma induzida por alergia⁽¹⁾.

A avaliação de toxicidade in vitro pode ser estruturada em três etapas, em que a primeira etapa é executar a triagem de toxicidade de alto rendimento de e-líquidos aplicando células primárias fisiologicamente relevantes usando condições tradicionais de cultura, principalmente para detectar a viabilidade celular. A segunda etapa é avaliar os mecanismos relacionados à toxicidade de e-líquidos tóxicos selecionados, principalmente para detectar os mecanismos

fisiopatológicos associados à exposição ao e-líquido, também usando o sistema de cultura de células submersas. A terceira etapa é usar o sistema de cultura de células, que permite que as células sejam expostas ao aerossol de cigarro eletrônico que imita as condições reais de “vaporização”. Foi testado a mistura de propilenoglicol e glicerol com ou sem nicotina, bem como duas misturas de sabores diferentes para ilustrar a adequação da estrutura para avaliar e-líquidos e seus aerossóis. As duas primeiras etapas da estrutura foram aplicadas usando células epiteliais brônquicas humanas normais que foram incubadas diretamente com meio de cultura contendo várias concentrações das misturas testadas. A citotoxicidade foi observada quando as misturas de teste estavam em concentrações superiores a 2% na avaliação da primeira etapa, então ensaios adicionais de toxicidade envolvendo distribuição do ciclo celular, saúde mitocondrial, ativação transcricional e estresse oxidativo foram detectados na avaliação da segunda etapa. Seus dados sugeriram que a morte celular dependente de apoptose ocorreu em células epiteliais brônquicas humanas normais (NHBE) após incubação com 4% da mistura de propilenoglicol e glicerol com nicotina, e a ocorrência de apoptose foi associada aos indicadores mencionados. A terceira etapa foi conduzida usando um sistema de cultura epitelial brônquica organotípica humana 3D exposto diretamente a todos os aerossóis das misturas testadas, sugerindo que a toxicidade poderia estar associada ao propilenoglicol e à mistura de glicerol com ou sem exposição ao aerossol de nicotina ⁽¹⁾.

Dados precisos e de alta qualidade sobre o conteúdo líquido e as emissões de aerossóis de sistemas de entrega eletrônica de nicotina (ENDS, por exemplo, e-cigarros) são cruciais para abordar potenciais problemas de saúde, pois estes dispositivos evoluem e amadurecem. Os metais são uma classe importante de constituintes de ENDS que merecem atenção pois têm várias implicações para a saúde. Amostragem, manuseio e captura de aerossóis adequados materiais são essenciais para gerar dados de metal quantitativos precisos e para reduzir a probabilidade de resultados imprecisos provenientes de recipientes de coleta inadequados e materiais que contribuem a altos níveis de fundo. Métodos publicados que atendem a esses critérios foram aplicados às análises de cromo, níquel, cobre, zinco, cádmio, estanho e chumbo em líquido e aerossol de

menta/mentol e sabores de tabaco de dispositivos baseados em cápsulas atualmente populares de três fabricantes. Concentrações de metais de pods que não foram usados para gerar aerossol variou abaixo do menor nível reportável para 0,164 µg/g para Cr, 61,3 µg/g para Ni, 927 µg/g para Cu, 14,9 µg/g para Zn, 58,2 µg/g para Sn e 2,56 µg/g para Pb. O cádmio foi incluído em nosso painel de analito e não estava presente acima de limites de detecção em líquido ou aerossol. As concentrações de metal em aerossol (usando um sopro de 55 mL) variaram abaixo do nível reportável mais baixo para 29,9 ng/10 puffs para Cr, 373 ng/10 puffs para Ni, 209 ng/10 puffs para Cu, 4.580 ng/10 puffs para Zn, 127 ng/10 puffs para Sn e 463 ng/10 puffs para Pb. Nossos resultados mostraram alguma entrega de metal de todos os produtos examinados e níveis de metal altamente variáveis entre fabricante, marca e embalagem⁽¹⁶⁾.

O líquido aerossolizado (e-líquido) de cigarros eletrônicos pode ser tóxico. Além do solvente (propileno glicol, glicerina vegetal) e nicotina, pouco se sabe sobre a composição líquida Formaldeído, um carcinógeno e fonte de dermatite de contato, foi relatado no vaporizado e-líquido, mas nenhum estudo avaliou o e-líquido real. O objetivo do estudo foi avaliar os produtos e-líquidos quanto à presença de formaldeído. Dezesseis produtos e-líquidos foram adquiridos e analisados quanto à liberação de formaldeído usando o método de detecção de ácido cromotrópico. Dos 16 e-líquidos adquiridos, 4 (25%) foram positivos para a presença de formaldeído; 2 eram aromatizados e 2 não aromatizados. Todos os e-líquidos positivos estavam em cápsulas ou eletrônicos descartáveis dispositivos de cigarro e 2 foram comprados em lojas locais de vape. O teor médio de nicotina nos e-líquidos positivos foi de 3,85% contra 4,03% nos e-líquidos negativos. Os produtos e-líquidos contêm produtos químicos tóxicos não declarados nos rótulos dos produtos, sendo mostrado neste estudo com 25,0% de e-líquidos contendo formaldeído. Todos os e-líquidos positivos foram dentro de cápsulas ou dispositivos descartáveis⁽¹⁷⁾.

Neste estudo, as 60 substâncias aromatizantes identificadas em 129 E-líquidos disponíveis no mercado belga foram avaliados quanto ao seu potencial genotóxico. Identificamos 5 substâncias aromatizantes de preocupação genotóxica (ou seja, estragol, safrol, 2,5-dimetil-4-hidroxil- 3(2H)-furanona,

furilmetilcetona e trans-hexenal). Por outro lado, uma preocupação genotóxica para 33 dos 60 compostos aromatizantes sinalizados com um alerta genotóxico poderiam ser excluídos. No entanto, para as outras 22 substâncias aromatizantes, não há dados in vitro nem in vivo que estavam disponíveis para o endpoint genotóxico. Para 4 das últimas substâncias i.e. 2,3-butanodiona, 2,3-pentanodiona, isoledeno e β -felandreno, os testes in vitro realizados indicam mutagenicidade e/ou indução de danos cromossômicos. No geral, esses resultados claramente aumentam a preocupação com o uso de cigarros eletrônicos e defendem mais pesquisas para avaliar a segurança dos ingredientes aromatizantes para os quais atualmente faltam dados de genotoxicidade. Enquanto isso, a partir da perspectiva do princípio da precaução, esses compostos devem ser restritos até que mais informações estejam disponíveis⁽¹⁸⁾.

Sistemas eletrônicos de entrega de nicotina (ENDS), em virtude de sua construção altamente projetada (plásticos, vidro, e-líquidos), pode conter uma série de produtos químicos emergentes de preocupação (ECCs), incluindo ftalatos, compostos fenólicos compostos e retardadores de chama. Conhecimento atual sobre a segurança de ENDS pode subestimar os riscos de saúde de ECCs. Neste estudo, examinamos os tipos e níveis desses três grupos de produtos químicos nos componentes e partes de dispositivos ENDS, incluindo líquidos de recarga, tanques/cartuchos, atomizadores, gotejamento pontas/bocais e materiais de vedação. Nossos resultados sugerem que os ftalatos foram os produtos químicos mais prevalentes em todas as amostras testadas, seguido por parabenos e retardadores de chama organofosforados (OPFRs). Particularmente, todos os produtos químicos medidos tiveram taxas de detecção significativamente mais altas em cartuchos/tanques, pontas de gotejamento/bocais e materiais de vedação em contraste com e-líquidos e amostras de bobina. Entre todos esses três tipos de componentes ENDS, os ftalatos geralmente tinham as maiores concentrações (0,279–3790 ng/unidade) nas amostras de ponta de gotejamento/bocal, seguido pelos materiais de vedação (0,380–508,8 ng/unidade) e amostras do tanque/cartucho vazio (até 761,7 ng/unidade). Para parabenos, as maiores concentrações foram observadas em amostras de ponta de gotejamento/bocal (1,152–130,1

ng/unidade), seguido pelos materiais de vedação (0,220–30,08 ng/unidade) e as amostras do tanque/cartucho (1,794–34,24 ng/unidade). Para OPFR, tris(1,3-dicloro-2-propil) fosfato apresentou as maiores concentrações (39,40–774,1 ng/unidade) em todas as amostras de componentes. Altas concentrações (20,25–260,4 ng/unidade) também foram observadas para vários OPFRs em materiais de vedação e amostras de ponta de gotejamento/bocal⁽¹⁹⁾.

Questão 2

Qual a toxicidade das substâncias emitidas por estes diversos refis?

Método de se estudar a exposição ao extrato de aerossol de cigarro eletrônico (ECE) é semelhante à exposição ao extrato da fumaça do cigarro (CSE), que é se extrair o aerossol ou fumaça para um meio de cultura ou outras soluções, expondo as células ou animais a essas soluções⁽¹⁾.

Avaliou-se a exposição de fibroblastos murinos a 21 e-líquidos usando o mesmo dispositivo de e-cigarro para produção de aerossol, e a conclusão foi que apenas ECE com aroma de café apresentaram efeitos citotóxicos. A comparação direta com CSE sugeriu que os cigarros eletrônicos podem ser menos prejudiciais do que os cigarros de tabaco. Posteriormente, neutrófilos humanos foram expostos a várias concentrações de ECE ou CSE sugerindo que diferentes marcas de cigarros eletrônicos com e sem liberação de metaloproteinase-9 de matriz induzida por nicotina (MMP-9) e ligante 8 de liberação de quimiocina C-X-C (CXCL8) desencadeiam efeitos pró-inflamatórios. Quando comparado com cigarros de tabaco, descobriu-se que a liberação de MMP-9 e CXCL8 causada por diferentes marcas de cigarros eletrônicos eram frequentemente semelhantes ou além da resposta do CSE. O tratamento de células do miocárdio com ECE gerado a partir de 20 diferentes amostras de E-líquidos com vários níveis de nicotina mostrou que 4 de 20 ECEs eram citotóxicos, e enquanto a sobrevivência celular não foi associada aos níveis de nicotina do E-líquido, estava associada a substâncias usadas nos aromatizantes. Da mesma forma, outros autores

também relataram que os aromas nos cigarros eletrônicos têm mais efeitos adversos do que a nicotina incluída, como por exemplo na investigação de linhagens celulares de vias aéreas para investigar quais componentes nos cigarros eletrônicos induzem citotoxicidade comparando ECE e CSE, onde foi descoberto que ECE induziu citotoxicidade perceptível não correlacionada com o teor de nicotina ou solventes, ao invés vários aromas (sabor morango, sabor cereja e sabor de tabaco) apresentaram citotoxicidade com variações entre diferentes marcas e linhas de células. A própria nicotina em E-cigarettes quase não teve influência na viabilidade celular, pró-inflamatória de liberação de citocinas, e na integridade de barreira sanguínea alveolar, mas sim os aromas emitidos nos cigarros eletrônicos. Embora as publicações discutidas sugerem que os aromas em E-líquidos podem estar fortemente relacionados à toxicidade, os produtos químicos aromatizantes muitas vezes não são rotulados nos produtos E-líquidos ⁽¹⁾.

A identificação e quantificação de produtos químicos aromatizantes em 39 e-líquidos comerciais registrou a transformação de e-líquidos em aerossóis gerados em 3V e 5V, e os resultados indicaram que 12 produtos químicos aromatizantes dominantes, a saber cinamaldeído, mentol, álcool benzílico, vanilina, eugenol, p-anisaldeído, etil cinamato, maltol, etil maltol, triacetina, benzaldeído e mentona foram detectados em concentrações de 1mg/ml. Além disso, células A549 e fibroblastos humanos pulmonares foram expostos a 3V e 5V com a geração de extratos de aerossol de E-líquidos contendo um produto aromatizante dominante em sua concentração mais alta, identificada em 80% de propilenoglicol e 20% de água. Os resultados demonstraram que enquanto o controle de propilenoglicol foi citotóxico para ambos os tipos de células em 5V, os produtos de sabor dominante eram mais citotóxicos ainda, sendo que as amostras de 5V eram geralmente mais potentes do que as amostras de 3V para ambas as células ⁽¹⁾.

Modelo in vitro do epitélio das vias aéreas comparando as respostas de estresse induzidas por CSE e ECE concluiu que enquanto ECE não induziu respostas de

estresse celular, CSE levou a respostas dependentes da concentração indicativas de estresse oxidativo. Alguns pesquisadores relataram que certos produtos químicos tóxicos que não estavam presentes em e-líquidos foram encontrados em e-cigarro aerossol, e a exposição de células A549 com duas abordagens (E-líquido e aerossol) mostraram resultados muito semelhantes. Estudos de toxicidade padrão investigando o efeito do aerossol do cigarro eletrônico na função do surfactante pulmonar para refletir a toxicidade respiratória conclui que, enquanto a dose e os sabores do E-líquidos causam pequenas alterações na estrutura lateral do surfactante, os aerossóis do E-cigarro não afetam as propriedades interfaciais do surfactante. Em contraste, a fumaça do cigarro do tabaco interrompeu propriedades interfaciais do surfactante com um dependente da dose efeito. Tomados em conjunto, 70% dos estudos relataram que os aerossóis dos DEFs podem induzir a toxicidade significativa⁽¹⁾.

A maioria dos estudos expôs células diretamente ao aerossol de cigarro eletrônico usando o sistema de interface ar-líquido (ALI), excetuando-se quando células epiteliais são expostas pelo método de cultura submersa. Os resultados demonstram que tanto o aroma quanto a nicotina nos cigarros eletrônicos podem induzir citotoxicidade, enquanto os solventes por si só não exibem nenhum efeito tóxico. Também sugerem que o aerossol do cigarro eletrônico é menos tóxico do que a exposição à fumaça do cigarro. Há observação de que o uso do E-cigarette leva a aumento da secreção de IL-6, dependente da dose, em células epiteliais das vias aéreas brônquicas humanas, o que sugere que a exposição ao cigarro eletrônico pode desencadear uma resposta inflamatória. Outros estudos que realizaram uma análise de toxicidade em e-cigarros expondo células epiteliais brônquicas humanas normais (NHBE) ou células epiteliais brônquicas humanas (BEAS-2B) a aerossol de cigarro eletrônico relataram resultados semelhantes, onde apesar de não haver citotoxicidade significativa, há indução e aumento da secreção de alguns mediadores pró-inflamatórios. No entanto, a comparação entre a exposição ao extrato de aerossol de cigarro eletrônico (ECE) e a exposição direta ao aerossol do cigarro eletrônico definiu que ambos os

métodos de exposição podem induzir a morte celular significativa em células epiteliais humanas. Além disso, o tratamento da célula epitelial brônquica humana (H292) com aerossol de cigarro eletrônico observou que, embora a exposição ao cigarro eletrônico não afetasse a viabilidade celular ou os indicadores pró-inflamatórios, este diminui significativamente a atividade metabólica em comparação com o controle de ar. Foi descoberto que o aerossol do cigarro eletrônico, o propilenoglicol puro e o glicerol resultaram em efeitos tóxicos, enquanto a nicotina real no cigarro eletrônico não afetou a viabilidade celular das NHBE. Da mesma forma, relatou-se que o aerossol de E-cigarette com e sem nicotina era citotóxico para as linhas de células epiteliais e poderia induzir a quebra da fita de DNA. Apesar de haver informação disponível de que a citotoxicidade, estresse oxidativo, níveis de indicadores pró-inflamatórios e modificações transcriptômicas induzidas pelo aerossol do cigarro eletrônico podem ser menores do que os efeitos induzidos pelos cigarros de tabaco, 90% dos estudos relatam que o aerossol de E-cigarette pode induzir a efeitos adversos tóxicos ⁽¹⁾.

Estudo “in vivo” expôs camundongos a aerossóis de cigarros eletrônicos via inalação de corpo inteiro por 5h/dia por 3 dias, verificando que os e-cigarros de fato induziram o aumento de citocinas pró-inflamatórias no fluido de lavagem broncoalveolar (BALF) e níveis reduzidos de glutationa no pulmão, que são críticos para manter o equilíbrio redox celular. Camundongos adultos foram expostos ao aerossol de cigarro eletrônico via inalação de corpo inteiro por 1,5 h cada vez, duas vezes / dia por 2 semanas, e após a exposição final, foram infectados por 1 h com *S. pneumoniae*, o que levou a significativo prejuízo a atividade de depuração bacteriana pulmonar em comparação com ratos de controle expostos ao ar ⁽¹⁾.

Firmando o conceito de ação pró inflamatória dos aerossóis de DEFs, há evidência de que em ratos expostos a aerossol de cigarro eletrônico via inalação pelo nariz por 1 h / dia por 4 semanas há aumento nas vias aéreas e sistêmica de marcadores inflamatórios. Estudo usando ratos neonatais para

investigar os efeitos da exposição a aerossóis de cigarros eletrônicos no início da vida, em que filhotes de camundongos foram mantidos com suas mães durante exposição a aerossol por inalação de corpo inteiro, cujo resultado apontou que nos primeiros 10 dias de exposição os filhotes pesavam menos e tiveram crescimento pulmonar moderadamente prejudicado em comparação com controles que foram expostos ao ar ambiente ⁽¹⁾.

Além da toxicidade em seu local primário de exposição os aerossóis de cigarros eletrônicos também podem induzir toxicidade em outros sistemas como em ratas grávidas expostas a aerossol de cigarro eletrônico 3 h / dia, 5 dias / semana por quase todo o período gestacional e durante a lactação para examinar os efeitos dos cigarros eletrônicos no desenvolvimento do sistema nervoso central. O resultado revelou que os e-cigarros induzem mudanças na expressão do gene associado com efeitos adversos neurobiológicos e resultados neurocomportamentais semelhantes aos associados à exposição precoce a cigarros de tabaco. Consistente com esses resultados, outro estudo também demonstrou que a exposição aos aerossóis de cigarros eletrônicos com e sem nicotina foram um risco potencial para o desenvolvimento do sistema nervoso central. Outro grupo de pesquisa usou o modelo de peixe-zebra para investigar o desenvolvimento cardíaco durante exposição ao cigarro eletrônico, então, embriões de peixe-zebra foram continuamente expostos por 3 dias em água contendo doses variáveis de ECE ou CSE em concentrações de nicotina comparáveis, levando a efeitos de desenvolvimento dependentes da dose com grave malformação cardíaca, edema pericárdico e redução da função cardíaca. Outro estudo interessante foi realizado usando um modelo de *Xenopus laevis* in vivo para investigar os efeitos da exposição ao cigarro eletrônico no desenvolvimento de embriões, descobrindo que a exposição de embriões à ECE resultou em fissuras faciais medianas e hipoplasia da face média ⁽¹⁾.

Estudos in vivo abordaram a questão de qual componentes específicos foram os principais responsáveis pela toxicidade: solventes, nicotina ou

aromatizantes. Um estudo tratou ratos adolescentes por 90 dias com 4 variações de constituintes (propilenoglicol e glicerol sozinho, propilenoglicol e glicerol com 2% de nicotina, propilenoglicol e glicerol com 2% de nicotina e aromatizante, ou um cigarro eletrônico comercial contendo 2% de nicotina por via nasal apenas por inalação). Seus resultados mostraram uma resposta inflamatória pulmonar positiva em todos os grupos de tratamento em altas doses, sendo que os grupos expostos a propilenoglicol e glicerol isoladamente tiveram os maiores efeitos pulmonares, e menor atenuação nos pesos corporais, enquanto diminuições maiores foram observadas nos outros grupos, o que mostra que os solventes usados em E-líquidos tem um impacto deletério quando inalado. Outro estudo usou um modelo de nematóide para detectar efeitos fisiológicos dos aerossóis originais E-líquido e E-cigarro, usando vários aromas com e sem nicotina e propilenoglicol, concluindo que o aromatizante não afeta significativamente os resultados e que tanto a nicotina quanto o solvente propilenoglicol foram os principais elementos causadores dos efeitos adversos. No entanto, há relatos de que a nicotina não é a principal fator na indução de defeitos craniofaciais, mas pode exacerbar os efeitos estimulados por outros componentes inalados do E-líquido ⁽¹⁾.

Outros aspectos que influenciam a toxicidade dos aerossóis produzidos pelos DEFs envolvem as substâncias geradas [aldeídos, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs), metais, nitrosaminas específicas do tabaco (TSNAs) e compostos orgânicos voláteis (VOCs)], o pH, o tamanho das partículas, espécies que reagem ao oxigênio (ROS), dano ao DNA e alterações epigenéticas:

A fumaça do tabaco é um aerossol complexo que inclui gotículas de líquido condensado (as partículas fração ou alcatrão) suspenso em uma mistura de compostos voláteis e semivoláteis e gases em combustão (fração de gás). A fase gasosa da fumaça do cigarro inclui nitrogênio (N₂), oxigênio (O₂), dióxido de carbono (CO₂), CO, acetaldeído, metano, cianeto de hidrogênio

(HCN), ácido nítrico, acetona, acroleína, amônia, metanol, sulfeto de hidrogênio (H₂S), hidrocarbonetos, nitrosaminas em fase gasosa e compostos carbonílicos. Os constituintes na fase particulada incluem ácidos carboxílicos, fenóis, água, nicotina, terpenóides, nitrosaminas específicas do tabaco (TSNAs), hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs), e catecóis. Estudos demonstram que o aerossol gerado a partir de cigarros eletrônicos também contém muitos desses mesmos compostos tóxicos e distribuição variável do tamanho de partículas (PM) não muito diferente do cigarro convencional, apesar de estarem presentes provavelmente em quantidades menores ⁽²⁰⁾.

Além disso, sabe-se que o pH do aerossol resultante irá determinar a fração da nicotina total que está biologicamente disponível na forma não protonada. O pH dos aerossóis do cigarro eletrônico varia de 4,85 a 9,6, enquanto o pH da fumaça de tabacos curados em chamas encontrados na maioria dos cigarros é ácido (pH 5,5 a 6,0). Aerossóis de cigarro eletrônico que são mais alcalinos (pH 6,5 ou superior) resultam na nicotina existindo principalmente na forma de base livre (não protonada) que atravessa a membrana celular para uma absorção mais rápida. Então, o efeito de longo prazo da exposição a aerossóis de cigarros eletrônicos com pH alto sugere que os usuários obterão sua ingestão diária de nicotina mais rápida do que fumantes de tabaco, levando assim à redução da frequência de vaporização e exposição a aerossóis ⁽²⁰⁾.

As partículas (PM) podem ser classificadas de acordo com seu tamanho: PM10: partículas grossas com menos de 10 min de diâmetro; PM2.5: partículas finas com menos de 2,5 m; e PM0.1: partículas ultrafinas (UFPs) menores que 100 nm. Destas partículas, as PM0.1 tem o potencial de causar danos significativos, pois as partículas deste tamanho podem escapar da ação bronco-mucociliar e eliminação por macrófagos alveolares. Essas partículas também penetram profundamente no trato respiratório (ou seja, o alvéolo) onde podem ser absorvidas pela corrente sanguínea. Fumar um

cigarro expõe o trato respiratório humano entre 10.000 e 40.000 µg PM (10^{12} partículas por cigarro) com um diâmetro médio <1 µm. Alguns estudos afirmam que esses aerossóis contêm altos níveis de UFP, atingindo valores de mais de 2×10^5 partículas/cm³. A maioria dos aerossóis de cigarros eletrônicos é composta de material volátil, provavelmente PG e/ou VG, sendo que o tamanho e o nível de partículas nos vapores do cigarro eletrônico têm uma distribuição de tamanho de partículas UFPs e de partículas submicrônicas (96-175 nm), com potência e resistência da bobina afetando muito a contagem e a distribuição de massa das partículas. Isso difere em comparação com o de um cigarro de combustão típico, pois a geração de partículas em aerossóis de cigarros eletrônicos é menor do que aquelas encontradas na fumaça de cigarros combustíveis. Isso pode ser preocupante, pois as UFPs podem depositar profundamente no pulmão e a exposição a longo prazo à UFPs está associada a doenças inflamatórias crônicas, como DPOC. Um estudo de dosimetria estimou que uma média de $6,25 \times 10^{10}$ partículas são depositadas na árvore pulmonar após uma única tragada de um cigarro eletrônico, com as maiores densidades de deposição encontradas nos brônquios lobares. Os efeitos das partículas encontradas nos aerossóis do cigarro eletrônico na função pulmonar permanecem desconhecidos embora PM e UFP já estejam associadas a câncer, doença cardiovascular, doenças respiratórias e modificações epigenéticas, incluindo alterações na expressão de RNAs, que podem levar à desregulação na expressão de genes⁽²⁰⁾.

Formaldeído, acetaldeído e acroleína são três aldeídos tóxicos de baixo peso molecular presentes na fumaça do cigarro (700-800 g/cigarro na fumaça convencional), bem como aerossóis de cigarro eletrônico (8,2 a 40,4 µg /10 puffs). Enquanto a concentração de aldeídos em aerossóis de cigarros eletrônicos depende da tensão da bateria e a temperatura da bobina de aquecimento, a quantidade destas é variável entre dispositivos. No entanto, estudos sugerem que o nível de aldeídos em aerossóis de cigarros eletrônicos pode se aproximar daqueles de cigarros tradicionais se o

dispositivo de cigarro eletrônico for usado em configurações de potência mais altas (ou seja, 5,0 V e mais) ou durante condições secas de puff, nas quais puff ocorre quando o atomizador aquece, mas não tem e-líquido suficiente para vaporizar. Neste caso, os níveis de aldeídos podem aumentar até 344,6 μ g para formaldeído e 206,3 μ g para acetaldeído. Além disso, há produção de carbonilas da decomposição térmica do polietileno glicol 400 (PEG 400) e de triglicérides de cadeia média (MCT). Também quando aquecido a 230°C, PEG 400 produziram formaldeído e acetaldeído, dois compostos cancerígenos, em níveis que ultrapassaram aqueles produzidos pelo PG. PEG 400 e PG produziram até 1,12% do limite de exposição diário/ inalação, quase a mesma exposição que fumar um cigarro, sendo com MCT e VG também foi produzido níveis baixos de aldeídos (aproximadamente 33 vezes menos que o PEG 400) ⁽²⁰⁾.

Foi observado que ao aumentar a voltagem aplicada a um dispositivo de bobina única de 3,3 V para 4,8 V triplica-se as taxas de emissão de aldeído total de 53 para 165 μ g / puff, e ao reutilizar o dispositivo várias vezes aumenta-se os aldeídos em mais de 60%. A hidroxiacetona foi identificada em aerossóis DEFs em concentrações que variam de ~ 100 a ~ 10.000 μ g / mL a 5 V, mas não a 3 V. À medida que a voltagem aumenta de 2,2 para 5,7 V, o benzeno aumenta 11 vezes e o tolueno dobra nas emissões de DEFs. As condições de inalação a seco aumentaram as concentrações de formaldeído, acetaldeído e acroleína no aerossol de DEFs em 30 a 250 vezes, níveis potencialmente mais altos do que um cigarro convencional. A evidência disponível parece sugerir que a manutenção de condições de operação ideais (por exemplo, saturação adequada do pavio e evitar o aquecimento excessivo da bobina) está associada a níveis mais baixos de carbonilas. A localização, orientação e resistência da bobina também podem afetar a produção de carbonil ⁽²⁾.

Numerosos estudos avaliaram a relação entre a energia fornecida ao elemento de aquecimento do atomizador e as concentrações de carbonil do aerossol. Há relatos de níveis de carbonil de 1,20 μ g/mg de E-líquido consumidos quando um DEF foi operado a uma potência de 10 watts (W) e 4,43 μ g/mg de E-líquido com

a potência de 15 W; ou que as concentrações de carbonil no aerossol foram maiores quando o DEF foi operado a 30 W do que a 18 W. O propionaldeído, acetaldeído, acroleína, glicoaldeído e hidroxiacetona estavam abaixo dos limites de detecção em 11, 13 e 17 W, mas todas as carbonilas estavam acima do limite de quantificação em 24 W. Em DEF específico recomendado para uso em 15–60 W, detectou-se carbonilas em níveis elevados em 50 W (4400 µg/15 puffs) e ainda mais alto em 60 W (6200 µg / 15 puffs). Mesmo em potências baixas a simples variação de 4W para 6W permite identificar aumentos de carbonilas e VOCs no aerossol de DEFs, cujos componentes o distingue do componente do E-líquido. Outro estudo observou que o aumento da potência de DEFs de 11,7W para 16,6W aumentou muito as concentrações de aerossol de acetaldeído, acroleína, formaldeído, propionaldeído e butiraldeído. As concentrações de carbonil em aerossóis de DEFs estão correlacionadas com ambas as potências aplicadas por área de superfície da bobina e líquido consumido, por exemplo na observação de que a acroleína e o acetaldeído permaneceram abaixo do limite de detecção quando a potência aumentou de 55 W para 65 W em uma bobina de aquecimento sub-ohm (resistência <1 ohm), mas que esses tóxicos aumentaram quando a potência aumentou de 9 W para 11 W em uma bobina de aquecimento supra-ohm (resistência > 1 ohm). Também se descobriu que a temperatura do dispositivo aumenta com o aumento da potência e corresponde diretamente à produção de diidroxiacetona (DHA) e às concentrações de benzeno no aerossol. No geral, as descobertas sugerem que o aumento da potência está associado ao aumento da produção de carbonil⁽²⁾.

Os PAHs são compostos orgânicos compostos por vários anéis aromáticos que contêm principalmente carbono e hidrogênio. Os PAHs são produzidos a partir da combustão incompleta de compostos orgânicos e, portanto, estão presentes na fumaça de incêndios florestais, madeira e cigarros. A exposição aos PAHs ativa o receptor aril hidrocarboneto (AhR) que induz a expressão de enzimas de metabolização xenobiótica (XMEs), os quais como o citocromo P4501A1 e 1B1 (CYP1A1 e CYP1B1, respectivamente) são importantes no metabolismo e depuração da maioria dos PAHs. Muitos PAHs são tóxicos e/ou cancerígenos. Por exemplo, o naftaleno é um dos PAHs mais abundantes (a taxa média de ingestão por inalação é 19 µg/dia) e é um tóxico respiratório, bem como um

possível carcinógeno humano. Na fumaça do cigarro, mais de 500 PAHs são gerados, e as descobertas em modelos animais indicam que efeitos deletérios à saúde são mediados pelo AhR. Benzo [a] pireno (B [a] P) é outro PAH presente na fumaça do cigarro (<10 ng / cigarro) e é também um carcinógeno. O tipo e a quantidade de PAHs no aerossol do cigarro eletrônico é menor do que na fumaça do tabaco. Em um estudo, examinando a presença de 16 PAHs em diferentes aerossóis de cigarros eletrônicos, incluindo o benzo [a, e] pireno, naftaleno e criseno, verificou-se que os níveis desses PAHs foram 99,7% mais baixos no aerossol do cigarro eletrônico em comparação com a fumaça de cigarros. No geral, isso sugere que os cigarros eletrônicos podem representar menor risco do que o tabaco em relação à exposição aos PAHs, mas, apesar disso, a presença de alguns desses PAHs em aerossóis de cigarros eletrônicos também pode significar que a vaporização não é totalmente isenta de riscos. Detectou-se sistematicamente naftaleno e acenaftileno no aerossol de DEFs em baixas concentrações, e em aerossóis criados a partir de E-líquidos de baunilha, canela e manga, o cadaleno foi identificado no sabor da manga. As evidências disponíveis sugerem que as concentrações de PAH são baixas, o que é consistente com o conhecimento de que os PAHs são principalmente produtos da combustão e quando os DEFs operam a temperaturas mais baixas do que os produtos de tabaco queimados tendem a produzir menos PAHs nos aerossóis⁽²⁾⁽²⁰⁾.

Os E-líquidos podem conter vestígios de muitos elementos inorgânicos e metais tóxicos, como sódio, bromo, ouro, escândio, ferro e cobalto, mas as concentrações são muito menores do que no cigarro convencional e, portanto, o risco associado às exposições poderia ser muito baixo. Mas, como em cigarros eletrônicos, as bobinas de aquecimento são geralmente feitas de nicrômio [combinação de níquel (Ni) e cromo (Cr)] e aço inoxidável, metais tóxicos de bobinas aquecidas podem ser encaminhados em aerossóis de vaporização, e esta é a razão pela qual Ni e Cr estão presentes em aerossóis de cigarros eletrônicos, mas não nos E-líquidos. Isso sugere que as emissões de Cr e Ni são em maiores concentrações do que na fumaça do tabaco cigarros. A análise da fumaça do cigarro mostrou que os níveis de emissão não eram quantificáveis. Contudo, os níveis de Cr e Ni no aerossol do cigarro eletrônico foram de 50 ng

nos primeiros 100 puffs. Ni e Cr são tóxicos para humanos e classificado como carcinógeno do grupo 1 pela Agência Internacional de Pesquisa do Câncer (IARC); a inalação desses metais está associada à bronquite crônica e redução da função pulmonar. Além de Ni e Cr, o cobre e o zinco também são detectados em aerossóis de cigarro eletrônico (0,2 g gerado de 100 puffs). O cádmio (Cd), um metal presente no tabaco, e associado ao aumento do risco de câncer de pulmão, também é encontrado em aerossóis, mas não em E-líquidos. A análise de quatro cigarros eletrônicos diferentes mostrou que a concentração de Cd no aerossol do cigarro eletrônico é menor do que na fumaça do tabaco (0,002 g / 15 puffs vs 0,056 g / 15 puffs, respectivamente) ⁽²⁰⁾.

Relações importantes foram observadas entre oligoelementos em aerossóis DEFs e variações de potência, dispositivo, fluxo de ar, material da bobina e E-líquido. Observando-se que quando a potência é aumentada em um dispositivo de sistema aberto de 20 W para 40 W, arsênio médio (As), cromo (Cr), Cu, ferro (Fe), manganês (Mn), níquel (Ni), Pb, antimônio (Sb), estanho (Sn) e concentrações de Zn aumentam 14, 54, 17, 30, 41, 96, 14, 81, 631 e 7 vezes, respectivamente. DEFs de sistema aberto com Kanthal (Fe, Cr e liga de alumínio [Al]) e bobinas de aço inoxidável apresentam níveis de Fe e Ni consistentemente mais altos. Foi identificado Cd, Ni e Pb em todos os vapores gerados a partir de 12 modelos de DEFs de primeira geração diferentes e no aerossol do sistema de 2 tanques de DEFs. Cerca de 5% das combinações de DEFs e E-líquido testados emitiram Cr em níveis que excederam os limites de exposição diários permitidos. Em DEFs descartáveis os aerossóis gerados em taxas de fluxo de ar altas e baixas produziram o mesmo padrão de elementos, embora a concentração total do elemento diminuisse na taxa de fluxo de ar mais alta. Neste estudo, pelo menos 35 oligoelementos foram identificados no aerossol dos DEFs descartáveis, sendo o Si era o elemento dominante, mas outros elementos como cálcio (Ca), sódio (Na), Cu, magnésio (Mg), Sn, Pb, Zn, boro (B), selênio (Se), Al, Fe, germânio (Ge), Sb, Ni e estrôncio (Sr) estavam presentes na maioria dos aerossóis, com concentrações relativas variando pelo modelo de dispositivo. As concentrações dos metais podem variar com a presença ou ausência de aromatizantes e nicotina, por exemplo quando os níveis de As, Cr,

Ni, Cu, Sb, Sn e Zn no aerossol de DEFs variam amplamente entre os sabores contendo nicotina e não contendo nicotina ⁽²⁰⁾.

Aerossóis gerados a partir de cigarros eletrônicos também contêm nitrosaminas específicas do tabaco (TSNAs) e compostos orgânicos voláteis (VOCs). Entre os VOCs encontrados em aerossóis de cigarros eletrônicos, o benzeno é o principal, sendo classificado como um conhecido carcinógeno humano. A fumaça do cigarro também é uma importante fonte de benzeno. Um estudo comparativo avaliou a emissão de benzeno em aerossóis de cigarros eletrônicos. Neste estudo, o benzeno não foi detectado em JUUL. No entanto, em dois sistemas de tanque de recarga, o benzeno foi formado a partir de solventes (PG e glicerol) e aditivos (ácido benzóico e benzaldeído). Os níveis de benzeno variaram entre 1,8 µg/m³ e 5000 µg/m³, dependendo das configurações de potência e aditivos. Apesar de ser muito inferior ao observado nos cigarros tradicionais (200.000 µg/m³), as concentrações de benzeno encontradas no aerossol do cigarro eletrônico ainda são preocupantes, especialmente considerando que a exposição crônica e repetida ao benzeno dos aerossóis do cigarro eletrônico pode não ser de risco insignificante. Os TSNAs também estão presentes em pequenas quantidades em aerossóis de cigarros eletrônicos. Os TSNAs estão entre os carcinógenos mais importantes na fumaça do cigarro e são formados durante o processo de queima da nicotina e outros alcalóides do tabaco. Os níveis totais de TSNAs variam normalmente de 200 a 1600 ng / cigarro. Entre os sete presentes na fumaça do tabaco, a nitrosamina cetona derivada da nicotina (NNK) e a N-nitrosonornicotina (NNN) são consideradas as mais cancerígenas. Outros TSNAs incluem N0-nitrosoanatabina (NAT) e N-nitrosoanabasina (NAB). Vários estudos relataram que determinados TSNA foram detectados em aerossóis de cigarros eletrônicos, mas os níveis são consideravelmente mais baixos do que em cigarros de tabaco [0,8 ng a 28,3 ng/aerossóis de cigarro eletrônico (150 tragadas)]. Por esse motivo, o FDA anunciou recentemente sua intenção de regular os TSNAs nos cigarros eletrônicos. Com o aumento da vaporização como alternativa ao fumo, é importante monitorar os níveis de TSNAs no corpo como resultado do uso de cigarros eletrônicos ⁽²⁰⁾.

Como sabemos a toxicidade causada por e-líquidos e o aerossol resultante que é gerado pode ser o resultado de vários fatores, incluindo a composição do e-líquido, a temperatura, a dose, a duração e o tipo de célula estudada. Há evidências de que os cigarros eletrônicos diminuem a integridade celular e induzem inflamação, dois efeitos que podem ser independentes do tipo de dispositivo de vaporização, tipo de célula, bem como da presença de sabores e outros componentes de e-líquidos (por exemplo, solventes e nicotina) ⁽²⁰⁾.

Os efeitos do tabaco que promovem a inflamação pela inalação de fumaça são indiscutíveis, e as evidências indicam que os aerossóis de cigarro eletrônico também promovem inflamação no sistema respiratório, embora em níveis mais baixos. Por exemplo, ratos expostos a aerossóis de cigarro eletrônico com sabor de tabaco contendo nicotina tiveram um aumento na citocina pró-inflamatória e secreção de quimiocinas, bem como aumento da infiltração de neutrófilos e macrófagos. Semelhante à fumaça do cigarro, após uma exposição de 3 dias aos aerossóis do cigarro eletrônico, havia níveis mais elevados de uma mucina formadora de gel que é induzida durante a alergia (Muc5ac), e que também aumenta nas vias respiratórias de fumantes e usuários de cigarros eletrônicos. Além disso, os níveis de neutrófilos extracelulares (NETs) e as enzimas neutrofílicas elastase e metaloproteinase-9 da matriz (MMP-9) que são associados ao desenvolvimento de DPOC, são significativamente elevados em usuários de cigarros eletrônicos ⁽²⁰⁾.

Uma variável que pode impactar os potenciais efeitos adversos dos E-cigarros são as configurações do dispositivo. Os usuários tendem a aumentar os parâmetros do elemento de aquecimento regulando a tensão da bateria e a resistência elétrica da bobina. Na verdade, um estudo de pesquisa com 522 adultos mostrou que, em média, o usuário define o poder de seus dispositivos para $28,3 \pm 24,2$ W. Essas variáveis, bem como a topografia do puff (por exemplo, duração do Puff, intervalo inter-puff e número de puffs) afetam a

geração de aerossol e a oferta de nicotina e, portanto, podem impactar os efeitos potenciais dos cigarros eletrônicos sobre a saúde, incluindo o nível de inflamação. Por exemplo, aerossóis de PG e glicerol gerados por um dispositivo de cigarro eletrônico operando a mais de 40 W (considerado de alta potência) induz a liberação de IL-6 e IL-8 pelo epitélio brônquico humano. Em estudo comparativo foram usados dois dispositivos idênticos contendo o mesmo e-líquido (PG / VG proporção, concentração de nicotina e sabores), mas equipado com duas bobinas diferentes (1,5 e 0,25 ohm) para obter potências totais de 8 ± 2 W e 40 ± 5 W, respectivamente. Aerossóis gerados em potência mais alta induzem a uma resposta inflamatória muito mais robusta em ratos em comparação com aerossóis gerados em potência baixa, sugerindo que as características do dispositivo são fatores-chave que afetam a inflamação induzida por aerossóis de cigarro eletrônico. Assim, numerosos estudos demonstram que a vaporização causa uma inflamação que é semelhante à causada pela inalação da fumaça do cigarro, mas provavelmente em menor extensão⁽²⁰⁾.

A localização, orientação e resistência da bobina também podem afetar a produção de carbonil. Atomizadores de bobina superior produzem mais carbonilas em tensões mais altas do que em tensões mais baixas, e os atomizadores de bobina inferior produzem níveis extremamente baixos de carbonilas em tensões altas e baixas. As concentrações de benzeno eram amplamente indetectáveis em um DEFs com uma única bobina vertical com uma mecha de algodão, mas eram mais facilmente detectadas com uma única bobina horizontal com uma mecha de sílica. As concentrações de DHA no aerossol são diretamente proporcionais à massa de VG: PG aerossolizado, mas uma bobina vertical produz menos DHA do que uma bobina horizontal. De forma semelhante mais carbonilas com uma bobina superior do que com uma bobina inferior; a saturação insuficiente da mecha foi associada ao acúmulo da bobina e maior produção de carbonil em comparação com uma bobina de algodão orgânico de aço inoxidável que fornece ampla saturação da mecha com depósitos mínimos da bobina e

menos carbonilas. Os atomizadores horizontais da bobina superior têm o potencial de gerar mais carbonilas em comparação com a bobina inferior atomizadores horizontais, enquanto as bobinas verticais produzem menos carbonilas do que as bobinas horizontais.

Carbonilas estão presentes no aerossol associado aos principais grupos de aromatizantes, mas não no E-líquido não aerossolizado. Também o acetaldeído e a acroleína existem no aerossol de DEFs, mas não em soluções E-líquidos. Demonstrou-se que o VG gera níveis mais elevados de formaldeído e acroleína e o PG gera níveis mais elevados de acetaldeído. Há concentrações médias de formaldeído de 626 µg / m³ em aerossol produzido com 24 sabores E-líquidos, sendo que em concentrações de formaldeído e acetaldeído próximos a 1 ng / mL de emissão não há diferenças substanciais entre os aromas, com exceção das concentrações de acroleína do aerossol produzido com e-líquido com sabor de “tabaco”. Também se observou que a acroleína estava presente em maiores concentrações no sabor a tabaco do que no e-líquido com sabor de frutas, ou mesmo que o sabor mentol gera 330% mais benzeno e 120% mais tolueno do que no sabor tabaco. Os fatores de emissão dos compostos de carbonila aumentaram linearmente de 1,0 a 92 vezes quando o conteúdo de sabor do e-líquido aumentou de 5% para 50% e concluíram que a maioria dos carbonilas em e-líquidos eram de aromatizantes, com exemplos de detecção de diacetil em 39 aerossóis de 51 E-líquidos. Houve detecção de benzaldeído em 108 de 145 E-líquidos com sabor, observando-se níveis mais altos (5,1–141,2 µg / 30 puffs) em produtos com sabor de cereja ⁽²⁾.

Os efeitos pró-inflamatórios dos aerossóis de E-líquido dos DEFs podem ser mediados, pelo menos parcialmente, pela geração de espécies que reagem ao oxigênio (ROS), uma vez que contêm um radical oxigênio, como o ânion superóxido, hipoclorito, peroxinitrito e hidroxila ou um outro radical como o peróxido de hidrogênio. Na célula, as ROS são geradas durante a oxidação no metabolismo mitocondrial, e servem como moléculas sinalizadoras importantes na proliferação e sobrevivência celular. ROS são também produzidas pelas

células em resposta a xenobióticos, danos e infecções (principalmente por neutrófilos e macrófagos) como um mecanismo de defesa. Níveis excessivos de ROS levam ao estresse oxidativo, que é definido como um desequilíbrio entre a produção de ROS e sua eliminação por enzimas antioxidantes (por exemplo, superóxido dismutase (SOD) e glutationa peroxidase (GPX)). Na fumaça do cigarro, ROS são produzidos durante o processo de combustão (120-150 nmol de ROS). A caracterização das ROS em aerossóis de cigarros eletrônicos é mais limitada, mas por exemplo, um recente estudo relatou que os níveis de ROS variam entre 1,2 a 8,9 nmol/puff, e que a quantidade de ROS depende da marca, sabor, produto, e regime do cigarro eletrônico. Além disso, a produção de ROS aumentou oito vezes conforme a tensão aumentou de 3,7 V para 5,7 V. Também a fumaça do cigarro e os aerossóis do cigarro eletrônico induzem à produção de ROS pelo próprias células, onde diferentes e-cigarros e sabores de cápsula JUUL geraram quantidades significativas celulares de ROS e produção de superóxido mitocondrial em células epiteliais brônquicas e monócitos, resultando em aumento de mediadores inflamatórios, como IL-6, IL-8 e prostaglandina E2 (PGE2). Além disso, a ROS induzida por aerossol de cigarro eletrônico é capaz de desencadear apoptose e necrose programada que reduz a viabilidade celular geral. Outros mecanismos de morte celular sofrem interferência de aerossóis de cigarros eletrônicos incluindo autofagia, um processo pelo qual proteínas e outros componentes celulares são reciclados a fim de manter a homeostase celular. A autofagia é induzida em resposta ao estresse celular, como a privação de nutrientes, estresse oxidativo, dano ao DNA, agregados de proteínas, organelas danificadas ou patógenos, em que funciona como uma resposta citoprotetora. Exposição ao cigarro eletrônico, semelhante ao cigarro fumaça, induz a autofagia em células epiteliais brônquicas humanas e pulmões murinos. A inalação de nicotina também foi associada à redução da viabilidade celular via indução de apoptose / senescência celular por meio da autofagia mediada por ROS. Os aldeídos também causam liberação de citocinas pró-inflamatórias, proteases e ROS em células pulmonares e endoteliais. Essas descobertas são de importância potencial, como no enfisema, o componente da DPOC caracterizado por perda alveolar, que é mecanicamente atribuído à ativação aberrante dessas várias vias de morte celular. Em conclusão, a vaporização pode induzir respostas celulares semelhantes às causadas pelo fumo (por

exemplo, estresse oxidativo e morte celular), que são mecanicamente ligadas ao enfisema⁽²⁰⁾.

Foi relatado que a concentração de radicais livres no aerossol varia de acordo com a potência e a temperatura da bobina associada. Há aumentos nos radicais livres com aumentos na temperatura da bobina de 100 a 300 °C e potência de 10W a 50 W. O fluxo de ROS aumentou 3 vezes quando a potência aumentou de 5W para 11W em um dispositivo de bobina única, e aumentou aproximadamente 7 vezes quando a potência aumentou de 100 W para 200 W em um dispositivo de bobina óctuplo. Um dispositivo forma mais radicais hidroxila em 31,3 W do que em 6,4 W. Foi demonstrado que os radicais livres aumentam com o aumento da potência. Os efeitos do tipo de dispositivo sobre os radicais livres foram examinados, observando-se que os radicais livres são produzidos por DEFs em sistema fechado não recarregáveis, inclusive a concentração de radicais livres de dois DEFs de sistema fechado foi significativamente menor do que nos cigarros de tabaco convencionais, mas a potência oxidativa dos radicais livres originados nos DEFs é muito maior. O volume e a frequência dos puffs também aumentam a emissão de radicais livres, e especificamente, puffs de 90 e 170 mL (3,8 s cada) geram 4,1 e 10,3 vezes mais radicais hidroxila do que um puff de 35 mL (também 3,8 s). E, finalmente a proporção entre VG: PG também pode alterar a emissão de radicais livres, como por exemplo no aerossol da JUUL em que se observou radicais livres de $2,95 \pm 0,81$ nmol / g para o sabor do tabaco na proporção VG: PG de 70:30, e a concentração maior ($3,01 \pm 0,28$ nmol / g) quando a composição do e-líquido era 70:30 VG: PG sem aromatizante. A significância adicional foi alcançada quando o e-líquido foi 40:60 VG: PG sem aromatizante ($4,68 \pm 0,58$ nmol / g), e aumentou ainda mais para $4,78 \pm 0,73$ nmol / g quando o citral foi adicionado ao 40:60 VG: PG. Foram gerados aerossóis de 3 diferentes E-líquidos produzidos por um sistema de tanque, estimando-se a produção de radicais livres em 10.3, 4.0 e 2.5×1013 radicais por puff de mentol, cítrico e sabores de tabaco, respectivamente. Os radicais livres gerados a partir de 49 e-líquidos comercialmente disponíveis demonstram que 43% dos sabores resultam em aumentos significativos na produção de radicais em comparação com a mistura de base VG: PG (40:60), mas a quantidade variou muito entre os sabores; os

aromas dipenteno, etilmaltol, citral, linalol e piperonal promoveram a formação de radicais de forma dependente da concentração. No geral, ROS e radicais livres no aerossol de DEFs variam de acordo com a composição do E-líquido ⁽²⁾.

Vários estudos sugerem que a exposição a cigarros eletrônicos também induz dano ao DNA, possivelmente devido ao aumento do estresse oxidativo. E-Líquidos - assim como a nicotina sozinha - podem inibir os mecanismos de reparo do DNA, e existem evidências atuais de que os aerossóis de cigarro eletrônico também prejudicam o reparo do DNA. A metilação do DNA também está associada à vaporização, com a exposição de cigarro eletrônico no útero de camundongos levando a anormalidades na metilação do DNA que foi associada a uma maior anormalidade inflamatória no pulmão. Existe agora evidências de que a exposição ao cigarro eletrônico altera também a expressão do RNA nas células do epitélio pulmonar humano, embora o significado funcional desses RNAs e sua contribuição na citotoxicidade de e-cigarros pode ter significado pouco importante. Assim, é possível que os cigarros eletrônicos regulem a expressão de vários genes, parcialmente por meio de mecanismos epigenéticos ⁽²⁰⁾.

Semelhante ao caso do fumo passivo, o aerossol de cigarro eletrônico é uma mistura inherentemente dinâmica sujeita à possível mudanças ao longo do tempo em termos de constituintes e concentrações. Para os VOCs em aerossol de cigarro eletrônico, como formaldeído, acroleína e acetaldeído, a potência da fonte e a taxa de ventilação determinam amplamente sua concentração no ar interno. Semi-VOCs, como nicotina e TSNAs, também são amplamente afetados por sorção e subsequente dessorção das superfícies e poeira em uma sala. A extensão deste tipo de contaminação secundária de cigarros eletrônicos em configurações do mundo real não foi estabelecida, mas seria de particular preocupação para crianças que moram em casas de usuários de cigarros eletrônicos, pois eles passam mais tempo em ambientes fechados, estão próximos e se envolvem em maior atividade em áreas onde a poeira se acumula e pode ser ressuspensa (por exemplo, tapetes no chão), e inserir itens não alimentares em suas bocas com mais frequência ⁽²¹⁾.

Foram observados pequenos aumentos de partículas finas e ultrafinas e alguns VOCs, incluindo PG, substâncias aromatizantes e nicotina, indicando inalação passiva de aerossóis de cigarro eletrônico por não usuários na presença de usuários de cigarros eletrônicos. A distribuição nos tamanhos das partículas do componente do aerossol muda nos pulmões e resulta na expiração de partículas menores, provavelmente causadas pela evaporação de partículas líquidas nos pulmões e no meio ambiente após exalação. Estudos encontraram maiores quantidades de PG, VG, material particulado (PM), e nicotina em uma câmara de 45 m³ durante o uso de cigarro eletrônico em sessões com voluntários em comparação com sessões controladas. Também encontraram um aumento de 20% no nível de policíclicos hidrocarbonetos aromáticos (PAHs) e um aumento de 2,4 vezes nas concentrações de alumínio. Também foi demonstrado contaminação por partículas de metal e silicato em E-líquido e seu aerossol, bem como cigarros eletrônicos sem nicotina produziram níveis mais altos de partículas do que os cigarros eletrônicos contendo nicotina⁽²¹⁾.

Os cigarros eletrônicos descartáveis (e-cigarette) semelhantes a pod-mod com sabor tornaram-se populares, principalmente entre jovens e adultos jovens. Até o momento, pouco se sabe sobre as características do produto e os perfis de emissão tóxica desses dispositivos. Descobrimos que os descartáveis do tipo pod-mod podem emitir altas doses de nicotina e compostos carbonílicos tóxicos em relação aos dispositivos de cigarro eletrônico recarregáveis baseados em cápsulas, como o JUUL. Essa descoberta provavelmente se deve à baixa qualidade da construção, falta de um sistema de regulação de temperatura e rotulagem não confiável. Por exemplo, um produto testado emitiu mais formaldeído cancerígeno do que o típico de um cigarro combustível. Também descobrimos que a concentração de nicotina rotulada de descartáveis do tipo pod-mod costuma ser enganosa; a concentração de nicotina medida foi até 1,5 vezes maior do que o indicado no rótulo do produto⁽²²⁾.

O presente estudo confirmou analiticamente a identidade de duroquinone (DQ) e 2,6,10,14-tetramethyl-1-pentadecene (TMPD), como dois principais degradantes térmicos de vitamina E acetato (VEA) em aerossol. Um terceiro maior degradante foi detectado, com características semelhantes ao DQ.

Embora a modelagem tenha sugerido que esse composto pode ser etil-DQ, essa hipótese ainda não foi confirmada. O estudo teve algumas outras limitações. Uma limitação era que o procedimento usado para coletar as amostras poderia resultar em conversões químicas. Como os compostos e seus degradantes passam por vários processos antes da análise, as moléculas produzidas durante a vaporização do VEA podem ser convertidas nos compostos aqui descritos durante os processos de coleta e extração, e não como resultado direto da vaporização do VEA. Por exemplo, observamos que o padrão analítico de DHQ se converteu amplamente em DQ quando diluído em acetonitrila. Uma segunda limitação é a ausência de dados de toxicidade para os degradantes identificados que os vinculariam ao EVALI. Até o momento, estudos empíricos em camundongos e em células das vias aéreas humanas mostraram que o VEA aerossolizado produz toxicidade pulmonar, mas o grau em que VEA e seus degradantes especificamente e/ou outras (ainda) substâncias não identificadas contribuem para a patologia pulmonar observada ou para sintomatologia EVALI é incerta. Pesquisas adicionais são necessárias para caracterizar melhor as sequelas pulmonares de EVALI⁽²³⁾.

Usando um fumante linear Borgwaldt 5.1, um vaporizador eletrônico SVS250 e dois tipos de sistemas de tanques, o VEA foi analisado para produtos de degradação produzidos por meio do método 81 do Centro de Cooperação para Pesquisa Científica Relativa ao Tabaco quando o filtro contendo VEA vaporizado foi extraído usando acetonitrila. Dois dos principais produtos identificados foram 2,3,5,6-tetrametil-1,4-benzoquinona e 2,6,10,14-tetrametil-1-pentadeceno, que foram confirmados usando análise analítica padrões e cromatografia gasosa–espectrometria de massa de alta resolução (GC–HRMS). Síntese adicional de 4-acetoxi-2,3,5,6-tetrametil-2,4-ciclohexadienona e subsequente caracterização usando ressonância magnética nuclear e GC-HRMS sugeriram que este não é um dos produtos produzidos. A identificação desses degradantes permitirá que estudos futuros quantifiquem e examinem os degradantes *in vivo* e *in vitro* como biomarcadores para avaliação de exposição e toxicidade⁽²³⁾.

Os estudos aqui apresentados suportam evidências de que a exposição a aerossóis pré-natais de E-cig, especialmente aqueles que contêm nicotina, pode

ter um efeito deletério no desenvolvimento pulmonar fetal e neonatal e na saúde respiratória. Utilizando uma abordagem em três frentes, fomos capazes de identificar alterações induzidas por aerossol e-cig no pulmão em desenvolvimento nos níveis molecular, anatômico e funcional. Atingimos os objetivos deste estudo examinando alterações genômicas no transcriptoma do pulmão fetal, medindo alterações morfológicas no pulmão neonatal e avaliando a mecânica pulmonar neonatal em descendentes expostos a vaping de aerossol de e-cig gestacional com e sem nicotina. As alterações relatadas na presente investigação indicam que o consumo humano de e-cigs durante a gravidez pode ter efeitos prejudiciais na saúde respiratória infantil que podem persistir na vida adulta. Este estudo também exemplifica a necessidade de implementação de políticas de saúde pública e regulamentação de e-cigs no contexto da gravidez. Mais pesquisas são necessárias para delinear os mecanismos moleculares dos déficits pulmonares induzidos por aerossóis de e-cig e para identificar alvos terapêuticos para ajudar indivíduos expostos a aerossóis de e-cig durante a gravidez⁽²⁴⁾.

Várias patologias cardiopulmonares associadas ao vaping de cigarro eletrônico (EC) foram relatadas. Este estudo investigou os efeitos adversos diferenciais dos subprodutos associados ao aquecimento versus os componentes intactos do aerossol EC nos pulmões e coração de camundongos. Dissecamos ainda os papéis do domínio de recrutamento de caspase contendo a resposta imune inata associada à proteína 9 (CARD9) e o domínio de pirina da família de receptores semelhantes a NOD contendo o inflamassoma 3 (NLRP3) na lesão cardiopulmonar induzida pela exposição a EC. Camundongos C57BL/6 tipo selvagem (WT), CARD9 e NLRP3 foram expostos a aerossol EC 3 h/dia, 5 dias/semana durante 6 meses com ou sem aquecimento do e-líquido com exposição ao ar ambiente como controle. Em camundongos WT, a exposição à EC com aquecimento (EwH) aumentou significativamente a espessura da parede livre do ventrículo direito (RV) na sístole e na diástole. No entanto, a exposição ao CE sem aquecimento (EwoH) causou uma diminuição significativa na espessura da parede na sístole. A fração de encurtamento do VD também foi marcadamente reduzida após EwH em camundongos WT e NLRP3. Além disso, EwH ativou a sinalização inflamatória de NF - κB e p38 MAPK nos pulmões, mas

não no VD, de maneira dependente de CARD9 e NLRP3. Os níveis de mediadores inflamatórios circulatórios também foram elevados após EwH, indicando inflamação sistêmica. Além disso, EwH ativou a sinalização de fibrose TGF-β1/SMAD2/3/α-SMA nos pulmões, mas não no RV de camundongos WT. Em conclusão, a exposição ao aerossol EC após EwH ou EwH induziu remodelamento cardiopulmonar diferencial e resposta imune inata CARD9 e inflamassoma NLRP3 contribuíram para os efeitos adversos⁽²⁵⁾.

O estudo atual demonstrou que a exposição crônica ao aerossol EC após EwH induziu inflamação pulmonar e sistêmica, alterou a sinalização de autofagia do VD e causou remodelação adversa do padrão de fluxo do VD, VE e PA. EwH, no entanto, induziu atrofia do VD e ativou resposta pró-fibrótica nos pulmões. A resposta imune inata CARD9 e o inflamassoma NLRP3 contribuíram para esses efeitos adversos. Portanto, potenciais intervenções terapêuticas visando a resposta imune inata CARD9 e o inflamassoma NLRP3 podem ser úteis para reduzir os efeitos adversos à saúde relacionados ao vaping de CE. Finalmente, embora se acredite ser mais seguro do que fumar cigarros tradicionais, o CE vaping, aquecido ou não, sejam os subprodutos associados ao aquecimento ou os componentes intactos do aerossol, são prejudiciais à saúde humana⁽²⁵⁾.

Medimos a dilatação mediada pelo fluxo arterial (FMD) em ratos (n = 8/grupo) expostos a uma única sessão de 10 ciclos de exposição pulsátil de 5 segundos durante 5 minutos a aerossol de e-líquidos com e sem nicotina gerado a partir de um USONICIG ultrassônico dispositivo vaping, cigarros eletrônicos de geração anterior, cápsulas JUUL de 5% de nicotina (Virginia Tobacco, Mango, Menthol) e um produto de tabaco aquecido IQOS; com fumaça de cigarro Marlboro Red e ar limpo como controles. Avaliamos a absorção de nicotina e os níveis séricos de óxido nítrico após a exposição, e os efeitos de diferentes acidificantes da nicotina na agregação plaquetária. Aerossol/fumaça de todas as condições, exceto ar, prejudicou significativamente a febre aftosa. A nicotina sérica variou amplamente, do mais alto no grupo IQOS ao mais baixo no USONICIG e nos grupos de e-cig da geração anterior. Os níveis de óxido nítrico não foram afetados pela exposição. A exposição a JUUL e líquidos eletrônicos de sal de nicotina acidificados de forma semelhante não afetou a taxa de

agregação plaquetária. Apesar da falta de bobina de aquecimento, o USONICIG sob condições de fluxo de ar aqueceu o e-líquido a ~ 77°C. Uma ampla gama de ENDS, incluindo vários tipos de cigarros eletrônicos com e sem nicotina, um produto de tabaco aquecido e um dispositivo vaping ultrassônico sem bobina de aquecimento, prejudicam a FMD após uma única sessão de vaping de forma comparável aos cigarros queimados. Concluímos que uma vasta gama de ENDS, incluindo vários tipos de e-cigarros com e sem nicotina, um aquecedor produto de tabaco e um dispositivo de vaping ultrassônico sem bobina de aquecimento, prejudicam a febre aftosa após uma única sessão de vaping de forma comparável a cigarros queimados⁽²⁶⁾.

Primeiro desenvolvemos um modelo pré-clínico que imita os padrões de uso humano de cigarros eletrônicos usando regimes de exposição de 1 tragada/min ou 4 tragadas/min. Com base nos níveis de cotinina, essas exposições foram representativas de usuários leves/ocasionais e moderados de JUUL. Em seguida, expusemos camundongos C57BL/6 a aerossóis de cigarro eletrônico JUUL nos sabores manga, menta e tabaco virgínia contendo 5% de nicotina por 3 dias e avaliamos a resposta inflamatória e ao estresse oxidativo nos pulmões e no sangue. Em resposta ao regime de 1 sopro/min (usuário leve/ocasional), houve alterações mínimas na composição das células BAL ou na expressão do mRNA do pulmão. No entanto, a 4 puffs/min (usuário moderado), JUUL com sabor de menta aumentou significativamente os neutrófilos pulmonares, enquanto JUUL com sabor de manga aumentou significativamente TNF α e IL13 mRNA nos pulmões. Ambos os regimes de 1 e 4 puffs/min aumentaram significativamente os marcadores de estresse oxidativo no sangue, indicando efeitos sistêmicos. Assim, os produtos JUUL não são inertes; mesmo a inalação de curto prazo de aerossóis de cigarro eletrônico JUUL com sabor causa diferencialmente modulação imunológica e respostas ao estresse oxidativo. Mostramos que os aerossóis JUUL não são inertes e provocam respostas inflamatórias e oxidativas. Os aromas usados em produtos JUUL disponíveis comercialmente afetam exclusivamente a regulação transcricional de importantes genes inflamatórios e alteram as respostas ao estresse oxidativo sistêmico. Como os cigarros eletrônicos estão ganhando aceitação rapidamente como ferramentas para parar de fumar, também é usado entre os que nunca

fumaram. Essas descobertas destacam a necessidade de mais estudos sobre os efeitos do uso de cigarros eletrônicos⁽²⁷⁾.

Recentemente, foi demonstrado que a inalação de aditivos vaping prejudica a função respiratória, levando ao uso de cigarros eletrônicos ou produtos vaping associados a lesões pulmonares. Este trabalho foi concebido para compreender o impacto dos aditivos (vitamina E, acetato de vitamina E, tetrahidrocannabinol e canabidiol) em surfactantes pulmonares. Monofilmes lipídicos na interface ar-água e microscopia de ângulo de Brewster foram usados para avaliar o impacto de aditivos vaping em filmes modelo de surfactante pulmonar. Esta gama de efeitos prejudiciais pode afetar a função pulmonar adequada. O uso crescente de produtos vaping em adultos jovens e o surgimento de lesões pulmonares associadas resultaram em preocupações de saúde significativas para profissionais de saúde e para o público em geral. Esses efeitos prejudiciais foram associados a aditivos como vitamina E e canabinóides. O pulmão profundo é composto de muitos compartimentos pequenos, onde o oxigênio é absorvido pelo corpo. A barreira final entre a fase gasosa externa e as células pulmonares é uma camada composta principalmente de lipídios e algumas proteínas, o surfactante pulmonar. Os autores apresentam dados para modelos de surfactante pulmonar com base na composição do surfactante pulmonar humano. Os componentes selecionados refletem as principais funções do surfactante pulmonar, estabilidade na expiração e rápida disseminação após a inalação. Recentemente, foi demonstrado que os aditivos prejudicam a função respiratória, levando a lesões pulmonares associadas ao uso de cigarros eletrônicos ou produtos vaping. Este trabalho foi concebido para compreender o impacto dos aditivos (vitamina E, acetato de vitamina E, tetrahidrocannabinol e canabidiol) em surfactantes pulmonares. Todos os aditivos testados, e mais ainda suas misturas, afetaram claramente o modelo de surfactante pulmonar em termos de estabilidade e elasticidade, o que prejudica sua capacidade de desempenhar as funções mencionadas. Monofilmes lipídicos na interface ar-água e microscopia de ângulo de Brewster foram usados para avaliar o impacto de aditivos vaping em filmes de surfactante pulmonar. A adição de 5 mol% de aditivos vaping, e ainda mais misturas de vitaminas e canabinóides, impacta negativamente o empacotamento lipídico e a estabilidade do filme, induz a perda

de material durante o ciclo e reduz significativamente os domínios lipídicos funcionalmente relevantes. Esta gama de efeitos prejudiciais pode afetar a função pulmonar adequada⁽²⁸⁾.

Camundongos fêmeas C57BL/6 com seis a oito semanas de idade foram adquiridos da Envigo. Após 2 dias para permitir que os camundongos se equilibrassem com seu ambiente, todos os camundongos foram colocados em um compartimento grande para permitir a mistura do microbioma por uma hora. Camundongos foram colocados três por gaiola e cada gaiola foi aleatoriamente designada para o tipo de exposição (≥ 2 gaiolas por exposição). Os camundongos foram colocados em seções individuais de uma câmara de exposição de corpo inteiro (Scireq) por 20 minutos, três vezes ao dia, em um total de 60 minutos por dia, durante 4 a 12 semanas. Os camundongos foram expostos a um aerossol de cigarro eletrônico criado a partir de cápsulas Mango JUUL ou cápsulas Mint JUUL contendo 5% de sais nicotínicos (59 mg/ml) usando o sistema InExpose (Scireq). Camundongos de controle de ar foram colocados em uma câmara idêntica pela mesma quantidade de tempo, mas inalaram apenas o ar ambiente. Um adaptador impresso em 3-D foi criado para produzir um ajuste perfeito para o dispositivo JUUL. Uma pressão negativa de 2 L/s foi usada para ativar o cigarro eletrônico por 4 s seguido de 16 s de ar ambiente a 2 L/s. A exposição final foi feita 30 minutos antes da colheita⁽²⁹⁾.

Embora os efeitos do tabaco convencional na saúde sejam bem definidos, os dados sobre dispositivos vaping, incluindo um dos cigarros eletrônicos mais populares que possuem altos níveis de nicotina, são menos estabelecidos. Estudos anteriores de cigarros eletrônicos agudos demonstraram alterações inflamatórias e da fisiologia cardiopulmonar, enquanto estudos crônicos demonstraram efeitos extrapulmonares, incluindo alterações de neurotransmissores nas vias de recompensa. Neste estudo, investigamos o impacto da inalação de aerossóis produzidos a partir de aerossóis de cigarros eletrônicos com sabor (JUUL) três vezes ao dia durante 3 meses em marcadores inflamatórios no cérebro, pulmão, coração e cólon. A exposição ao aerossol JUUL induziu a regulação positiva da expressão gênica de citocinas e quimiocinas e aumentou HMGB1 e RAGE no núcleo accumbens no sistema

nervoso central. A expressão gênica inflamatória aumentou no cólon, enquanto a expressão gênica foi mais amplamente alterada pela inalação de aerossol de cigarro eletrônico no pulmão. As respostas inflamatórias cardiopulmonares à lesão pulmonar aguda com lipopolissacárido foram exacerbadas no coração. Descobertas específicas de sabor foram detectadas nesses estudos. Nossos achados sugerem que o uso diário de cigarro eletrônico pode causar neuroinflamação, o que pode contribuir para mudanças comportamentais e transtornos de humor. Além disso, o uso de cigarros eletrônicos pode causar inflamação intestinal, que tem sido associada a problemas de saúde sistêmica, e inflamação cardíaca, que leva a doenças cardiovasculares⁽²⁹⁾.

Os ovários de ratas com 21 e 35 dias de idade foram divididos em três grupos: controle (sem intervenção), 0,05 mg e 0,5 mg (e-líquidos contendo 0,5 mg e 5 mg de nicotina/kg). As taxas foram cultivadas por três horas in vitro. Ao final da cultura, foi realizada a coloração HE para observar a morfologia do folículo e calcular a porcentagem de folículos normais, e a expressão da proteína associada ao Yes (YAP, fatores-alvo da via de sinalização Hippo) e CYP19 (aromatase, uma enzima chave na síntese de estrogênio) foram observados por imuno-histoquímica. Western blotting foi realizado para detectar os níveis de expressão de CYP19, YAP, YAP fosforilado (PYAP), grande supressor de tumor 2 (LATS2, fatores a montante de YAP na via de sinalização Hippo) e LATS2 fosforilado (PLATS2). As concentrações de estrogênio foram determinadas usando ELISA. A coloração HE mostrou que a porcentagem de folículos normais diminuiu e a imuno-histoquímica mostrou que a expressão de CYP19 e YAP diminuiu significativamente após a intervenção com e-líquido. O ELISA mostrou que a concentração de estrogênio nos ovários diminuiu após a intervenção com e-líquido. Os resultados do Western blot indicaram que a expressão de CYP19, LATS2 e YAP diminuiu após a intervenção com e-líquido, mas a expressão de PLATS2 e PYAP aumentou⁽³⁰⁾.

Observações morfológicas por coloração de hematoxilina e eosina mostraram que a morfologia dos folículos em ovários de ratos com 21 e 35 dias de idade mudou significativamente após a intervenção com e-líquido, e a porcentagem de folículos normais diminuiu, enquanto a picnose nuclear do GC aumentou. Os

resultados indicam que os e-líquidos podem interromper o desenvolvimento normal dos folículos em ovários de ratos com 21 e 35 dias de idade, induzindo picnose nuclear em GCs. Estudos anteriores também descobriram que a nicotina, um dos constituintes do e-líquido, pode causar dano ovariano e apoptose das células da granulosa, e que o e-líquido pode causar dano oxidativo e citotoxicidade. Os resultados da imuno-histoquímica mostraram que o YAP nos ovários de ratos com 21 e 35 dias de idade, predominantemente em GCs foliculares, pareceu diminuir após a intervenção com e-líquido. YAP, um fator importante na via de sinalização Hippo, funciona principalmente entrando no núcleo para se ligar ao TEAD, ativando a função transcrecional e promovendo o crescimento celular e tecidual. Assim, os e-líquidos inibiram significativamente o YAP em GCs foliculares de ratos, indicando um efeito regulador negativo dos e-líquidos no crescimento folicular⁽³⁰⁾.

As células NHBE primárias foram fornecidas pelo Nationwide Children's Hospital, Columbus OH. As células foram isoladas dos tecidos doadores dados ao Núcleo de Células Epiteliais. Os doadores foram três não fumantes e um com status de fumante desconhecido. Resumidamente, as células NHBE primárias da passagem 1 foram semeadas em colágeno tipo IV (0,3 mg/mL; Sigma Aldrich, Saint Louis MO) Corning™ Transwells revestidos (Fisher Scientific) cultivados na interface ar-líquido (ALI) com meio PneumaCult™ ALI (StemCell Technologies Inc., Tukwila WA). O meio foi trocado três vezes por semana e as células foram mantidas a 37°C com 5% de CO₂. As células foram utilizadas após 4 semanas no ALI, uma vez totalmente diferenciadas com a presença de células ciliadas, conforme publicado anteriormente⁽³¹⁾.

Observamos uma forte regulação diferencial da expressão gênica de uma exposição aguda a preparações de cigarro (WS-CM), mas não a preparações de ENDS (ACM), sugerindo uma resposta diferencial e mecanismos de defesa em relação a vários produtos de tabaco. Várias vias foram reguladas por WS-CM, incluindo via geral do câncer, estresse oxidativo, metabolismo xenobiótico e função mucociliar. Várias alterações de expressão gênica relacionadas à depuração mucociliar apoiaram fortemente alterações fisiológicas (diminuição da atividade dos canais iônicos CFTR e ENaC por WS-CM) que havíamos

observado anteriormente em outra investigação. O uso de células NHBE primárias totalmente diferenciadas para medir as mudanças na expressão gênica tem muitas vantagens, pois podemos usar vários doadores (quatro doadores) e obter um modelo fisiológico relevante para estudar os efeitos dos produtos do tabaco⁽³¹⁾.

Aproximadamente 7% das mulheres grávidas nos Estados Unidos usam dispositivos de cigarro eletrônico (e-cig) durante a gravidez. Não há, no entanto, nenhuma evidência científica para apoiar o uso de e-cig como sendo 'seguro' durante a gravidez. Pouco se sabe sobre os efeitos da exposição fetal a aerossóis de e-cig na alveologênese pulmonar. No presente estudo, testamos a hipótese de que a exposição in útero ao aerossol de e-cig prejudica a alveologênese pulmonar e a função pulmonar em neonatos. Ratas grávidas BALB/c foram expostas 2 ha por dia durante 20 dias consecutivos durante a gestação a ar filtrado ou aerossol de e-cig com sabor de canela (36 mg/mL de nicotina). O tecido pulmonar foi coletado na prole durante a alveologênese pulmonar no dia pós-natal (PND) 5 e PND11. A função pulmonar foi medida em PND11. A exposição ao aerossol de e-cig in utero levou a uma diminuição significativa nos pesos corporais ao nascer, que foi mantida até o PND5. No PND5, as exposições in utero de e-cig desregularam genes relacionados à sinalização WNT e modificações epigenéticas em mulheres (~ 120 genes) e homens (40 genes). Essas alterações foram acompanhadas por redução do conteúdo de colágeno fibrilar pulmonar no PND5 - um ponto no tempo em que o conteúdo de colágeno está próximo de seu pico para suportar a formação de alvéolos. A exposição in utero ao aerossol de e-cig também aumentou a resistência newtoniana da prole em PND11, sugerindo um estreitamento das vias aéreas condutoras. No PND11, em mulheres, a desregulação transcriptômica associada a alterações epigenéticas foi mantida (17 genes), enquanto a desregulação da sinalização WNT foi amplamente resolvida (10 genes). Nos machos, no PND11, a expressão de apenas 4 genes associados à epigenética foi desregulada, enquanto 16 genes WNT relacionados foram alterados. Esses dados demonstram que as exposições in utero a aerossóis de e-cig com sabor de canela alteram a estrutura e a função pulmonar e induzem assinaturas moleculares específicas do sexo durante a alveologênese pulmonar

em camundongos recém-nascidos. Isso pode refletir a programação epigenética que afeta o desenvolvimento da doença pulmonar mais tarde na vida⁽³²⁾.

Esses dados experimentais sugerem fortemente que o uso materno de e-cig afeta negativamente o feto e, portanto, impede a maturação dos recém-nascidos, especificamente por retardar e/ou prejudicar o desenvolvimento pós-natal do sistema respiratório. As assinaturas moleculares e a função pulmonar alterada induzidas por exposições in utero de e-cig ao aerossol podem servir como marcadores potenciais de desenvolvimento pulmonar prejudicado em descendentes expostos. Investigar os padrões epigenéticos nos pulmões modificados por exposições in utero de e-cig pode ajudar a entender melhor o potencial desenvolvimento de doenças pulmonares associadas e medidas preventivas relacionadas. Além disso, o presente estudo indica que os cigarros eletrônicos não devem ser vistos como uma “alternativa segura” ao tabagismo, especialmente para populações de alto risco, como gestantes e seus fetos. Mais pesquisas são necessárias para revelar efeitos de saúde a longo prazo e possível aumento da suscetibilidade a doenças causadas por exposições in utero a cigarros eletrônicos⁽³²⁾.

Recentemente, relatamos um modelo de camundongo com patologia cardiovascular induzida por exposição crônica ao cigarro eletrônico (e-cig), em que a exposição a longo prazo ao e-cig vape (ECV) induz anormalidades cardíacas, comprometimento da função endotelial e hipertensão sistêmica. Aqui, delineamos os mecanismos subjacentes da disfunção endotelial vascular (VED) induzida por ECV, um gatilho central da doença cardiovascular. Camundongos machos C57/BL6 foram expostos a ECV gerado a partir de líquido e-cig contendo 0, 6 ou 24 mg/mL de nicotina por 16 e 60 semanas. Elevação dependente do tempo na pressão arterial e resistência vascular sistêmica foram observadas, juntamente com um comprometimento do relaxamento aórtico induzido pela acetilcolina em camundongos expostos ao ECV, em comparação com o controle exposto ao ar. Foram observados níveis diminuídos de óxido nítrico (NO) intravascular e aumento da geração de superóxido com níveis elevados de 3-nitrotirosina na aorta de camundongos expostos a ECV, indicando que o superóxido induzido por ECV reage com NO para gerar peroxinitrito citotóxico⁽³³⁾.

A exposição aumentou a expressão da NADPH oxidase, apoiando seu papel na geração de superóxido induzida por ECV. A regulação negativa da expressão da sintase do óxido nítrico endotelial (eNOS) e da fosforilação da eNOS dependente de AKT ocorreu na aorta de camundongos expostos ao ECV, indicando que a exposição inibiu a síntese de NO de novo. Após a exposição ao ECV, o cofator crítico da NOS tetrahidrobiopterina diminuiu, com perda concomitante de sua enzima de resgate, diidrofolato redutase. Os inibidores de NADPH oxidase e NOS anularam a geração de superóxido induzida por ECV na aorta de camundongos expostos a ECV. Juntos, nossos dados demonstram que a exposição ao ECV ativa a NADPH oxidase e desacopla a eNOS, causando um ciclo vicioso de geração de superóxido e estresse oxidante vascular que desencadeia VED e hipertensão com predisposição a outras doenças cardiovasculares. Os mecanismos subjacentes da disfunção endotelial vascular induzida por e-cig são delineados. A exposição ao e-cig ativa e aumenta a expressão da NADPH oxidase e interrompe a ativação e o acoplamento da eNOS, levando a um ciclo vicioso de geração de superóxido e formação de peroxinitrito, com depleção de tetrahidrobiopterina, causando perda de NO que desencadeia disfunção endotelial vascular. Esse processo é progressivo, aumentando com a duração da exposição ao cigarro eletrônico e é mais grave na presença de nicotina, mas observado mesmo com vaping sem nicotina⁽³³⁾.

Os aditivos de sabor de éster etílico são usados em e-líquidos para produzir um sabor cítrico. Embora esses compostos sejam considerados seguros como aditivos de sabor, isso se aplica apenas ao consumo oral e não às operações de vaporização, onde podem se decompor em compostos potencialmente prejudiciais, incluindo ácidos carboxílicos. Espera-se que a decomposição posterior desses ácidos carboxílicos produza ceteno, que é um forte veneno respiratório que pode causar danos pulmonares fatais em baixas concentrações. Este estudo desenvolve um modelo cinético da decomposição térmica de aditivos de sabor éster etílico e simula a decomposição desses compostos sob condições de vaping. Esses resultados mostram que, em condições normais de operação, é improvável que qualquer composto nocivo esteja presente no pulmão. No entanto, em temperaturas operacionais mais altas, existe a possibilidade de ácido acético e butanóico estarem presentes nos pulmões em

concentrações que causam irritação e onde a exposição repetida pode levar à bronquite. Em condições operacionais mais extremas, é possível que níveis nocivos de ceteno sejam produzidos de modo que possam causar efeitos fatais ou severamente prejudiciais após exposição repetida. Essas altas temperaturas podem ser alcançadas em condições de operação “secas” que surgem como resultado de uso impróprio, particularmente em cigarros eletrônicos modificados pelo usuário⁽³⁴⁾.

Este estudo revelou que os aditivos de éster etílico devem se decompor em concentrações nocivas de produtos em temperaturas operacionais de vaporização de mais de 600 °C. No entanto, essas temperaturas não são vistas rotineiramente em condições normais de operação. É provável que os usuários operem predominantemente seus cigarros eletrônicos em condições “úmidas através do pavio”, onde há e-líquido suficiente no tanque de armazenamento para saturar o pavio com e-líquido. Nessas condições, espera-se que as temperaturas de operação do vaping atinjam cerca de 145 a 334°C, o que não é suficiente para que o acetato de etila e o butirato de etila comecem a se decompor. É provável que o usuário apenas inale vapor de éster etílico em condições normais de operação. No entanto, é possível que as temperaturas de operação do vaping atinjam temperaturas adequadas para sua decomposição em condições “secas”. Nessas condições, resta uma quantidade mínima de e-líquido no tanque de armazenamento com o pavio quase seco. Verificou-se que as temperaturas operacionais de vaporização atingem mais de 1000 °C nessas condições, o que é suficiente para a produção de ceteno. No entanto, isso representa um cenário extremo e é provável que ocorra apenas devido ao uso incorreto ou inexperiência. Além disso, é relativamente comum que os usuários façam modificações em seus cigarros eletrônicos, o que pode afetar as temperaturas de operação. Essas modificações envolvem alterações nos componentes do cigarro eletrônico, como sensores, baterias e mecanismos geradores de aerossóis para alterar a experiência do vaping. Pode ser possível que algumas dessas modificações permitam que o usuário alcance essas temperaturas de decomposição do sabor do éster etílico, fazendo com que produtos nocivos entrem em seus pulmões⁽³⁴⁾.

Vinte e quatro ratos machos adultos foram treinados na tarefa de desconto de atraso para escolher entre pequenas recompensas alimentares imediatas e grandes recompensas alimentares atrasadas. Após 24 dias de treinamento na tarefa, os ratos foram expostos a vapor contendo 0, 12 ou 24 mg/mL de nicotina por 10 dias. Para validar a inalação de vapor de nicotina, os níveis séricos de cotinina foram analisados nos dias de exposição 1, 5 e 10 usando ensaio de imunoabsorção enzimática. Após a exposição ao vapor, os ratos foram retreinados na tarefa de desconto até que os ratos apresentassem uma resposta estável e os efeitos do vapor de nicotina na preferência de escolha fossem avaliados⁽³⁵⁾.

Ratos expostos a 12 e 24 mg/mL de vapor de nicotina exibiram níveis séricos de cotinina mais altos do que ratos de controle expostos a 0 mg/mL de vapor. Não houve diferenças na escolha impulsiva entre quaisquer grupos de exposição ao vapor quando testados 15 dias após a exposição, em 6 dias de resposta estável, sugerindo que o vapor de nicotina não tem efeitos duradouros na escolha impulsiva. Curiosamente, um desafio de vapor de nicotina subsequente revelou aumentos de curto prazo na escolha impulsiva imediatamente após uma única exposição a 24 mg/mL de vapor de nicotina, em relação à preferência de escolha imediatamente após a exposição a 0 mg/mL de vapor⁽³⁵⁾.

Esses resultados sugerem que a exposição ao vapor de nicotina causa aumentos imediatos e de curto prazo na escolha impulsiva. O uso de cigarros eletrônicos está aumentando em um ritmo alarmante, principalmente entre adolescentes e adultos jovens. Isso é preocupante, dada a falta de pesquisas sobre os efeitos da exposição ao vapor de nicotina no cérebro e no comportamento. O presente estudo descreve um modelo de roedor viável de uso de cigarro eletrônico humano e sugere que a exposição ao vapor de nicotina produz aumentos de curto prazo na escolha impulsiva⁽³⁵⁾.

O e-cig foi inicialmente desenvolvido como uma alternativa ao cigarro convencional, embora não haja dados suficientes para avaliar sua segurança a longo prazo para a saúde humana. Neste contexto, o nosso estudo foi implementado com o objetivo de comparar o potencial genotóxico e mutagênico

in vivo de dois e-cigs de baixa e alta potência e do cigarro tradicional, após subaguda (4 dias), subcrônica (3 meses) e crônica (6 meses) exposição. Para estar o mais próximo possível das condições de exposição humana, os animais foram expostos a doses realistas de e-cig e emissões de cigarro (ou seja, perfil de sopro intenso da Health Canada) por via pulmonar (somente nariz). Nestas condições experimentais, o principal resultado do nosso estudo é que tanto o 3R4F quanto o Mb30W induzem dano oxidativo ao DNA no pulmão e no fígado, demonstrando que o e-cig de alta potência deve ser considerado um “material perigoso” como o cigarro tradicional, enquanto o e-cig na configuração de baixa potência parece ser desprovida de efeito genotóxico in vivo. Essas diferenças nos resultados entre Mb18W e Mb30W são provavelmente atribuídas a menores concentrações de substâncias tóxicas (principalmente compostos carbonílicos) em aerossóis de e-cig de baixa potência, conforme descrito anteriormente. Além disso, micronúcleos e mutação do gene Pig-a não foram detectados em reticulócitos. Isso sugere que nossas condições experimentais, embora realistas, podem não ser suficientes para atingir um nível de exposição na medula óssea e no sangue para induzir uma resposta positiva. Isso também levanta a questão da sensibilidade desses dois testes em outros órgãos além do órgão-alvo (aqui o pulmão). É importante sublinhar a originalidade do nosso trabalho que se baseia num estudo completo do potencial genotóxico/mutagênico in vivo do e-cig. Finalmente, nosso trabalho poderia ser concluído avaliando as mutações genéticas nos órgãos-alvo (ou seja, fígado e pulmão) usando o ensaio de mutação de roedores transgênicos. Também seria interessante estudar outros endpoints não genotóxicos envolvidos na potencial carcinogênese do e-cig, como alterações epigenéticas. Todos esses dados podem levar a uma melhor regulamentação dessas novas alternativas aos cigarros convencionais⁽³⁶⁾.

Usando os métodos GC/EI-MS e LC/ESI-QTOFMS, este estudo caracterizou 14 carbonilas e níveis de sete carbonilas-alvo em emissões de vaping de e-líquidos com e sem sabor. Os carbonilos identificados são formaldeído, acetaldeído, acetona, propionaldeído, acroleína, butiraldeído, glioxal, metilglioxal, dimetilglioxal, n- butanal, 3 -metil-2-butenal, trans-2-metil-2-butenal, 2-metil-2-pentenal, trans-2-hexenal e benzaldeído. Este estudo demonstrou a formação de carbonilas tóxicas comumente relatadas (por exemplo, formaldeído,

acetaldeído, acetona, propionaldeído e gioxal) e carbonilas únicas associadas à transformação de produtos químicos aromatizantes durante o vaping (por exemplo, trans-2-hexenal e benzaldeído). Adutos de formaldeído-GSH e trans-2-hexenal-GSH formados por meio de reações de adição 1,2- additon e/ou 1,4-conjugada entre carbonilas e GSH destacaram as espécies de carbonilas reativas associadas ao vaping como uma fonte externa de toxicidade. Os índices globais de eletrofilicidade mostram benzaldeído, acroleína e trans-2-hexenal como os mais reativos entre as carbonilas selecionadas, enquanto o parâmetro de reatividade local suporta que Ccarbonila de carbonilas simples e Ccarbonila e carbonilas insaturadas são mais favoráveis para nucleofílicas. ataques. Uma grande variedade de compostos carbonílicos foi detectada nas emissões de vaping, mas apenas alguns foram relatados. Esses carbonilos emitidos podem representar riscos potenciais à saúde após a inalação, dependendo de sua abundância nas emissões de vaping, bem como sua reatividade química. Mais estudos são necessários para traçar um perfil abrangente dos produtos de emissão de produtos químicos aromatizantes para obter uma melhor compreensão dos possíveis efeitos à saúde associados ao vaping⁽³⁷⁾.

E-cigarette aerosol mixtures (Ecig-AMs) foram preparados borbulhando aerossol através de phosphate buffered saline (PBS). mesenchymal stem cells (MSCs) de origem humana ou macrófagos derivados de murino foram semeados em superfícies de Titânio (Ti) lisas, ásperas-hidrofóbicas ou ásperas-hidrófilas em meios suplementados com Ecig - AM. Nos macrófagos, a expressão de marcadores inflamatórios foi medida por PCR e o imunofenótipo macrófago caracterizado por citometria de fluxo após 24 horas de exposição. Nas MSCs, a expressão de marcadores osteogênicos e citocinas inflamatórias foi medida por PCR e ELISA, enquanto a atividade da fosfatase alcalina (ALP) foi determinada por ensaio colorimétrico. Ecig -AM polarizou macrófagos primários em um estado pró-inflamatório com maior efeito sobre ecig -AM com aromatizantes e nicotina. A atividade metabólica das MSCs diminuiu de forma dependente da concentração e foi mais forte em Ecig - AM contendo nicotina. As MSCs reduziram a expressão de marcadores osteogênicos em resposta ao Ecig - AM, mas aumentaram a secreção de RANKL, particularmente nas concentrações mais altas de Ecig -AM. O efeito da exposição ao Ecig -AM foi diminuído quando

macrófagos ou MSCs foram cultivados em substratos hidrofílicos ásperos. Ecig-AM ativou macrófagos em um fenótipo pró-inflamatório e dificultou a diferenciação de MSC para osteoblastos em resposta às superfícies de implantes de Titânio (Ti). Esses efeitos foram potencializados por aromatizantes e nicotina, sugerindo que o uso de cigarro eletrônico pode comprometer a osseointegração dos implantes dentários⁽³⁸⁾.

O tabagismo aumenta o risco de distúrbios metabólicos devido à combinação de substâncias químicas nocivas, enquanto a nicotina pura pode melhorar a tolerância à glicose. O vapor do cigarro eletrônico contém nicotina e alguns dos produtos químicos nocivos encontrados na fumaça do cigarro em níveis mais baixos. Para investigar como o e- vapor afeta os perfis metabólicos, camundongos machos Balb /c foram expostos a uma dieta rica em gordura (HFD, 43% de gordura, 20 kJ/g) por 16 semanas e e- vapor nas últimas 6 semanas. A high-fat diet (HFD) sozinha dobrou a massa gorda e causou dislipidemia e intolerância à glicose. O E-vapor reduziu a massa gorda em camundongos alimentados com HFD; apenas o e- vapor contendo nicotina melhorou a tolerância à glicose. Em camundongos alimentados com ração, o e- vapor aumentou o teor de lipídios no sangue e no fígado. Alterações nos marcadores metabólicos hepáticos podem ser respostas adaptativas e não causais. Estudos futuros podem investigar como o e- vapor afeta diferencialmente os perfis metabólicos com diferentes dietas. Neste estudo, a exposição ao e- vapor reduziu a massa gorda em camundongos alimentados com ração e HFD, mas mostrou um efeito diferencial no perfil lipídico com diferentes dietas. Em camundongos alimentados com uma dieta balanceada, tende a aumentar os níveis de lipídios no sangue e no fígado. No entanto, em camundongos alimentados com uma dieta rica em lipídios e carboidratos simples, ela tende a reduzir os triglicerídeos, mas aumenta os níveis de non-esterified fatty acids (NEFA) no sangue. Além disso, a inalação de nicotina em baixas doses parece beneficiar a tolerância à glicose em camundongos alimentados com HFD; no entanto, isso não deve ser traduzido para humanos que têm mais fatores de confusão no estilo de vida do que animais de laboratório⁽³⁹⁾.

Efeito do aerossol de cigarros eletrônicos durante a lactação no volume e composição do leite⁽⁴⁰⁾

No leite, a exposição ao aerossol do cigarro eletrônico durante a lactação reduziu significativamente o teor de gordura do leite (- 11%, $P < 0,0001$). O teor de proteína e o volume do leite apresentaram aumentos substanciais (16% e 19%, respectivamente), mas nenhum aumento foi estatisticamente significativo. O teor de lactose do leite não foi afetado pela exposição ao aerossol dos cigarros eletrônicos⁽⁴⁰⁾.

Efeito da exposição ao aerossol de cigarros eletrônicos durante a lactação sobre os hormônios⁽⁴⁰⁾

Os níveis de glicose e insulina nas mães não foram afetados pela exposição ao aerossol de cigarros eletrônicos. No entanto, filhotes cujas mães foram expostas ao aerossol de cigarros eletrônicos durante a lactação apresentaram aumento do nível de glicose (+15%, $P < 0,01$) e redução do nível de insulina (- 29%, $P < 0,01$) em comparação aos filhotes controle. As mães, mas não os filhotes, que foram expostos ao aerossol de cigarros eletrônicos durante a lactação mostraram um nível significativamente menor de leptina (- 72%, $P < 0,005$) em comparação com as mães controle. Filhotes de mães que foram expostos ao aerossol de cigarros eletrônicos mostraram um nível significativamente mais alto de T4 (+20%, $P < 0,02$) em comparação com filhotes de controle. Outros marcadores medidos como corticosterona, adiponectina e T3 não foram alterados pela exposição ao aerossol dos cigarros eletrônicos⁽⁴⁰⁾.

Este estudo tem como objetivo investigar o impacto da exposição ao aerossol de cigarros eletrônicos em mães lactantes e filhotes, cujas mães foram expostas. As mães lactantes receberam ar fresco (controle) ou aerossol de cigarros eletrônicos durante a lactação (dia 4-21). A exposição materna ao aerossol de cigarros eletrônicos durante a lactação induziu uma redução significativa ($P < 0,0001$) no teor de gordura do leite e no nível sérico de leptina ($P < 0,005$) em comparação com mães controle. Além disso, filhotes cujas mães foram expostas a cigarros eletrônicos durante a lactação apresentaram aumento do nível de glicose, tiroxina e diminuição do nível de insulina. A exposição ao aerossol de cigarros eletrônicos durante a lactação alterou a composição do leite, bem como

o perfil hormonal e bioquímico em mães e filhotes. Este resultado, se observado em mulheres usuárias de e-cigarros, sugere que o uso de e-cigarros durante a lactação pode ter consequências na produção de leite e perfil hormonal e bioquímico em mães que amamentam e lactentes⁽⁴⁰⁾.

Cr, Cu, Fe, Mn e Pb acumularam-se no SNC em níveis comparáveis àqueles previamente associados a efeitos neurotóxicos que vão desde déficits cognitivos e/ou motores a insultos patológicos. Estas acumulações de metal são de significado neurotóxico individualmente. O acúmulo de Cu, Fe, Mn e Pb em níveis neurotóxicos no estriado de camundongos expostos ao aerossol de cigarro eletrônico é preocupante para a saúde cerebral de usuários de cigarro eletrônico e espectadores porque (1) as doses que usamos nesses experimentos com animais são baseadas em níveis de aerossol de cigarro eletrônico e (2) tanto no cérebro do camundongo quanto no humano, o sistema olfativo é altamente conectado ao corpo estriado ventral e dorsal. Além de estar implicado em doenças neurodegenerativas de início tardio, como doença de Parkinson, doença de Huntington, demência frontotemporal e semântica, disfunções e danos ao estriado estão envolvidos em uma miríade de distúrbios neurológicos, incluindo dependência, transtornos bipolares, depressão, transtornos obsessivo-compulsivos e transtornos do espectro do autismo. Aumentos simultâneos de metais podem exacerbar as consequências neurotóxicas devido a interações metal-metal. Os níveis de As, Se e Zn nos animais expostos estavam bem abaixo dos limites neurotóxicos atualmente conhecidos. No entanto, é possível que exposições mais prolongadas ou níveis de exposição mais altos possam resultar na ultrapassagem desses limites⁽⁴¹⁾.

O acúmulo de metal também foi acompanhado pela depleção de metais essenciais no SNC. Notavelmente, dependendo da área do SNC investigada, observamos os mesmos metais sendo aumentado (ambos bioacumulados +50-100 vezes no córtex frontal anterior) ou diminuídos (ambos -26-27% no bulbo olfatório). Para cada metal essencial, a depleção máxima foi observada no bulbo olfatório para Se e Zn, córtex frontal anterior para Mn, mesencéfalo ventral para Zn e medula espinhal para Cu. Entre essas depleções de metais essenciais,

nenhuma atingiu níveis previamente descritos como neurotóxicos, embora quase para Se e Cu⁽⁴¹⁾.

Em conclusão, o principal risco neurotóxico do uso de cigarro eletrônico identificado neste estudo experimental com animais refere-se ao acúmulo de metal no estriado, no córtex frontal (córtex frontal anterior e córtex motorsomatosensorial) e no mesencéfalo ventral. Essas áreas do SNC conhecidas por serem vulneráveis ao excesso de metal estão envolvidas em distúrbios neurológicos graves (por exemplo, transtorno bipolar e depressão) e doenças neurodegenerativas (por exemplo, Alzheimer, Parkinson e doenças de Huntington) previamente ligadas à dishomeostase de metais⁽⁴¹⁾.

Vaping é sugerido como um fator de risco para a má cicatrização de feridas, semelhante ao tabagismo. No entanto, os mecanismos moleculares e histológicos subjacentes a esta postulação permanecem desconhecidos. Nosso estudo procurou comparar as alterações moleculares e histológicas no retalho cutâneo e no tecido sem retalho entre vaporizadores, fumantes e coortes de controle. O estudo animal de 15 ratos machos Sprague-Dawley foi randomizado para três coortes: controle negativo (n = 5), cigarro eletrônico (n = 5) e cigarro (n = 5) e expostos a seus respectivos tratamentos com monitoramento de cotinina sérica. Após 30 dias, os retalhos de padrão aleatório foram levantados e cicatrizados por 2 semanas, após o que foram coletadas biópsias de pele dos tecidos dos retalhos e não retalhos para reação em cadeia da polimerase com transcrição reversa quantitativa de três genes de cicatrização de feridas selecionados (fator de crescimento transformador β [TGF- β], fator de crescimento endotelial vascular [VEGF], matriz metaloproteinase-1 [MMP-1]); em seguida, foi realizada imuno-histoquímica para expressão de CD68, α -actina de músculo liso observando a densidade de microvasos (MVD) e hibridização in situ para localizar a produção de VEGF. No tecido do retalho, vaping (média [SEM]) (0,61[0,07]) e tabagismo (0,70 [0,04]) foram associados à diminuição da alteração da expressão de VEGF em comparação com os controles (0,91[0,03]) ($p < 0,05$, $p < 0,05$, respectivamente). No tecido sem retalho, apenas o vaping foi associado à diminuição da expressão de VEGF (média [SEM]) (0,81 [0,07]), em comparação com os controles (1,17 [0,10]) ($p < 0,05$) com expressão localizada

principalmente nos queratinócitos basais e na derme (capilares). A imuno-histoquímica mostrou diminuição da MVD em retalho de tecido de fumantes (0,27[0,06]) e vaping (0,26[0,04]) em comparação com controles pareados (0,65[0,14]) ($p < 0,05$, $p < 0,05$, respectivamente) e diminuição das áreas de fibrose em comparação com controles na histologia macroscópica. Vaping e tabagismo foram associados de forma semelhante à diminuição da expressão de VEGF, MVD e alterações fibróticas no tecido do retalho. Os resultados sugerem angiogênese atenuada por meio da diminuição da expressão de VEGF como um mecanismo para má cicatrização de feridas em ratos expostos ao vaping⁽⁴²⁾.

Nosso estudo demonstra que tanto o vaping quanto o tabagismo impactam negativamente a expressão de VEGF, MMP-1 e MVD na cicatrização de feridas, sugerindo que a angiogênese prejudicada diminuiu as alterações fibróticas e a desregulação da ECM na fase proliferativa como causa dos resultados ruins de cicatrização de feridas observados em fumantes e teorizado para ocorrer em pessoas que vaporizam. Vaping não deve ser visto como uma alternativa mais segura ao uso de cigarros no contexto da cicatrização de feridas e os pacientes devem ser educados sobre os riscos perioperatórios de cicatrização de feridas do vaping como equivalentes aos usuários de cigarros. Os cirurgiões devem estar atentos ao perguntar aos pacientes sobre o uso de vaping, pois pode não ser mencionado com frequência e pode ter implicações em resultados de cicatrização de feridas piores⁽⁴²⁾.

Os cigarros eletrônicos, que fornecem nicotina vaporizada, aumentaram drasticamente em popularidade nos últimos anos, apesar de muitas perguntas não respondidas sobre segurança, eficácia na redução da dependência e impacto geral na saúde pública. Outros fatores, como o sexo, também desempenham um papel importante na determinação das respostas comportamentais e neuroquímicas às drogas de abuso. Nesses estudos, buscamos desenvolver um protocolo para autoadministração de nicotina em cigarro eletrônico vaporizado em ratos, como base para entender melhor os diferentes efeitos das vias de exposição à nicotina no comportamento e na função fisiológica. Relatamos um novo método que provoca auto-administração

robusta de vapor de nicotina em ratos machos e fêmeas. Nossas descobertas indicam que a solução vape de nicotina de 5 mg/ml fornece um alto nível de consistência no comportamento de pressionar a alavancas para machos e fêmeas. Além disso, em ratos machos, descobrimos que o vapor de nicotina do cigarro eletrônico induz níveis sanguíneos semelhantes do principal metabólito da nicotina, a cotinina, aos encontrados com a autoadministração intravenosa de nicotina. Portanto, o padrão respiratório durante a exposição ao vapor em machos leva a níveis semelhantes de ingestão titulada de nicotina com a autoadministração intravenosa de nicotina. Curiosamente, um efeito diferencial foi encontrado nas fêmeas, nas quais as mesmas condições de exposição ao vapor levaram à diminuição dos níveis de cotinina com vapor em comparação com a autoadministração intravenosa. Finalmente, as diferenças na locomoção mediada pela nicotina fornecem suporte adicional aos efeitos fisiológicos da inalação do vapor do cigarro eletrônico. Tomados em conjunto, nossos achados revelam diferenças importantes entre os sexos na ingestão de nicotina com base na via de exposição e estabelecemos ainda um protocolo para a autoadministração de vapor de nicotina em ratos⁽⁴³⁾.

Em conclusão, desenvolvemos um método robusto e confiável de autoadministração de nicotina por vapor que tem alta relevância translacional para a ingestão humana de cigarros eletrônicos e tabaco. O protocolo de exposição ao vapor demonstrou resultar em níveis sanguíneos comparáveis do metabólito da nicotina, cotinina, em comparação com a autoadministração intravenosa de nicotina. Também encontramos diferenças intrigantes dentro de cada sexo com base na via de ingestão de nicotina, e essas diferenças serão importantes para investigar em estudos futuros para assegurar uma melhor compreensão dos mecanismos subjacentes para a função pulmonar e/ou cerebral. Além disso, será importante em estudos futuros empregar o protocolo de vapor sob condições de exposição de longo prazo e com cartuchos vape sólidos que contenham uma dose mais alta de nicotina para melhor elucidar as mudanças comportamentais e metabólicas que ocorrem com a inalação de nicotina vaporizada. Como a exposição ao vapor não requer manipulações cirúrgicas, este método de entrega também será ideal para examinar uma variedade de idades (por exemplo, jovem, adolescente, adulto jovem, adulto e

idoso) e efeitos interativos com modelos de doenças (por exemplo, doença de Alzheimer e COVID-19). Por meio desses esforços, as descobertas científicas verificadas podem informar melhor a ciência reguladora do tabaco/nicotina para políticas de controle eficazes e também podem levar a intervenções terapêuticas mais eficazes para a dependência de nicotina⁽⁴³⁾.

A fumaça do cigarro foi identificada como um importante fator de risco para o desenvolvimento da degeneração macular relacionada à idade (DMRI). Como alternativa aos cigarros convencionais (C-cigarette), os cigarros eletrônicos (E-cigarette) têm sido promovidos globalmente e são amplamente utilizados atualmente. O uso crescente de cigarros eletrônicos levanta preocupações com relação às consequências de curto (2 semanas), médio (3 meses) e longo (8 meses) relacionadas ao tecido retiniano. Neste relatório, um estudo controlado em modelos de camundongos foi conduzido para sondar os efeitos abrangentes do vapor do cigarro eletrônico na retina, no epitélio pigmentado da retina (EPR) e nos tecidos da coroide (1) comparando os efeitos da fumaça do cigarro eletrônico e do cigarro eletrônico vapor de cigarro na retina separadamente e (2) determinar os efeitos do vapor de cigarro eletrônico no EPR e analisar as alterações em relação aos mediadores inflamatórios (IL-1 β , TNF α , iNOS) e angiogênicos (VEGF, PEDF) na retina/RPE/coroide por ensaios ELISA. Os dados mostraram que a exposição à fumaça do cigarro C promoveu uma reação inflamatória na retina in vivo. Camundongos expostos ao vapor de cigarro eletrônico (sem nicotina) desenvolveram reações inflamatórias e angiogênicas mais pronunciadas no EPR e coroide em comparação com o tecido da retina, enquanto o vapor de cigarro eletrônico contendo nicotina causou uma reação ainda mais grave. Ambas as reações inflamatórias e pró-angiogênicas aumentaram com a extensão do tempo de exposição. Esses resultados demonstram que a exposição à fumaça do cigarro C é prejudicial à retina. Da mesma forma, a exposição ao vapor do cigarro eletrônico (com ou sem nicotina) aumenta a ocorrência e progressão de estímulos inflamatórios e angiogênicos na retina, o que também pode estar relacionado ao aparecimento de DMRI úmida em humanos⁽⁴⁴⁾.

Avaliar os efeitos biomecânicos e histológicos no reparo do tendão de Aquiles de tabaco queimado inalado versus exposição à nicotina via cigarro eletrônico versus um grupo controle em um modelo animal pequeno (rato Sprague-Dawley). Cinquenta e quatro ratos Sprague-Dawley foram randomizados em 3 grupos: tabaco queimado, cigarros eletrônicos ou controle. Ratos experimentais foram expostos a cigarros de pesquisa ou vapor de cigarro eletrônico em uma câmara de fumar por 4 semanas. A transecção cirúrgica e o reparo do tendão de Aquiles foram então concluídos, seguidos por 2 semanas adicionais de exposição. Os tendões de Aquiles foram colhidos e o teste de tração biomecânica foi realizado. A avaliação histológica foi concluída, incluindo coloração de hematoxilina-eosina, coloração tricrômica e análise imuno-histoquímica para colágeno tipo I e tipo III. O grupo controle apresentou a maior média de carga de tração até a falha, em 41,0 +/- 10,4 (intervalo, 18,3-55,1); a coorte de cigarro teve a segunda maior média, em 37,3 +/- 11,1 (intervalo, 14,0-54,7); e, finalmente, o grupo vaping teve a média mais baixa, em 32,3 +/- 8,4 (intervalo, 17,8-45,1). A análise de variância unidirecional mostrou uma diferença significativa na carga até a falha ao comparar o grupo controle com o grupo do cigarro eletrônico ($P = 0,026$). Nenhuma diferença estatística foi detectada entre o grupo controle e o grupo do cigarro ($P = 0,35$) ou entre o grupo do cigarro eletrônico e o grupo do cigarro ($P = 0,23$). Rigidez e análise histológica qualitativa não mostraram diferença entre os grupos. Esta investigação mostra que, em um modelo de rato, a exposição à nicotina via cigarro eletrônico impede significativamente as propriedades biomecânicas de cicatrização do reparo cirúrgico do tendão de Aquiles. Os resultados indicam que, embora os cigarros eletrônicos sejam frequentemente usados como uma alternativa “mais segura” ao fumo, seu uso pode ter um efeito prejudicial na carga do tendão até a falha⁽⁴⁵⁾.

Estudos demonstraram que os aerossóis gerados a partir de cigarros eletrônicos com sabor contêm espécies reativas de oxigênio (ROS), promovendo danos induzidos pelo estresse oxidativo nas células pulmonares. Nossa laboratório investigou o conteúdo de ROS do vapor do cigarro eletrônico gerado a partir de cigarros eletrônicos descartáveis com sabor (barras vape) com e sem nicotina. Especificamente, analisamos barras vape pertencentes a várias categorias de sabor [Tabaco, Fruta Menta, Frutado, Menta/Frio (Gelado), Sobremesas e

Bebidas/Bebidas] fabricadas por vários fornecedores e com diferentes concentrações de nicotina (0-6,8%). Os aerossóis dessas barras vape foram gerados por meio de um único gerador de aerossol; esses aerossóis foram borbulhados individualmente através de uma solução fluorogênica para sem quantificar as ROS geradas por essas barras em equivalentes de H₂O₂. Comparamos os níveis de ROS gerados por cada barra vape como um determinante indireto de seu potencial para induzir o estresse oxidativo. Nossos resultados mostraram que a concentração de ROS (M) nos aerossóis produzidos a partir dessas barras vape variou significativamente entre diferentes barras vape com sabor e barras vape com sabor idêntico com concentrações variadas de nicotina. Além disso, nossos resultados sugerem que os produtos químicos aromatizantes e a nicotina desempenham um papel diferencial na geração da produção de ROS em aerossóis de barras vape. Nosso estudo fornece informações sobre os efeitos diferenciais na saúde das barras vape com sabor, em particular os sabores frios (gelados), e a necessidade de sua regulamentação⁽⁴⁶⁾.

Nossos resultados mostram que o acetoin (AC) adicionado aos e-líquidos é transferido eficientemente (>90%) para o aerossol, enquanto as eficiências de transferência de 2,3 pentanedione (AP) e diketones 2,4 butanedione (DA) dos e-líquidos são menores (65%), indicando algumas perdas durante os processos térmicos que levam à aerossolização. Embora a degradação térmica de glicerol (VG) possa potencialmente contribuir para DA no aerossol, DA não foi detectada em aerossóis gerados a menos de 16W no cigarro eletrônico usado. Quantidades significativas são produzidas apenas em temperaturas da bobina que são muito mais altas do que normalmente alcançadas durante o vaping. Níveis quantificáveis de DA do propylene glycol (PG) só foram encontrados no aerossol em temperaturas ainda mais altas da bobina, enquanto o 1,3 propanediol (1,3 PD) produziu muito pouco DA em qualquer uma das condições estudadas⁽⁴⁷⁾.

Sacarose, glicose e frutose também geraram DA nos aerossóis. Quantidades quantificáveis de DA foram encontradas no aerossol gerado a 10W de e-líquidos contendo sacarose em níveis de 0,05%, a menor concentração estudada. As

emissões de DA geralmente aumentaram com a concentração do açúcar no e-líquido e com a energia fornecida à bobina. Nossos experimentos indicaram que a glicose e a frutose têm um potencial semelhante à sacarose na geração de DA quando aquecidas. Essas observações são importantes, pois, além da adição direta de açúcar aos e-líquidos, eles podem estar presentes nos e-líquidos se os fabricantes incorporarem extratos naturais de frutas e plantas. Experimentos de pirólise demonstraram que compostos contendo anéis de furanose de cinco membros podem facilmente gerar AP e DA quando aquecidos. Nossas descobertas devem ser consideradas pelos fabricantes que selecionam compostos de sabor para uso em e-líquidos, a fim de minimizar a exposição à dicetona entre usuários de cigarros eletrônicos⁽⁴⁷⁾.

As transferências de AC, AP e DA de e-líquidos para aerossóis de cigarros eletrônicos foram quantificadas comparando as concentrações de aerossóis com as concentrações de e-líquidos. A geração térmica de e-líquidos VG, PG ou 1,3 PD foi investigada medindo as emissões de AC, AP e DA em função da temperatura em um cigarro eletrônico. A geração térmica de AC, AP e DA a partir de açúcares foi examinada pela aerossolização de líquidos eletrônicos contendo sacarose, frutose ou glicose em um cigarro eletrônico. A formação pirolítica de AP e DA a partir de uma variedade de sabores comuns foi avaliada usando técnicas de pirólise flash. A eficiência de transferência AC foi > 90%, enquanto AP e DA foram transferidos com menos eficiência (65%) indicando perdas durante a aerossolização. Níveis quantificáveis de DA foram gerados a partir de VG e PG e, em menor grau, 1,3 PD em temperaturas de bobina >300°C. Acima de 350°C AP foi gerado a partir de VG e 1,3 PD, mas não PG. AC não foi gerado a partir de constituintes principais, embora baixos níveis tenham sido gerados pela redução térmica de DA. Aerossóis de e-líquidos contendo sacarose continham níveis quantificáveis (>6 ng/puff) de DA em todas as concentrações de sacarose testadas, com emissões de DA aumentando com o aumento da potência e concentração do dispositivo. 1% de glicose, frutose ou sacarose e-líquidos deram emissões de DA comparáveis. Os compostos do anel furanose também geram DA e AP quando aquecidos a 250°C⁽⁴⁷⁾.

A nicotina é uma substância viciante historicamente consumida pelo fumo e, mais recentemente, pelo uso de dispositivos eletrônicos de vapor. A crescente prevalência e popularidade do vaping leva à necessidade de modelos pré-clínicos de roedores de exposição ao vapor de nicotina e uma melhor compreensão do impacto do vaping em regiões específicas do cérebro, funções corporais e comportamentos. Usamos um modelo de roedor de exposição eletrônica ao vapor de nicotina para examinar as consequências celulares e comportamentais da exposição aguda e repetida ao vapor. Camundongos machos adultos C57BL/6J foram expostos a uma única sessão de 3 horas (exposição aguda) ou cinco sessões diárias (exposição repetida) de vapes intermitentes de 120 mg/ml de nicotina em propileno glicol: glicerol vegetal (PG/VG) ou PG/VG ao controle. A exposição aguda e repetida ao vapor de nicotina não alterou o peso corporal, e ambos os paradigmas de exposição produziram níveis séricos de nicotina e cotinina farmacologicamente significativos no grupo de 120 mg/ml de nicotina em comparação com os controles PG/VG. A exposição aguda ao vapor de nicotina eletrônica aumentou a atividade da amígdala central (CeA), no disparo neuronal individual e na expressão do marcador de atividade molecular (cFos). As alterações na atividade neuronal após exposição aguda não foram observadas após exposição repetida. A exposição aguda e repetida ao vapor de nicotina diminuiu a temperatura corporal central, no entanto, a exposição aguda diminuiu a locomoção, enquanto a exposição repetida aumentou a locomoção. Coletivamente, esses estudos fornecem a validação de um modelo de camundongo de exposição ao vapor de nicotina e evidências importantes de como a exposição ao vapor eletrônico de nicotina produz efeitos diferenciais na atividade neuronal CeA e em funções e comportamentos específicos do corpo, como termorregulação e locomoção⁽⁴⁸⁾.

Este estudo teve como objetivo analisar os estágios do dano tecidual pulmonar causado pela exposição à fumaça do cigarro eletrônico (e-cigarette). Os efeitos negativos dos cigarros eletrônicos para a saúde permanecem discutíveis. Vários estudos mostraram os efeitos adversos, mas outros opinam que os cigarros eletrônicos são mais seguros de usar do que seus equivalentes de tabaco. Existe, no entanto, a possibilidade de que os efeitos de longo prazo sobre a

saúde, como o comprometimento respiratório e até mesmo da função renal, não sejam óbvios no momento. As quantidades aumentadas de radicais livres e citocinas pró-inflamatórias dos cigarros eletrônicos resultam em vários distúrbios fisiológicos, que desencadeiam danos celulares e até a morte celular no corpo. Um estudo experimental foi realizado entre março e setembro de 2019 na Universidade de Airlangga utilizando um grupo controle e um grupo experimental de ratos Wistar machos para avaliar os níveis de malondialdeído, interleucina (IL)-8, IL-10, metaloproteína-8 da matriz e colágeno tipo 2. Os resultados foram obtidos por métodos de coloração imuno-histoquímica em macrófagos alveolares através da coloração de Hematoxilina-Eosina⁽⁴⁹⁾.

A exposição à fumaça do cigarro eletrônico aumenta os radicais livres nas vias aéreas através do aumento do malondialdeído. Isso causa modificações nas citocinas pró-inflamatórias encontradas no tecido pulmonar, como IL-6 e IL-8, resultando em alterações na matriz da metaloproteína-8 e iniciando a degradação do colágeno tipo 2. Assim, este estudo mostrou uma via molecular através de seu impacto negativo de curto prazo causado pela fumaça do cigarro eletrônico que modifica o processo inflamatório no tecido pulmonar e desencadeia o aparecimento de danos ao tecido pulmonar⁽⁴⁹⁾.

Embora alguns estudos mostrem que o uso de sistemas eletrônicos de administração de nicotina (ENDS) pode melhorar os resultados objetivos e subjetivos em fumantes com DPOC que mudaram para cigarros eletrônicos, não está claro se a exposição ao cigarro eletrônico altera as características patológicas pulmonares e a resposta inflamatória na DPOC. Aqui, empregamos camundongos com superexpressão de β ENaC com anormalidade pulmonar semelhante à DPOC e os expusemos a ENDS. Descobrimos que a exposição a ENDS agravou o alargamento do espaço aéreo e a produção de muco em camundongos expressando β ENaCover, o que foi associado ao aumento de MMP12 e Muc5ac, respectivamente. A exposição de ENDS a camundongos aumentou significativamente o número de macrófagos, particularmente em macrófagos M2 no fluido de lavagem broncoalveolar (BAL), apesar de ENDS não induzirem a polarização de macrófagos M2 em uma linhagem de células de macrófagos murinos cultivadas (RAW264.7). Não houve alterações nos

neutrófilos no fluido BAL pela exposição ao ENDS. As produções múltiplas de citocinas foram aumentadas, incluindo M-CSF, IL-1 α , IL-10 e TGF- β 1, no fluido BAL de camundongos quando expostos a ENDS. A coloração de Sirius Red e o ensaio de hidroxiprolina mostraram que camundongos expostos a ENDS exibiram fenótipos fibróticos aumentados em comparação com camundongos de controle. Em conclusão, a exposição ao ENDS aumenta o alargamento do espaço aéreo, a secreção de muco e a fibrogênese em camundongos com DPOC. Isso está associado ao aumento de MMP12, respostas inflamatórias e fenótipo de macrófago M2. Este estudo fornece dados pré-clínicos que implicam que a exposição ao cigarro eletrônico não é segura em pacientes com DPOC que desejam substituir os cigarros tradicionais por ENDS⁽⁵⁰⁾.

Além disso, um fenômeno notável em nosso estudo é que o ENDS enriqueceu notavelmente a população de miofibroblastos, sugerindo que o ENDS pode induzir a ativação de miofibroblastos. O miofibroblasto é o tipo celular predominante responsável pela deposição de matriz extracelular e é considerado um marco nas doenças fibróticas. E observamos que a fibrose pulmonar aumentou em camundongos que receberam exposição ao ENDS. Seria interessante entender se o ENDS pode estimular a diferenciação de fibroblastos em miofibroblastos. Isso pode revelar outro risco potencial de ENDS, pois pode promover o desenvolvimento de fibrose pulmonar por meio da indução da diferenciação de miofibroblastos. Em conclusão, nosso estudo elucida que a exposição ao ENDS eleva as características da DPOC e causa alteração da resposta inflamatória com aumento do número de macrófagos M2. As alterações na resposta inflamatória resultantes do ENDS levam ainda a um aumento da fibrose pulmonar. Nosso estudo nos fornece uma compreensão mais profunda do mecanismo como o ENDS afeta a DPOC. Por fim, embora camundongos superexpressando β ENaC sirvam como uma boa espécie exposta a ENDS para indução de modelo animal de DPOC, o efeito de ENDS em camundongos selvagens ainda requer mais investigações⁽⁵⁰⁾.

Esses dados destacam alguns pontos-chave que podem auxiliar no desenho de pesquisas futuras, bem como no desenvolvimento de políticas de tabaco. Eles também fornecem informações sobre o impacto molecular desses dispositivos

populares de administração de nicotina. Descobrimos que cada tipo de exposição ao cigarro eletrônico levou a perfis de metabólitos únicos na circulação de camundongos expostos. Perfis exclusivos podem revelar assinaturas metabolômicas específicas associadas a riscos de doenças; essas assinaturas foram associadas a doenças cardiovasculares e servem como preditores de doença renal crônica⁽⁵¹⁾.

Especificamente, os camundongos JUUL mango e vape pen tinham diferentes níveis plasmáticos de eicosanóides, moléculas biológicas que atuam como ativadores e supressores da inflamação. Os eicosanóides pró e anti-inflamatórios têm sido associados a doenças reumatológicas. Mais recentemente, descobriu-se que as tempestades de eicosanóides potencialmente desempenham um papel no COVID-19 grave. Embora ainda sejam necessárias extensas pesquisas, o envolvimento dos eicosanóides nos processos fisiológicos inflamatórios é preocupante, pois o sistema imunológico se equilibra constantemente entre um estado inflamatório e anti-inflamatório; qualquer interrupção desse equilíbrio, em qualquer direção, é conhecida por levar à patologia e, portanto, à doença⁽⁵¹⁾.

A inalação crônica de aerossóis de cigarro eletrônico induziu assinaturas metabolômicas específicas na circulação, dependendo do dispositivo eletrônico usado, conteúdo de nicotina, aromas, sexo e duração da exposição. Notavelmente, o espaçamento das exposições não teve impacto na assinatura química produzida, enquanto o sexo desempenhou um papel importante, com perfis de metabólitos sistêmicos díspares em homens versus mulheres expostos a aerossóis de cigarros eletrônicos. A inalação diária de aerossóis JUUL levou a inúmeras alterações de metabólitos ocorrendo de maneira específica do sabor quando camundongos foram desafiados com LPS inalado como modelo de pneumonia Gram-negativa, demonstrando que o uso desses dispositivos populares leva à imunomodulação. Finalmente, a composição de cada dispositivo de e-cigarro e e-líquido, bem como a temperatura e a potência aplicada ao e-líquido no processo de vaporização e aerossolização, desempenhou um papel no perfil químico produzido, que por sua vez impactou o perfil metabolômico do anfítrio⁽⁵¹⁾.

Assim, esses dados demonstram que o tipo de dispositivo eletrônico, os componentes químicos, a duração da exposição e o sexo desempenham papéis críticos na alteração dos perfis metabolômicos. Isso é preocupante, pois perfis únicos podem revelar assinaturas metabolômicas específicas associadas a riscos de doenças; essas assinaturas foram associadas a doenças cardiovasculares e servem como preditores de doença renal crônica. Trabalhos futuros são necessários para entender completamente os efeitos fisiológicos e fisiopatológicos dessas alterações metabolômicas relacionadas à exposição ao aerossol de cigarro eletrônico em humanos⁽⁵¹⁾.

No final de 2019, centenas de usuários de produtos eletrônicos que aerossolizam um líquido para inalação foram hospitalizados com diversos sintomas respiratórios e gastrointestinais. Embora algumas investigações tenham atribuído a doença à presença de acetato de vitamina E em líquidos que também continham tetraidrocannabinol, algumas evidências sugerem que a inalação crônica de dois compostos comuns solventes utilizados em sistemas eletrônicos de entrega de nicotina (ENDS), propilenoglicol (PG) e glicerina vegetal (VG), podem interferir nos componentes lipídicos do surfactante pulmonar e causar ou agravar a lesão pulmonar. A interação entre PG, VG e surfactante pulmonar ainda não é compreendida. Este estudo apresenta um exame das interações moleculares de PG e VG com surfactante pulmonar mimetizado por 1,2-dipalmitoil-sn-glicero-3-fosfocolina (DPPC). A interação de DPPC e PG-VG é estudada por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier de reflectância total atenuada. Os resultados mostraram que PG e VG alteraram o alinhamento molecular do surfactante DPPC. A orientação do surfactante na superfície do pulmão afeta a tensão superficial na interface ar-água, influenciando assim a respiração. Esses achados sugerem que a aerossolização crônica dos solventes primários na ENDS pode alterar a função do surfactante pulmonar⁽⁵²⁾.

Os animais foram aclimatados por 12 dias antes de iniciar o experimento. Os ratos foram divididos aleatoriamente em seis grupos que receberam aerossol ECIG por 1 semana (ECIG-1s, n=12), 4 semanas (ECIG-4s, n=12) ou 12

semanas (ECIG-12s, n=12). Os grupos ECIG foram expostos pelo sistema de exposição de corpo inteiro por 1h/dia, por 7 dias/semana pelo período especificado para cada grupo. Os grupos de controle eram três grupos separados expostos ao ar fresco, n=12 para cada grupo, correspondendo a cada grupo de exposição ao aerossol ECIG (Cont-1w, Cont-4w e Cont-12w)⁽⁵³⁾.

Durante a fase de aquisição (12 tentativas; 6 tentativas seguidas de 5 minutos de descanso e as 6 tentativas restantes), todos os ratos apresentaram um alto número de erros. Com o tempo, o número de erros diminuiu, indicando aprendizado. Não houve diferença significativa no número de erros cometidos pelo grupo ECIG-1w e ECIG-4w na tentativa de aprendizado, enquanto houve diferença significativa no número de erros no grupo ECIG-12w em comparação ao grupo controle, indicando que a capacidade de aprendizagem foi afetada negativamente neste grupo. Após 30 min da 12^a tentativa, foi realizado o teste de memória de curto prazo. Ratos em todos os grupos de ECIG apresentaram alto número de erros. Os grupos ECIG-4w e ECIG-12w apresentaram números significativamente maiores de erros do que o grupo controle (p<0,05). Após 5 e 24 horas da 12^a tentativa, os testes de memória de longo prazo foram realizados. Os animais dos grupos ECIG-4w e ECIG-12w apresentaram números significativamente maiores de erros em comparação com os grupos de controle correspondentes (p<0,05)⁽⁵³⁾.

Para fornecer informações sobre a causa da lesão pulmonar associada ao cigarro eletrônico (Ecig), examinamos os efeitos do propilenoglicol (PG) e do glicerol (G), dois veículos solventes comuns usados para fornecer nicotina/aroma, em marcadores de estresse oxidativo e inflamação em camundongos fêmeas B6C3F1 que foram usados com sucesso na carcinogênese pulmonar induzida pela fumaça do tabaco (TS). Camundongos expostos ao ar e TS foram usados como controles negativos e positivos, respectivamente. Usando LC-MS/MS, mostramos que PG/G sozinho, na ausência de nicotina, aumentou significativamente os níveis de 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHdG ou seu tautômero 8-oxodG), um biomarcador de dano oxidativo ao DNA, em pulmão e plasma de camundongos; além disso, a adição de nicotina (12 e 24 mg/mL) no líquido do e-cig parece suprimir os níveis de 8-

oxodG. A exposição a aerossóis de e-cig ou aumentos não significativos induzidos por TS da proteína C reativa plasmática (CRP), um biomarcador de inflamação; no entanto, os níveis de fibronectina (FN), um biomarcador de lesão tecidual, foram significativamente aumentados por aerossóis e-cig ou TS. Embora preliminares, nossos dados mostraram que a exposição a aerossóis de e-cig induziu uma pontuação mais alta de lesão pulmonar do que a exposição ao ar ou ao TS. Nossos resultados indicam que o modelo de camundongo B6C3F1 pode ser adequado para um exame aprofundado do impacto do e-cig na lesão pulmonar associada ao estresse oxidativo e inflamação e este estudo aumenta a evidência crescente de que o uso de e-cig pode levar a danos pulmonares⁽⁵⁴⁾.

As medições de espectroscopia de NMR H e C Magic-angle spinning (MAS) in situ foram realizadas em um espectrômetro de NMR Varian-Agilent Inova de diâmetro amplo de 300 MHz usando uma sonda MAS tipo lápis de cerâmica comercial de 7,5 mm, operando em frequências H e C Larmor de 299,969 MHz e 75,430, respectivamente. As amostras foram giradas no ângulo mágico, girando a ~ 3,5 kHz, o que permitiu uma resolução aprimorada nesses sistemas principalmente líquidos. Sequências H (C) de pulso único consistindo em uma largura de pulso $\pi/4$ de 2,25 μ s (3,5 μ s), tempo de aquisição de 999 ms (400 ms) e atraso de reciclo de 5 s (4 s). Normalmente, 2.048 (32.000) repetições foram usadas para coletar os espectros. Todos os espectros foram referenciados externamente para adamantano em 1,82 ppm e 38,48 ppm para H e C, respectivamente. A temperatura experimental foi calibrada com um termômetro externo de etilenoglicol e as mudanças químicas dependentes da temperatura foram avaliadas conforme explorado anteriormente. Dado que as temperaturas experimentais empregadas estão próximas dos pontos de ebulação dos constituintes primários, as pressões de vapor foram plotadas para referência do leitor, onde as constantes de Antoine foram extraídas do Perry's Handbook. Dadas as dimensões do rotor, espera-se que apenas uma minoria das espécies de álcool seja vaporizada durante os experimentos. A natureza vedada do sistema determina que, em temperaturas elevadas, a pressão aumentará. Amostras sólidas de ZrO₂ e Cr₂O₃ (Sigma) foram preparadas pré-tratando os pós sólidos sob vácuo a 350 °C por 4 h. As amostras sólidas foram

subsequentemente carregadas em rotores NMR seláveis em uma caixa de luvas cheia de N2 seca⁽⁵⁵⁾.

O pó de aço inoxidável também foi considerado, mas mesmo a variedade não magnética exibiu propriedades magnéticas quando posicionada próximo ao espectrômetro de NMR, impedindo seu uso no instrumento. Proplieno glicol (Sigma, 99,5%), glicerol (Sigma, 99,9%), 20% 13C-formaldeído (Sigma, água), acetaldeído (Sigma, 99%), acroleína (Thomas) e O2 (Oxarc) foram empregados para estudar. As formulações de líquido de cigarro eletrônico simuladas desejadas foram injetadas no rotor por meio de uma microsseringa antes que a célula de amostra fosse selada. O rotor foi subseqüentemente transferido para uma câmara de carregamento especialmente projetada onde o gás N2 ou O2 foi adicionado nas pressões especificadas. Quantidades de líquidos ENDS foram selecionadas para imitar a quantidade de vapor liberada em uma tragada média (~ 10–50 mg). Deve-se notar que foram empregadas pressões máximas de oxigênio de 76 psig (~ 1 ml STP), o que é drasticamente menor do que a quantidade de oxigênio que passaria pelo dispositivo ENDS (a capacidade típica do pulmão humano é de 4–6 L. A 20 % O2 no ar, equivale a 800 ml de oxigênio). Como mostrado aqui, a disponibilidade de oxigênio está fortemente correlacionada à reatividade, sugerindo que uma maior disponibilidade de oxigênio na condição real pode mitigar uma parte das disparidades no tempo de aquecimento que são mais longas nos experimentos aqui apresentados⁽⁵⁵⁾.

Aqui, examinamos a degradação térmica de baixa temperatura de propilenoglicol e glicerol, os principais constituintes dos líquidos ENDS. O monitoramento da via de degradação de baixa temperatura durante um período prolongado de tempo permitiu a detecção de espécies químicas convertidas por abundância natural C NMR e H NMR, que podem representar os tipos de espécies presentes em vapores e aerossóis de ENDS nessas temperaturas. Os resultados demonstram que a degradação dos líquidos ENDS é fortemente dependente da disponibilidade de oxigênio, tanto na presença quanto na ausência de uma superfície catalítica, evidenciado pelo forte efeito da razão gás /C. Quando o oxigênio está disponível, os líquidos ENDS se decompõem a temperaturas abaixo de 200 °C e formam numerosas espécies químicas por meio de um

mecanismo mediado por radicais iniciado pelo oxigênio molecular. Dentre as espécies formadas, são gerados os ácidos fórmico e acrílico que representam riscos à saúde quando inalados. Além disso, a formação de acetais hemi- e formais é abundante, significando a geração de formaldeído e acetaldeído em aerossóis ENDS. Os perigos do formaldeído em produtos de nicotina aquecidos foram bem estabelecidos, embora a discussão subsequente tenha sugerido que tais perigos nos cigarros eletrônicos são exagerados. Estes novos resultados mostram claramente a presença de tais aldeídos em líquidos ENDS degradados termicamente a baixas temperaturas. Curiosamente, as superfícies simuladas da bobina ENDS não atuam como catalisadores no regime de baixa temperatura indicativo de uma bobina saturada de líquido, evidenciado pela falta de aumento aparente na taxa de decomposição, potencialmente devido à forte ligação da superfície que impede a conversão. O mecanismo mediado por radicais é a explicação mais provável para a ausência de qualquer conversão (incluindo desidratação) quando o oxigênio não está presente. A observação de espécies intermediárias para confirmar esta via pode se manifestar a partir da espectroscopia de ressonância paramagnética eletrônica (EPR) para observar diretamente os radicais ENDS à medida que se formam ou por meio da marcação isotópica de C nos álcoois originais para aumentar a sensibilidade espectral e, portanto, a resolução temporal. Aumentar a sensibilidade em ~ 90 vezes, por exemplo, permitiria potencialmente a observação de espécies intermediárias não radicais de vida relativamente curta que se convertem muito rapidamente nas condições atuais, solidificando as etapas ativas na via. Os resultados descritos aqui destacam a conversão de ENDS em baixas temperaturas para formar compostos tóxicos que podem ser potencialmente inalados em quantidades significativas durante o uso prolongado de dispositivos ENDS de baixa temperatura⁽⁵⁵⁾.

A extração in vitro para in vivo (IVIVE) aproveita as atividades biológicas in vitro para prever as exposições in vivo correspondentes, reduzindo potencialmente a necessidade de testes de segurança em animais que são tradicionalmente realizados para apoiar a avaliação de perigos e riscos. A interpretação das previsões IVIVE é afetada por vários fatores, incluindo o tipo de modelo, via de exposição e suposições cinéticas para o artigo de teste e

escolha do(s) ensaio(s) in vitro que são relevantes para os resultados clínicos. Os cenários de exposição são ainda mais complicados para misturas em que a atividade in vitro pode resultar de um ou mais componentes da mistura. Neste estudo, usamos aerossóis de cigarro eletrônico (CE), uma mistura complexa, para explorar os impactos desses fatores no uso de IVIVE na identificação de perigos, usando modelos farmacocinéticos de código aberto de complexidade variada e dados disponíveis publicamente. Os resultados sugerem que a seleção do ensaio in vitro tem um impacto maior nas estimativas de exposição do que as abordagens de modelagem. Usando ensaios de citotoxicidade, seriam necessárias estimativas de alta exposição (> 1.000 cartuchos EC (cápsulas) ou > 700 mL de líquido EC por dia) para obter os níveis plasmáticos in vivo correspondentes aos dados do ensaio in vitro, sugerindo que a toxicidade aguda seria improvável em cenários típicos de uso. Quando os ensaios mecanísticos (Tox21) foram usados, as estimativas de exposição foram muito mais baixas para o limite inferior, mas a faixa de estimativa de exposição tornou-se mais ampla nas abordagens de modelagem. Esses resultados de prova de conceito destacam os desafios e complexidades do IVIVE para misturas⁽⁵⁶⁾.

Nosso estudo de caso explorou o uso de IVIVE na identificação de perigos e avaliação de risco para misturas como aerossóis EC para os quais dados in vivo limitados estão disponíveis. Três aspectos foram investigados: abordagem de modelagem Farmacocinética (PK), manipulação de misturas químicas para modelagem IVIVE e seleção de ensaios in vitro. Compreender como esses aspectos afetam as previsões da exposição necessária para exercer um efeito in vivo e as avaliações subsequentes sobre se um efeito adverso é esperado sob condições típicas os cenários de exposição podem ajudar a orientar a seleção e aplicação de IVIVE. A análise comparativa realizada neste estudo identificou possíveis variáveis de alto impacto nas estimativas de EAD, como o ensaio in vitro e aquelas de menor impacto relativo, como a via de administração na modelagem toxicocinética (TK). Existem várias limitações na generalização dos resultados, por exemplo, o modelo de inalação foi um modelo de gás, não um aerossol. Isso afeta muito a entrega da mistura química e pode fornecer uma estimativa enganosa da quantidade de produto químico que entra no sistema. Além disso, os cenários de dosagem descritos podem não representar padrões

de uso típicos. Padrões de uso foram escolhidos para simular dois cenários extremos (uso pesado e leve); assim, a EAD prevista em cenários de uso mais típicos pode variar daquelas simuladas. Uma utilidade chave da realização de IVIVE como neste estudo é traduzir o “risco” representado pelo ensaio *in vitro* no contexto apropriado de risco à saúde humana (exposição). A conversão de unidades de ensaio *in vitro* para uma dose humana menos abstrata (por exemplo, número de pods EC por dia) muda drasticamente a narrativa dos resultados de citotoxicidade. A relevância para o risco à saúde humana foi ainda mais reforçada considerando os resultados dos ensaios *in vitro* que têm alvos mecanísticos (subtóxicos) mais diversos e específicos do que os ensaios de citotoxicidade que produziram resultados tanto nas misturas quanto nos aromatizantes químicos individuais. Por exemplo, a atividade química em ensaios *in vitro* que medem o metabolismo xenobiótico pode apontar para uma eliminação rápida, enquanto a presença de produtos químicos que mostram bioatividade para ensaios endócrinos podem ser candidatos a testes de acompanhamento ou substituição por produtos químicos menos bioativos. Portanto, a identificação de painéis de ensaio *in vitro* que podem fornecer informações sobre uma diversidade de resultados biológicos será fundamental para alavancar o IVIVE para caracterizar o perigo potencial e a subsequente avaliação de risco⁽⁵⁶⁾.

A principal descoberta que relatamos neste trabalho é que a exposição crônica repetitiva, mas não aguda, a aerossóis de cigarro eletrônico rompe a barreira epitelial intestinal, aumenta a suscetibilidade do revestimento intestinal a infecções bacterianas e desencadeia inflamação intestinal. Também mostramos os componentes do e-líquido como os principais culpados. Nós estabelecemos a causalidade usando modelos quase fisiológicos *ex vivo* de murinos e humanos; a natureza minimalista do sistema de monocamada enteroide polarizada e nossa capacidade de manipulá-lo de maneira fisiologicamente relevante nos permitiu identificar a célula-alvo para lesão induzida por e-cig como a célula epitelial do intestino. É possível que a lesão disruptiva da barreira seja uma consequência direta dos componentes químicos decompostos pelo calor no vapor do e-cig ou seja causada indiretamente por meio de metabólitos secundários ou citocinas geradas a partir de enteroid-derived monolayers (EDMs). Ao usar *E. coli* invasiva

em estudos de co-cultura com EDMs, também determinamos que o manuseio de micróbios pelo epitélio intestinal foi fundamentalmente prejudicado após a exposição crônica e repetitiva ao e-cig, resultando em maior infeciosidade e inflamação. Esses achados estão de acordo com estudos anteriores que mostram maior infectividade e inflamação no revestimento epitelial da mucosa oral e do pulmão⁽⁵⁷⁾.

Nossos estudos de RNA-seq mostraram três grandes temas inter-relacionados de programas transcricionais alterados. A primeira são as vias relacionadas à resposta celular ao estresse e estímulos que compreendem induções proeminentes de genes que participam das vias de sinalização PPAR e AMPK. A segunda são as vias relacionadas à resposta da mucosa à infecção e inflamação, com indução proeminente de genes que codificam o peptídeo antimicrobiano b-defensinas e regulação negativa de múltiplos genes que modulam a biogênese lisossomal e Tecpr1, que é necessário e suficiente para a eliminação autofágica de micróbios. A regulação positiva dos genes de resposta ao estresse e o padrão muito específico de regulação positiva da b-isoforma das defensinas não são exclusivos do intestino; análises transcriptômicas em epitélio brônquico humano documentaram o mesmo anteriormente. O terceiro e último tema é o de uma regulação positiva equilibrada de genes que dão suporte a vias e processos pró e anti-oncogênicos, sendo os mais proeminentes os genes envolvidos na diferenciação celular, ou seja, queratinas múltiplas. Como uma quantidade suficiente de queratina é necessária para proteção eficiente contra o estresse no epitélio colônico e porque as queratinas desempenham um papel essencial na manutenção da barreira epitelial e sua regulação negativa no tecido intestinal foi correlacionada com a progressão da DII, nossos achados sugerem que os três temas da expressão gênica alterada podem ser consequências inter-relacionadas da resposta ao estresse epitelial a estímulos crônicos (exposição simultânea a e-cig e micróbios) e inflamação⁽⁵⁷⁾.

Camundongos de oito semanas de idade ($n = 5 \sim 10$ por grupo) foram submetidos à exposição de corpo inteiro. Os camundongos de controle foram expostos ao ar ambiente filtrado por HEPA. A fumaça do aerossol do E-cig foi gerada a partir do E-líquido Platinum V2 RED (aroma clássico de tabaco

contendo 2,4% de nicotina) por uma máquina de fumar Teague (Modelo TE-2, Teague Enterprises, Woodland, CA). O aerossol foi gerado pelo aquecimento de 2 mL de e-líquido. Camundongos receberam exposições de 2 horas por dia durante 5 dias sucessivos por semana, durante um período de 16 semanas. Para o grupo de animais com bloqueio farmacológico de TLR9, os camundongos receberam injeções intraperitoneais do antagonista de TLR9 IRS86933 (5 mg/kg, 5'-TCCTGGAGGGTTGT-3') ou Ctrl-ODN (5'-TCCTGCAGGTTAAGT-3; IDT, Coralville, IA) duas vezes por semana e 1 h antes da exposição ao ECV. Os camundongos foram sacrificados com pentobarbital sódico (200 mg/kg) por injeção intraperitoneal 24 h após a última exposição. Sangue e tecidos foram coletados e armazenados para ensaios posteriores⁽⁵⁸⁾.

No presente estudo, nossos resultados mostram que a exposição ao ECV induz o desenvolvimento de aterosclerose, dano oxidativo ao DNA e ativação de TLR9 em camundongos ApoE $-/-$, substanciado pelo aumento da expressão de TLR9 em placas ateroscleróticas associadas ao fumo de e-cig da artéria femoral em fumantes de e-cig. Recentemente, foi demonstrado que a sinalização de TLR9 promove a ativação de macrófagos e a restauração de TLR9 na BM estimula a aterogênese em camundongos Tlr9 $-/-$ Apoe $-/-$, sugerindo que as células hematopoiéticas contribuem principalmente para o desenvolvimento da aterosclerose mediada pela ativação de TLR9. Descobrimos que os monócitos clássicos periféricos exibiram aumento de TLR9 MFI e na placa aterosclerótica os macrófagos são um tipo principal de células que expressam TLR9. A inativação farmacológica de TLR9 pode atenuar a ativação de TLR9 desencadeada por mtDNA em macrófagos e aliviar a aterosclerose *in vivo*⁽⁵⁸⁾.

A exposição à nicotina aumenta a liberação de glutamato em parte por meio de efeitos estimulatórios nos receptores nicotínicos de acetilcolina pré-sinápticos (nAChRs). Para avaliar o impacto do uso crônico de (e) cigarro eletrônico (ECN) nessas vias de dependência de drogas, expusemos camundongos C57BL/6 a três tipos de exposição a inalantes por 3 meses; 1) aerossol de cigarro eletrônico gerado a partir de líquidos contendo nicotina (ECN), 2) aerossol de cigarro eletrônico gerado a partir de líquidos contendo produtos químicos veiculares sem nicotina (Veh) e 3) somente ar (AC). Nós investigamos os efeitos da exposição

diária ao cigarro eletrônico nos níveis proteicos de $\alpha 7$ nAChR e $\alpha 4/\beta 2$ nAChR, expressão gênica e níveis proteicos de transportadores astrogliais de glutamato, incluindo o transportador de glutamato-1 (GLT-1) e o antiportador cistina/glutamato (xCT), em córtex frontal (FC), corpo estriado (STR) e hipocampo (HIP). Descobrimos que a inalação crônica de ECN aumentou $\alpha 4/\beta 2$ nAChR em todas as regiões do cérebro e aumentou a expressão de $\alpha 7$ nAChR no FC e STR. O mRNA relativo total do GLT-1 e a expressão da proteína foram diminuídos no STR. Além disso, as isoformas GLT-1 (GLT-1a e GLT-1b) foram reguladas negativamente no STR no grupo ECN. No entanto, a inalação de aerossol de cigarro eletrônico reduziu a expressão de xCT em STR e HIP em comparação com os grupos AC e Veh. O grupo ECN apresentou aumento do fator neurotrófico derivado do cérebro no STR em comparação com os grupos controle. Finalmente, a espectrometria de massa detectou altas concentrações do metabólito da nicotina, cotinina, no FC e STR no grupo ECN. Este trabalho demonstra que a inalação crônica de nicotina em aerossóis de cigarro eletrônico altera significativamente a expressão de nAChRs e transportadores astrogliais de glutamato em regiões específicas do cérebro mesocorticolímbico. Nosso trabalho revela que uma exposição clínica e fisiológica a nicotina através da exposição ao aerossol do cigarro eletrônico induziu alterações na expressão de receptores nicotínicos e transportadores astrogliais de glutamato no sistema mesocorticolímbico. Essas alterações podem mediar o início e o desenvolvimento da dependência da nicotina. Além disso, esses efeitos podem levar à plasticidade neuronal e à neuroadaptação sináptica. Mais pesquisas são necessárias para estudar a correlação entre as alterações nos receptores nicotínicos e nos transportadores de glutamato com a homeostase glutamato/dopamina nas regiões de recompensa do cérebro mesocorticolímbico. Mais investigações são necessárias para estudar as interações entre o sistema glutamatérgico e os receptores nicotínicos em animais expostos à nicotina⁽⁵⁹⁾.

As amostras foram preparadas coletando aerossóis de cigarro eletrônico gerados a partir de diferentes líquidos eletrônicos, que consistem em propylene glycol (PG), vegetable glycerin (VG) e nicotina. Por variação do número de tragadas e teor de nicotina, a toxicidade das amostras de cigarro eletrônico foi sistematicamente investigada in vitro e in vivo. Amostras de cigarro eletrônico

geraram ROS, estresse oxidativo induzido, produção de citocinas pró-inflamatórias e citotoxicidade em células THP-1 e células BEAS-2B. Além disso, amostras de cigarros eletrônicos induziram estresse e expressão de NF- κ B no pulmão de animais após exposição por aspiração orofaríngea. Eles também induziram inflamação pulmonar aguda, incluindo infiltração de neutrófilos, produção de IL-1 β e expressão de um marcador de estresse oxidativo, a heme oxigenase-1. A citotoxicidade induzida por PG e VG depende do número de puffs, e PG induziu maior citotoxicidade do que VG. Observou-se citotoxicidade independente e dependente da concentração para a nicotina, e efeitos protetores da nicotina também foram observados. A toxicidade das amostras de cigarro eletrônico foi, pelo menos em parte, devido à geração de ROS abióticos e aldeídos, que foram gerados durante os processos de aerossolização pelo dispositivo de cigarro eletrônico. Esses resultados sugeriram que o estresse oxidativo, a ativação da via pró-inflamatória (por exemplo, NF- κ B, inflamassoma NLRP3) e a morte celular estavam envolvidos na inflamação pulmonar aguda induzida por cigarro eletrônico, o que forneceu informações valiosas para entender a causa da EVALI⁽⁶⁰⁾.

O uso de cigarro eletrônico (e-cigarette) tem sido associado a casos recentes de lesões pulmonares agudas em mais de 2.000 pacientes e dezenas de mortes nos Estados Unidos, no entanto, o mecanismo que leva à lesão pulmonar não é certo, embora partículas ultrafinas, metais pesados, voláteis compostos orgânicos e outros ingredientes nocivos foram implicados. Para avaliar sistematicamente a toxicidade do cigarro eletrônico, geramos aerossóis de cigarro eletrônico variando o número de tragadas (20 a 480), o conteúdo de nicotina (0 a 24 mg/mL) e coletamos amostras de cigarro eletrônico por meio de um sistema impinger para ensaios biológicos. A concentração calculada das amostras variou de 1,96 a 47,06 mg/ mL. Macrófagos diferenciados com monócitos THP 1, células epiteliais brônquicas BEAS-2B, camundongos C57BL/6 de tipo selvagem e camundongos transgênicos NF - κ B - luc foram usados para testar os efeitos dessas amostras. Amostras de cigarro eletrônico mostraram citotoxicidade para células THP-1 e BEAS-2B in vitro, levando ao aumento do estresse oxidativo, produção de citocinas inflamatórias com ou sem nicotina e morte celular. Além disso, o aerossol gerado a partir do PG é mais

tóxico do que o VG. A toxicidade das amostras de cigarro eletrônico é, pelo menos parcialmente, devido às espécies reativas de oxigênio e aldeídos, que são gerados durante os processos de aerossolização pelo dispositivo de cigarro eletrônico. Após camundongos NF - κB - luc expostos a amostras de cigarros eletrônicos por aspiração orofaríngea, expressões de NF- κB foram observadas de forma dose-resposta com ou sem nicotina. Além disso, as amostras de cigarro eletrônico induziram infiltração de neutrófilos, produção de IL-1β, expressão do marcador de estresse oxidativo heme oxigenase-1 em camundongos C57BL/6 de tipo selvagem. Esses resultados sugerem que o estresse oxidativo, a ativação pró-inflamatória da via NF- κB e a morte celular estão envolvidos na inflamação pulmonar aguda induzida por aerossol de cigarro eletrônico⁽⁶⁰⁾.

Sabe-se que uma história de tabagismo crônico aumenta o risco de síndrome do desconforto respiratório agudo (SDRA), mas os riscos correspondentes associados ao uso crônico de cigarros eletrônicos são amplamente desconhecidos. O gene do sítio cromossômico frágil, WWOX, é altamente suscetível ao estresse genotóxico de exposições ambientais e, portanto, um gene candidato interessante para o estudo de doenças pulmonares relacionadas à exposição. Pulmões colhidos de ex-fumantes/nunca fumantes exibiram uma diminuição de 47% nos níveis de mRNA de WWOX. A exposição ao vapor de cigarro eletrônico contendo nicotina resultou em uma diminuição média de 57% nos níveis de mRNA de WWOX em relação aos controles tratados com veículo. Em estudos separados, camundongos WWOX knockout (KO) específicos para endotélio (EC) versus controle WWOX flox foram examinados sob condições de produção de SDRA. Camundongos EC WWOX KO exibiram níveis significativamente maiores de vazamento vascular e lesão pulmonar histológica. ECs foram isolados de pulmões digeridos de camundongos EC WWOXKO não tratados usando classificação por citometria de fluxo para células CD311 CD452. Estes foram cultivados em cultura, confirmadas como deficientes em WWOX por RT-PCR e Western blotting, e analisadas por detecção de impedância de células elétricas, bem como um ensaio FITC dextran transwell para suas propriedades de barreira durante exposição a *Staphylococcus aureus* ou LPS resistente à meticilina. Os ECs WWOX KO demonstraram declínios significativamente maiores na função de barreira em relação às células dos controles WWOX flox

durante o tratamento com *S. aureus* ou LPS resistente à meticilina, conforme medido pela detecção de impedância elétrica da célula e pelo ensaio transwell. O aumento do risco de SDRA observado em fumantes crônicos pode estar mecanicamente ligado, pelo menos em parte, à baixa regulação pulmonar de WWOX, e esse fenômeno também pode se manifestar em um futuro próximo em usuários crônicos de cigarros eletrônicos⁽⁶¹⁾.

Os elementos nos aerossóis EC vêm de fluidos eletrônicos e unidades de atomização. Geralmente, os elementos são transferidos de forma mais eficiente para aerossóis feitos com ECs de segunda/terceira geração, embora o silício e o estanho também sejam transferidos bem em produtos cartomizadores. Nos produtos de segunda/terceira geração, a transferência tornou-se mais eficiente à medida que a potência aumentava. O arsênico e o selênio foram os mais potentes dos oito produtos químicos testados no ensaio MTT, e o tetracloreto de selênio 10 nM induziu estresse oxidativo e nucleolar em concentrações nanomolares em células BEAS-2B, mas não em hPFs. As concentrações de selênio que induzem o estresse oxidativo *in vitro* estão dentro da faixa encontrada em aerossóis EC; no entanto, a toxicidade *in vivo* será afetada por fatores não avaliados neste estudo, incluindo: especiação, toxicidade da mistura, exposição da interface ar-líquido e topografia do usuário. A exposição humana a elementos EC pode ser reduzida regulando (diminuindo) a potência EC para minimizar a transferência de elementos para aerossóis e melhorando a pureza de PG e G⁽⁶²⁾.

A identificação e quantificação de elementos em propilenoglicol (PG), glicerina (G), fluidos de recarga antes e após o uso e aerossóis foram feitas usando espectrometria de emissão óptica de plasma acoplado indutivamente. A citotoxicidade e o estresse oxidativo foram avaliados por meio de ensaios *in vitro*. Sete elementos estavam presentes em PG, G e fluidos de recarga populares e foram transferidos para aerossóis feitos com ECs. O selênio estava em todos os produtos (0,125–0,292 mg/L), enquanto o arsênico, o alumínio e o estanho estavam frequentemente nas amostras de solvente e fluido de refil em concentrações mais baixas. Ferro, cromo, cobre, níquel, zinco e chumbo só foram detectados no fluido após o uso do CE, indicando que vieram de

atomizadores aquecidos. Elementos transferidos de forma mais eficiente para aerossóis feitos com ECs de segunda/terceira geração. Dos elementos no fluido, selênio e arsênico foram os mais citotóxicos para células epiteliais brônquicas humanas (BEAS-2B) e fibroblastos pulmonares no ensaio de brometo de 3-(4,5-dimetiltiazolil-2)-2,5-difeniltetrazólio. O selênio aumentou a produção de superóxido nas mitocôndrias e nucléolos e elevou a selenoproteína H nos nucléolos de células BEAS-2B nas concentrações encontradas em aerossóis EC (10 nM ou 0,002 mg/L). Os elementos nos aerossóis EC vieram tanto de e-fluidos quanto de unidades de atomização. Nos produtos de segunda/terceira geração, a transferência tornou-se mais eficiente à medida que a potência aumentava. Respostas in vitro ocorreram em concentrações de selênio encontradas em alguns aerossóis EC. A exposição humana a elementos químicos em CEs pode ser reduzida regulando (diminuindo) a potência permitida do CE e melhorando a pureza de PG e G⁽⁶²⁾.

PG, G, fluidos de recarga e fluidos eletrônicos continham elementos químicos potencialmente tóxicos que se transferiam para aerossóis. A transferência foi mais eficiente em produtos EC de segunda e terceira geração e aumentou à medida que a potência aumentou. O selênio e o arsênio foram os mais citotóxicos dos elementos testados no ensaio do brometo de 3-(4,5-dimetiltiazolil-2)-2,5-difeniltetrazólio. Estresse oxidativo induzido por tetracloreto de selênio em células BEAS-2B, mas não em fibroblastos pulmonares humanos. Todos os fluidos continham selênio acima da concentração que induziu o estresse oxidativo nas células epiteliais brônquicas humanas. O selênio aumentou o superóxido nas mitocôndrias e nucléolos e aumentou a selenoproteína H, uma proteína de ligação ao DNA responsiva a redox que é regulada positivamente pelo superóxido e um indicador de estresse nucleolar. Usuários de CE estão expostos a elementos em aerossóis, que podem, com a exposição crônica, contribuir para doenças associadas ao estresse oxidativo⁽⁶²⁾.

Cigarros eletrônicos (e-cigarros) e produtos de aquecimento de tabaco (THPs) reduziram o teor de substâncias tóxicas e surgiram recentemente como uma alternativa potencialmente mais segura aos cigarros combustíveis. Para entender se a exposição reduzida a tóxicos está associada a reduções nas

respostas biológicas, há necessidade de estudos *in vitro* pré-clínicos de alta qualidade. Aqui, investigamos a resposta citotóxica de células endoteliais da veia umbilical humana a extratos aquosos de aerossol (AqE) de cigarro convencional e AqEs altamente concentrados de cigarros eletrônicos (duas gerações de atomizadores) e THPs (duas variantes). Todas as amostras AqE foram geradas por uma metodologia padronizada e caracterizada por nicotina, propileno glicol e glicerol vegetal⁽⁶³⁾.

O cigarro AqE causou uma redução máxima de $100 \pm 0,00$ % na viabilidade celular na dose de 35 % (2,80 baforadas) em oposição a $96,63 \pm 2,73$ % em 50 % (20 baforadas) e $99,85 \pm 0,23$ % em 75 % (30 baforadas) para as duas variantes de THP (glo Bright Tobacco, glo Rich Tobacco) e $99,07 \pm 1,61$ % no cigarro eletrônico puro ePen2.0 (200 tragadas). A AqE dos cigarros eletrônicos restantes resultou em uma resposta à dose incompleta ou não provocou nenhuma resposta. Os métodos utilizados foram adequadamente sensíveis não apenas para diferenciar entre aerossóis de cigarro, THP e cigarro eletrônico, mas também para distinguir entre produtos dentro de cada categoria de produto⁽⁶³⁾.

A área de avaliação toxicológica da próxima geração de produtos de tabaco e nicotina, em particular cigarros eletrônicos e THPs, ainda precisa de estudos e evidências mais consistentes e abrangentes para informar decisões regulatórias sobre o status de cigarros eletrônicos e THP como um potencial alternativa mais segura ao fumo convencional. Neste processo contínuo, reconhecemos a necessidade e compartilhamos nossa abordagem para padronização de metodologias de geração de AqE e caracterização química das amostras de teste de AqE usadas para testes *in vitro*. Em última análise, isso não apenas facilitará a comparação de dados gerados por diferentes laboratórios, mas também aumentará nossa confiança nos dados toxicológicos *in vitro* associados como um todo e melhorará quaisquer estratégias de teste futuras no campo da ciência do cigarro eletrônico e do aerossol THP⁽⁶³⁾.

Recentemente, foi demonstrado que cerca de 39% das mulheres grávidas (em cerca de 1.000) usam cigarros eletrônicos durante a gravidez. De acordo com um relatório do CDC, cerca de 7% das mulheres em certas regiões dos EUA

relataram que usaram cigarros eletrônicos antes, durante ou após a gravidez. Este estudo translacional revela que a exposição materna durante a gravidez a aerossóis de e-cig, com ou sem nicotina, induz miogênese com remodelamento desregulado da MEC de maneira dependente do sexo que pode surgir de desregulação induzida por e-cig da expressão de PAI-1/MMP-9, que por sua vez pode resultar em uma predisposição aumentada para fibrose pulmonar/doenças pulmonares intestinais em filhos adultos. Esses achados contribuem substancialmente para o corpo emergente da literatura que conclui que o e-cig vaping durante a gravidez não é uma alternativa segura ao cigarro/tabaco e aumenta a propensão para complicações pulmonares mais tarde na vida⁽⁶⁴⁾.

O vaping de cigarro eletrônico (e-cig) é uma preocupação séria, já que muitas mulheres grávidas que usam vape o consideram seguro. No entanto, pouco se sabe sobre os efeitos nocivos da exposição pré-natal ao e-cig na prole adulta, especialmente na deposição de matriz extracelular (ECM) e na miogênese nos pulmões da prole. Avaliamos as implicações bioquímicas e moleculares da exposição materna durante a gravidez a aerossóis de e-cig na prole adulta de ambos os sexos, com foco particular em remodelação e miogênese da MEC pulmonar. Camundongos CD-1 grávidas foram expostos a aerossóis de e-cig com ou sem nicotina, durante toda a gestação, e os pulmões foram coletados de descendentes machos e fêmeas adultos. Em comparação com o grupo de controle exposto ao ar, camundongos fêmeas expostos a aerossóis de e-cig, com ou sem nicotina, demonstraram maior abundância de proteína pulmonar de LEF-1 (fator de ligação ao intensificador linfóide 1), fibronectina e E-caderina, enquanto alteração dos níveis de E-caderina e PPARg (receptor g ativado por proliferador de peroxissoma) foram observados apenas em machos expostos a aerossóis de cigarro eletrônico com nicotina. Além disso, os mRNAs lipogênicos e miogênicos foram desregulados na prole adulta de maneira dependente do sexo. O PAI-1 (inibidor do ativador do plasminogênio-1), um dos reguladores da ECM, aumentou significativamente em fêmeas expostas pré-natalmente a aerossóis de e-cig com nicotina e em machos expostos a aerossóis de e-cig em comparação com animais de controle expostos ao ar. MMP 9 (matrix metaloproteinase 9), um alvo a jusante do PAI-1, foi regulado negativamente em ambos os sexos expostos a aerossóis de e-cig com nicotina. Não foram

observadas diferenças na histologia pulmonar entre nenhum dos grupos de tratamento. No geral, camundongos adultos expostos pré-natalmente a aerossóis de e-cig podem estar predispostos a desenvolver doença pulmonar mais tarde na vida. Assim, esses achados sugerem que o vaping durante a gravidez é inseguro e aumenta a propensão para doenças pulmonares intersticiais na vida adulta⁽⁶⁴⁾.

Balb /c foram distribuídos aleatoriamente; grupo controle (recebeu ar fresco, sensibilização com ovalbumina (Ova) e desafio salino), grupo E-Cig (recebeu aerossol E-Cig, sensibilização Ova e desafio salino), grupo Ova S/C (recebeu ar fresco, sensibilização Ova e Ova desafio) e grupo E-Cig + Ova S/C. Líquido de lavagem broncoalveolar (BALF) e tecido pulmonar foram avaliados para células inflamatórias e mediadores inflamatórios, respectivamente. A exposição ao aerossol E-Cig aumentou significativamente o número de todos os tipos de células inflamatórias no LBA ($p < 0,05$). Além disso, o aerossol E-Cig reduziu os níveis de fator de crescimento transformador (TGF)- β 1 e metaloproteinase de matriz (MMP)-2 no homogenato de tecido pulmonar ($p < 0,05$). A combinação de aerossol E-Cig e Ova S/C aumentou o recrutamento de células inflamatórias das vias aéreas, especialmente neutrófilos, eosinófilos e linfócitos ($p < 0,05$), aumentou o nível de interleucina (IL)-13 e reduziu o nível de TGF- β 1 ($p < 0,05$). A exposição ao aerossol E-Cig induziu inflamação das vias aéreas em camundongos de controle e modelo murino de asma acionado por alérgenos. A resposta inflamatória induzida pelo E-Cig foi ligeiramente maior no modelo murino de asma induzida por alérgenos do que em animais saudáveis⁽⁶⁵⁾.

JUUL, um sistema eletrônico de entrega de nicotina (ENDS), que apareceu pela primeira vez no mercado dos EUA em 2015, controlou mais de 75% das vendas de ENDS nos EUA em 2018. Os dispositivos do tipo JUUL são atualmente a forma mais comum de ENDS entre os jovens em os EUA. Em contraste com a nicotina de base livre contida nos cigarros e outros ENDS, o JUUL contém altos níveis de sal de nicotina (35 ou 59 mg/mL), cujos efeitos celulares e moleculares nas células pulmonares são amplamente desconhecidos. No presente estudo, avaliamos a toxicidade in vitro dos aerossóis com sabor de crème brûlée JUUL em 2 tipos de linhagens de células epiteliais brônquicas humanas (BEAS-2B,

H292) e uma linha celular de macrófagos murinos (RAW 264.7). Células epiteliais pulmonares humanas e macrófagos murinos foram expostos a aerossóis com sabor de crème brûlée JUUL na interface ar-líquido (ALI) por 1 h, seguido por um período de recuperação de 24 h. Integridade da membrana, citotoxicidade, liberação extracelular de espécies de nitrogênio e espécies reativas de oxigênio, morfologia celular e expressão gênica foram avaliadas. O aerossol com sabor de creme brûlée continha concentrações elevadas de ácido benzóico (86,9 µg /puff), um irritante respiratório bem estabelecido. Em células BEAS-2B, o aerossol sabor crème brûlée diminuiu a viabilidade celular ($\geq 50\%$) e aumentou a produção de óxido nítrico (NO) ($\geq 30\%$), bem como a expressão do gene iNOS. O aerossol com sabor de creme brûlée não afetou a viabilidade das células H292 ou macrófagos RAW, mas aumentou a produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) em $\geq 20\%$ em ambos os tipos de células. Enquanto o aerossol com sabor de crème brûlée não alterou os níveis de NO nas células H292, os macrófagos RAW expostos ao aerossol com sabor de crème brûlée apresentaram diminuição de NO ($\geq 50\%$) e regulação negativa do gene iNOS, possivelmente devido ao aumento de ROS. Além disso, o aerossol com sabor de crème brûlée desregulou a expressão de vários genes relacionados à biotransformação, inflamação e remodelação das vias aéreas, incluindo CYP1A1, IL-6 e MMP12 em todas as 3 linhagens celulares. Nossos resultados indicam que o aerossol com sabor de crème brûlée causa toxicidade celular específica para as células pulmonares. Este estudo contribui para fornecer evidências científicas para a regulamentação de produtos à base de sal de nicotina⁽⁶⁶⁾.

Descobrimos que, para um protocolo fixo de tragadas, é improvável que a forma de nicotina influencie o rendimento em qualquer cenário prático atual (ou seja, níveis reais de energia do usuário). No entanto, embora a forma não afete o rendimento, pode afetar a entrega de nicotina ao sangue. Até o momento, a pesquisa disponível sobre o efeito da forma de nicotina na liberação de nicotina mostra resultados contraditórios, possivelmente devido aos diferentes métodos usados. Além disso, na medida em que a forma da nicotina modifica a experiência sensorial, ela também pode influenciar o comportamento de tragar e inalar e, portanto, a exposição. Por exemplo, estudos anteriores mostraram que

os usuários modificaram seu comportamento de tragam (ou seja, menor duração e volume da tragada) ao usar PG em vez de líquidos à base de VG, provavelmente devido à experiência sensorial. Especulamos que a forma de nicotina pode desempenhar um papel semelhante; por exemplo, os usuários podem diminuir a intensidade da tragada ao usar nicotina de base livre e, assim, obter menos nicotina. Estudos clínicos controlados sobre o impacto da forma no comportamento de fumar e na exposição podem abordar essas questões⁽⁶⁷⁾.

Neste estudo, examinamos sistematicamente o efeito da forma de nicotina no rendimento de nicotina para vários poderes e veículos líquidos. Um ECIG foi usado para gerar aerossóis em potências variadas (5–45 W) a partir de soluções líquidas que continham nicotina de base livre ou protonada em concentração de 15 mg/g, com um veículo líquido consistindo de propilenoglicol (PG) ou glicerina vegetal (VG), resultando em quatro soluções diferentes (base livre/PG, base livre/VG, protonado/PG e protonado/VG). O rendimento de nicotina foi quantificado usando cromatografia gasosa-espectrometria de massa. Os rendimentos de nicotina não foram influenciados pela forma de nicotina em nenhuma condição investigada. Em cada nível de potência, os líquidos à base de PG resultaram em aproximadamente o dobro do rendimento de nicotina dos líquidos à base de VG. As concentrações de nicotina nos aerossóis corresponderam às dos líquidos originais para as condições PG e VG. O aumento da potência levou a um maior rendimento de nicotina em todas as condições. A quantidade de nicotina emitida por um ECIG é independente se a nicotina é de base livre ou protonada, no entanto, o veículo líquido tem um forte efeito no rendimento. Os regulamentos destinados a limitar as emissões de nicotina devem considerar não apenas a concentração de nicotina, mas também o veículo líquido e a potência do dispositivo⁽⁶⁷⁾.

Apesar do uso generalizado de cigarros eletrônicos, também conhecidos como e-cigarros, e dos efeitos cardíacos adversos propostos pela nicotina, os efeitos prejudiciais dos cigarros eletrônicos no coração não são bem conhecidos. Este estudo examina os efeitos prejudiciais dos cigarros eletrônicos com nicotina em doses que produzem nicotina e cotinina circulantes em níveis semelhantes aos encontrados em fumantes habituais e uma dieta rica em gordura (HFD) na

estrutura e função cardíaca em um modelo comumente usado de obesidade induzida por dieta (DIO). Camundongos C57BL/6J em um HFD foram expostos a cigarro eletrônico na presença (2,4% de nicotina) ou ausência (0% de nicotina) de nicotina e aerossol salino por 12 semanas. Os dados ecocardiográficos demonstraram uma diminuição na fração de encurtamento do ventrículo esquerdo (LV), fração de ejeção do VE e velocidade de encurtamento da fibra circunferencial (VCF) em camundongos tratados com cigarro eletrônico (2,4% de nicotina) em comparação com cigarro eletrônico (0% de nicotina) ou camundongos expostos a solução salina. Cardiomiócitos (CMs) de camundongos tratados com Ecigarro (2,4% de nicotina) exibiram anormalidades do VE, incluindo acúmulo de lipídios (esteatose ventricular), desarranjo e destruição miofibrilar e hipertrofia mitocondrial, conforme revelado por microscopia eletrônica de transmissão. Os efeitos prejudiciais dos cigarros eletrônicos (2,4% de nicotina) na estrutura e função cardíaca foram acompanhados por aumento do estresse oxidativo, níveis plasmáticos de ácidos graxos livres, apoptose CM e inativação da proteína quinase ativada por AMP e ativação de seu alvo a jusante, acetil- CoA-carboxilase. Nossos resultados indicam efeitos adversos profundos dos cigarros eletrônicos (2,4% de nicotina) no coração de camundongos obesos e levantam questões sobre a segurança do uso de cigarros eletrônicos com nicotina⁽⁶⁸⁾.

A maioria dos usuários de cigarro eletrônico (e-cigarette) também fuma cigarros de tabaco. Devido à relativa novidade desse hábito, muito pouco se sabe sobre o impacto do vaping na saúde pulmonar, menos ainda sobre as possíveis interações do uso duplo de cigarro eletrônico e cigarro de tabaco. Portanto, usamos modelos de camundongos bem estabelecidos para investigar o impacto da exposição dupla aos vapores do cigarro eletrônico e à fumaça do cigarro na homeostase pulmonar. Grupos de camundongos BALB/c fêmeas foram expostos ao ar ambiente, somente fumaça de tabaco, apenas vapores de cigarro eletrônico sem sabor e sem nicotina ou fumaça de tabaco e vapores de cigarro eletrônico. Além disso, como a fumaça do tabaco e os vapores do cigarro eletrônico afetam os processos circadianos nos pulmões, grupos de camundongos foram sacrificados em dois momentos diferentes durante o dia. Descobrimos que camundongos duplamente expostos tinham expressão

alterada do gene circadiano do pulmão em comparação com camundongos expostos apenas à fumaça do tabaco. Camundongos duplamente expostos também apresentaram frequências diferentes de células dendríticas, macrófagos e neutrófilos no tecido pulmonar em comparação com camundongos expostos apenas à fumaça do tabaco, observação válida também para linfócitos B e linfócitos T CD4+ e CD8+. A exposição aos vapores do cigarro eletrônico também afetou os níveis de imunoglobulinas no lavado broncoalveolar e no soro. Finalmente, o cigarro eletrônico e as exposições duplas aumentaram a resistência das vias aéreas em comparação com camundongos expostos apenas ao ar ambiente ou à fumaça do tabaco, respectivamente. Tomados em conjunto, esses dados sugerem que os vapores do cigarro eletrônico, mesmo sem nicotina ou sabores, podem afetar a forma como os pulmões reagem à exposição à fumaça do cigarro em usuários duplos, alterando potencialmente o curso patológico desencadeado pelo tabagismo. Este estudo mostra claramente que os pulmões de camundongos expostos à fumaça do tabaco e aos vapores do cigarro eletrônico têm características diferentes dos pulmões de camundongos expostos apenas à fumaça do tabaco. Embora os mecanismos biológicos que levam a esse fenômeno ainda não tenham sido identificados, nossas descobertas, juntamente com outras, sustentam que o veículo contido nos cigarros eletrônicos, glicerol e propilenoglicol, não é inerte e pode ter efeitos modificadores da doença em usuários duplos que são fumar e vaporizar⁽⁶⁹⁾.

Cigarros eletrônicos (ECIGs) sempre foram promovidos como alternativas mais seguras aos cigarros combustíveis. No entanto, uma quantidade crescente de literatura mostra que, embora os ECIGs não envolvam substâncias tóxicas derivadas da combustão, a degradação térmica dos principais constituintes do líquido ECIG produz substâncias tóxicas como carbonilas. Neste estudo, relatamos a detecção de compostos fenólicos em aerossóis ECIG usando um novo método analítico. O método introduzido baseia-se na extração líquido-líquido para separar os fenóis dos principais constituintes do aerossol ECIG: propileno glicol (PG) e glicerol vegetal (VG). As emissões de fenol dos ECIGs foram testadas em diferentes potências, durações de sopro, proporções PG/VG, concentrações de benzoato de nicotina e taxas de fluxo para avaliar a influência desses parâmetros operacionais na formação de fenol. As métricas de

desempenho mostraram que o método analítico possui alta especificidade e confiabilidade para separar e quantificar compostos fenólicos em aerossóis ECIG. Aumentar a potência e a duração do sopro aumentou significativamente todas as emissões de fenóis, enquanto a taxa de fluxo não teve efeitos significativos. O perfil de fenol no aerossol ECIG foi dominado pelo fenol não substituído que atingiu níveis comparáveis aos do IQOS, cigarros de combustão e narguilé. Em contraste, baixos níveis de compostos fenólicos mais tóxicos, como catecol e hidroxiquinona, foram quantificados em aerossóis ECIG. A emissão de tóxicos é apresentada, pela primeira vez neste estudo, como o rendimento por unidade de tempo, ou fluxo ($\mu\text{g/s}$), que é mais adequado para comparação interestudos e interprodutos. Este trabalho demonstra um método analítico robusto para isolar e quantificar as emissões de fenóis em aerossóis ECIG. Usando este método, o estudo mostra que os fenóis, que não estão presentes na solução simples de benzoato de nicotina dissolvido em misturas de PG/VG, são formados ao vaporizar. As emissões de fenol são independentes da concentração de benzoato de nicotina, mas significativamente correlacionadas com a razão PG/VG. As emissões aumentaram com a potência e a duração do sopro, de acordo com as condições que levam a uma temperatura mais alta e a uma maior degradação térmica⁽⁷⁰⁾.

O objetivo deste trabalho foi elucidar a geração de carbonilas em relação ao ajuste indevido de energia da bateria. As emissões de carbonila foram geradas por dois cigarros eletrônicos modulares equipados com dois atomizadores contendo bobinas de diferentes resistências seguindo o método ISO 20768:2018. A potência da bateria foi aumentada do nível de potência mais baixo para acima da faixa de potência recomendada pelo produtor. As carbonilas foram capturadas por uma solução de 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) e analisadas por LC-MS/MS. A quantidade de emissões de carbonila aumentou com o aumento do ajuste de potência. Uma inclinação exponencial foi observada quando o nível de potência aplicada excedeu a faixa de potência recomendada. Exceder a faixa de potência recomendada em apenas 5 watts resultou em até vinte vezes a quantidade de carbonilas emitidas no nível de potência superior recomendado. A geração de acetaldeído e acroleína ao lado de outros carbonilos foi proeminente em saídas de alta potência. Os cigarros eletrônicos com

configuração de energia personalizável podem gerar grandes quantidades de carbonilas se a saída de energia da bateria for definida pelo consumidor para níveis acima da faixa recomendada. Isso representa um alto risco de exposição a carbonilas e, portanto, deve ser evitado integrando recursos de segurança em dispositivos de cigarro eletrônico para limitar as possíveis configurações de energia ao intervalo especificado pelo fabricante⁽⁷¹⁾.

O estudo demonstrou que a configuração de potência do cigarro eletrônico tem um impacto significativo nas emissões de carbonila, que podem aumentar exponencialmente quando o dispositivo é operado acima da faixa de potência especificada pelo fabricante. Ambos os dispositivos testados são compatíveis com vários atomizadores com diferentes configurações de potência recomendadas. Não é improvável que os usuários confundam as configurações de energia para diferentes atomizadores ou as alterem accidentalmente. Portanto, a integração de recursos de segurança deve ser considerada para dispositivos de cigarro eletrônico com configurações de energia personalizáveis, a fim de evitar a ultrapassagem da faixa de energia recomendada do atomizador instalado⁽⁷¹⁾.

Nossas descobertas demonstram que na faixa mais alta de temperaturas operacionais do cigarro eletrônico, a decomposição do acetato de vitamina E ocorrerá na fase gasosa, produzindo níveis nocivos de ceteno. No entanto, sob a operação normal do cigarro eletrônico, a decomposição da fase gasosa é insignificante. Não podemos, no entanto, descartar que a decomposição catalítica do VEA possa produzir ceteno nessas temperaturas. A catálise da decomposição do VEA pelo elemento de aquecimento e por outros compostos no vapor, entretanto, requer uma investigação mais aprofundada. Os resultados apresentados aqui nos levam a propor que o EVALI está associado tanto à contaminação por acetato de vitamina E quanto às altas temperaturas de operação do cigarro eletrônico. Essas temperaturas são encontradas em baixos níveis de líquido em dispositivos vaping mal controlados que não ajustam o fornecimento de aquecimento para taxas de entrega de líquido mais baixas. Nos casos mais extremos, os e-líquidos podem ser vaporizados a temperaturas muito altas ($> 1000^{\circ}\text{C}$), o que os usuários chamam de golpes secos. Já foi

demonstrado anteriormente que golpes secos resultam na decomposição de e-líquidos em aldeídos e, coloquialmente, são conhecidos por fornecer um pulso de gases queimados desagradáveis. Mesmo fora dessas condições extremas, a operação incorreta, o controle automático inadequado ou um dispositivo defeituoso também podem ser responsáveis pela vaporização do e-líquido bem acima da temperatura operacional desejada⁽⁷²⁾.

As informações clínicas e epidemiológicas sobre EVALI estão se acumulando rapidamente. Felizmente, os casos relatados desta doença estão diminuindo, provavelmente devido em parte às ações para remover o VEA dos e-líquidos. Não temos conhecimento, no entanto, de quaisquer dados sobre a correlação de EVALI com condições de vaping. Este trabalho destaca a necessidade de rastrear a associação de EVALI com condições de vaping (como o tipo de dispositivo e o nível de enchimento do líquido), a fim de atribuir corretamente as causas dessa doença e garantir que ela não reapareça. Estudos experimentais sobre a cinética da pirólise do VEA também são necessários, tanto na fase gasosa quanto em superfícies potencialmente catalíticas, como elementos de aquecimento. Por fim, este trabalho fornece uma estrutura para simular a formação de produtos nocivos do uso de cigarros eletrônicos e identifica o efeito substancial que a temperatura operacional pode ter na formação de produtos de pirólise nocivos⁽⁷²⁾.

O acetato de vitamina E (VEA) está fortemente ligado ao surto de lesão pulmonar associada ao uso de cigarro eletrônico ou produto vaping (EVALI). Foi proposto que a decomposição do VEA em ceteno – um veneno respiratório que danifica os pulmões em níveis baixos de ppm – pode desempenhar um papel na EVALI. No entanto, não há informações disponíveis sobre a temperatura na qual o VEA se decompõe e como isso se correlaciona com o processo de vaping. Estudamos a cinética dependente da temperatura da decomposição do VEA usando química quântica e técnicas de modelagem mecânica estatística, desenvolvendo um modelo cinético químico do processo de vaping. Este modelo prevê que, em condições típicas de vaping, é improvável que o uso de produtos de cigarro eletrônico contaminados com VEA produza ceteno em níveis prejudiciais. No entanto, nas altas temperaturas encontradas em níveis baixos de produtos de

cigarro eletrônico, que produzem 'golpes secos', prevê-se que as concentrações de ceteno atinjam níveis altamente tóxicos nos pulmões (até 30 ppm). Portanto, levantamos a hipótese de que o vaping seco de produtos de cigarro eletrônico contendo VEA contribui para EVALI⁽⁷²⁾.

Nossas descobertas demonstram que na faixa mais alta de temperaturas operacionais do cigarro eletrônico, a decomposição do acetato de vitamina E ocorrerá na fase gasosa, produzindo níveis nocivos de ceteno. No entanto, sob a operação normal do cigarro eletrônico, a decomposição da fase gasosa é insignificante. Não podemos, no entanto, descartar que a decomposição catalítica do VEA possa produzir ceteno nessas temperaturas. A catálise da decomposição do VEA pelo elemento de aquecimento e por outros compostos no vapor, entretanto, requer uma investigação mais aprofundada. Os resultados apresentados aqui nos levam a propor que o EVALI está associado tanto à contaminação por acetato de vitamina E quanto às altas temperaturas de operação do cigarro eletrônico. Essas temperaturas são encontradas em baixos níveis de líquido em dispositivos vaping mal controlados que não ajustam o fornecimento de aquecimento para taxas de entrega de líquido mais baixas. Nos casos mais extremos, os e-líquidos podem ser vaporizados a temperaturas muito altas ($> 1000^{\circ}\text{C}$), o que os usuários chamam de golpes secos. Já foi demonstrado anteriormente que golpes secos resultam na decomposição de e-líquidos em aldeídos e, coloquialmente, são conhecidos por fornecer um pulso de gases queimados desagradáveis. Mesmo fora dessas condições extremas, a operação incorreta, o controle automático inadequado ou um dispositivo defeituoso também podem ser responsáveis pela vaporização do e-líquido bem acima da temperatura operacional desejada⁽⁷³⁾.

As informações clínicas e epidemiológicas sobre EVALI estão se acumulando rapidamente. Felizmente, os casos relatados desta doença estão diminuindo, provavelmente devido em parte às ações para remover o VEA dos e-líquidos. Não temos conhecimento, no entanto, de quaisquer dados sobre a correlação de EVALI com condições de vaping. Este trabalho destaca a necessidade de rastrear a associação de EVALI com condições de vaping (como o tipo de dispositivo e o nível de enchimento do líquido), a fim de atribuir corretamente as

causas dessa doença e garantir que ela não reapareça. Estudos experimentais sobre a cinética da pirólise do VEA também são necessários, tanto na fase gasosa quanto em superfícies potencialmente catalíticas, como elementos de aquecimento. Por fim, este trabalho fornece uma estrutura para simular a formação de produtos nocivos do uso de cigarros eletrônicos e identifica o efeito substancial que a temperatura operacional pode ter na formação de produtos de pirólise nocivos⁽⁷³⁾.

O acetato de vitamina E (VEA) está fortemente ligado ao surto de lesão pulmonar associada ao uso de cigarro eletrônico ou produto vaping (EVALI). Foi proposto que a decomposição do VEA em ceteno – um veneno respiratório que danifica os pulmões em níveis baixos de ppm – pode desempenhar um papel na EVALI. No entanto, não há informações disponíveis sobre a temperatura na qual o VEA se decompõe e como isso se correlaciona com o processo de vaping. Estudamos a cinética dependente da temperatura da decomposição do VEA usando química quântica e técnicas de modelagem mecânica estatística, desenvolvendo um modelo cinético químico do processo de vaping. Este modelo prevê que, em condições típicas de vaping, é improvável que o uso de produtos de cigarro eletrônico contaminados com VEA produza ceteno em níveis prejudiciais. No entanto, nas altas temperaturas encontradas em níveis baixos de produtos de cigarro eletrônico, que produzem 'golpes secos', prevê-se que as concentrações de ceteno atinjam níveis altamente tóxicos nos pulmões (até 30 ppm). Portanto, levantamos a hipótese de que o vaping seco de produtos de cigarro eletrônico contendo VEA contribui para EVALI⁽⁷³⁾.

Aproximadamente 15% das mulheres grávidas vaporizam cigarros eletrônicos (e-cigarros), expondo o feto a uma variedade de compostos tóxicos, incluindo nicotina e subprodutos da pirólise do líquido (e-líquido) do cigarro eletrônico. Devido ao recente surgimento desses produtos, a pesquisa se concentra principalmente nos usuários imediatos e não na exposição in utero. Portanto, este estudo teve como objetivo compreender o impacto da exposição intrauterina ao vapor do cigarro eletrônico (e-vapor), com e sem nicotina, nos marcadores metabólicos hepáticos na prole masculina. O vapor eletrônico foi gerado usando um cigarro eletrônico preenchido com e-líquido com sabor de tabaco (18 ou

0mg/mL de nicotina). Camundongos Balb/c fêmeas foram expostos ao e-vapor por 6 semanas antes do acasalamento, durante a gestação e lactação, sem exposição direta à prole. Fígados e plasma de mães e filhotes machos (13 semanas de idade) foram examinados. A exposição ao e-vapor livre de nicotina promoveu alterações metabólicas e danos hepáticos tanto nas mães quanto em seus descendentes. Além disso, a exposição ao e-vapor contendo nicotina não causou dano hepático, mas induziu a esteatose hepática na prole adulta. Portanto, o vaping materno é prejudicial tanto para as mães quanto para seus filhos, com a nicotina proporcionando um potencial efeito protetor. A exposição direta e in utero ao e-vapor pode levar a distúrbios hepáticos e metabólicos. Além disso, as potenciais propriedades anti-inflamatórias da nicotina podem ter um efeito protetor sobre esses resultados adversos. No entanto, a dose de nicotina usada neste estudo foi baixa (equivalente a fumantes leves), e estudos futuros podem examinar doses mais altas de e-vapor ou nicotina para representar fumantes pesados. De maneira mais geral, nossos resultados são consistentes com a recomendação de que mulheres grávidas devem evitar o uso de cigarros eletrônicos, independentemente da concentração de nicotina, para reduzir o possível risco de distúrbios hepáticos e metabólicos⁽⁷⁴⁾.

O uso de sistemas eletrônicos de entrega de nicotina (ENDS), também conhecidos como cigarros eletrônicos (e-cigs), levantou sérias preocupações de saúde pública, especialmente à luz do surto de 2019 de lesão pulmonar aguda associada ao uso de e-cig ou produto vaping (EVALI). Embora esses casos tenham sido em sua maioria vinculado a ENDS que contêm acetato de vitamina E, há pesquisas limitadas que se concentraram nos efeitos pulmonares crônicos dos veículos de entrega (ou seja, sem nicotina e aromatizante). Assim, investigamos a função pulmonar e as respostas imunes em um modelo de camundongo após a exposição aos quase onipresentes veículos de entrega de e-cig, glicerina vegetal (VG) e propilenoglicol (PG), usados com uma proporção específica de 70%/30%, com ou sem aroma de baunilha. Nossa hipótese é que camundongos expostos de forma subaguda a esses aerossóis de e-cig exibiriam inflamação pulmonar e função pulmonar alterada. Camundongos C57BL/6 fêmeas adultas (n = 11–12 por grupo) foram expostos a ar filtrado, 70%/30% VG/PG ou 70%/30% VG/PG com aroma de baunilha francesa por 2 ha por dia

durante 6 semanas. Antes do sacrifício, a função pulmonar foi avaliada. No sacrifício, o líquido da lavagem broncoalveolar e o tecido pulmonar foram coletados para análise de mediadores lipídicos, citometria de fluxo, histopatologia e análises de expressão gênica. Exposições a VG/PG + aerossol de e-cig de baunilha aumentaram os volumes corrente e minuto do pulmão e o amortecimento dos tecidos. A imunofenotipagem das células imunes do pulmão revelou um número aumentado de células dendríticas, células T CD4+ e células B CD19+ no grupo exposto a VG/PG em comparação com o ar, independentemente da presença de aromatizante de baunilha. A quantificação de lipídios pulmonares bioativos demonstrou um aumento >3 vezes de 2-araquidonoilglicerol (2-AG), um mediador anti-inflamatório, e um aumento de 2 vezes de ácido 12-hidroxieicosatetraenoico (12-HETE), outro mediador inflamatório, após Exposição VG/PG, com ou sem aroma de baunilha. Isso sugere que os veículos de aerossol e-cig podem ser moléculas imunorreguladoras ECT. Também descobrimos que os dois aerossóis de e-cig desregulavam a expressão de genes pulmonares. A Ingenuity Pathway Analysis revelou que as redes de genes desreguladas pelo aerossol VG/PG e-cig estão associadas ao metabolismo de proteínas e lipídios celulares. No geral, nossos achados demonstram que VG e PG, os principais constituintes das formulações de e-líquidos, quando aerossolizados por meio de um dispositivo de e-cig, não são inofensivos para os pulmões, pois perturbam a homeostase imunológica⁽⁷⁵⁾.

Nitrosaminas e outros produtos químicos cancerígenos na fumaça do cigarro e no vapor do cigarro eletrônico podem desempenhar um papel fundamental em cânceres relacionados, que se tornaram uma das principais causas de morte e doença. Os resultados descritos acima mostram que na presença de Cu²⁺ e NADPH os metabólitos das nitrosaminas NNK e NNN são capazes de gerar níveis significativos de oxidação do DNA, em taxas 4 vezes maiores em nossos ensaios do que as do 4-aminobifenil genotóxico. As enzimas microssomais pulmonares deram as maiores taxas de oxidação do DNA aqui; o pulmão é a principal via de exposição para produtos de fumar e vaping, e o tecido pulmonar contém uma quantidade significativa de cobre. Relevante para a atual crise de saúde envolvendo usuários de cigarros eletrônicos, o vapor dos cigarros eletrônicos contém níveis 6 vezes mais altos de Cu do que aqueles de fumaça

de cigarro,⁵⁹ o que poderia aumentar as taxas de dano ao DNA. Os metabólitos NNK e NNN facilitam a produção de 1O₂, OH[•] e H₂O₂ com Cu²⁺ e NADPH presentes, representando a primeira evidência química de que a produção de ROS e a oxidação do DNA podem ser facilitadas por eles. Possíveis vias metabólicas dos metabólitos NNK e NNN para produção de ROS e oxidação do DNA são sugeridas aqui pela primeira vez⁽⁷⁶⁾.

Os metabólitos de nitrosamina resultantes do tabagismo e do cigarro eletrônico (E-cig) vaping causam danos ao DNA que podem levar à genotoxicidade. Embora os adutos de DNA de metabólitos de nitrosaminas 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanona (NNK) e N-nitrosonornicotina (NNN) sejam biomarcadores de câncer relacionados ao tabaco bem conhecidos, apenas alguns estudos implicam NNN e NNK na oxidação do DNA em humanos. NNK e NNN foram encontrados na urina de usuários de cigarros eletrônicos que nunca fumaram cigarros. Este artigo propõe as primeiras vias químicas de oxidação do DNA conduzidas pelos metabólitos NNK e NNN em reações redox com Cu²⁺ e NADPH levando a espécies reativas de oxigênio (ROS). Uma matriz microfluídica com filmes finos de DNA e enzimas metabólicas que produzem metabólitos de NNN e NNK na presença de Cu²⁺ e NADPH foi usada para estimar as taxas relativas de oxidação do DNA. A detecção por eletroquimioluminescência (ECL) empregou um novo corante ECL [Os (tpy - benz -COOH)2]2+ que é seletivo e sensível ao produto primário da oxidação do DNA 8-oxo-7,8-dihidro-2-desoxiguanosina (8-oxodG) no DNA. Filmes de enzima-DNA em esferas magnéticas foram usados para produzir metabólitos de nitrosamina que entram em ciclos redox formadores de ROS com Cu²⁺ e NADPH, e cromatografia líquida-espectrometria de massa (LC-MS) foi usada para quantificar 8-oxodG e identificar metabólitos. ROS foram detectados por sensores ópticos. Metabólitos de NNK e NNN + Cu²⁺ + NADPH geraram taxas relativamente altas de oxidação do DNA. O pulmão é a rota de exposição ao fumar e vaporizar, o tecido pulmonar humano contém Cu²⁺ e NADPH, e as enzimas microssomais pulmonares apresentaram as maiores taxas de oxidação do DNA neste estudo. Além disso, o vapor do cigarro eletrônico contém 6 vezes mais cobre do que a fumaça do cigarro, o que pode exacerbar a oxidação do DNA⁽⁷⁶⁾.

A fumaça do tabaco induziu um aumento significativo e substancial na citotoxicidade, mutagenicidade e genotoxicidade em todas as células testadas. Para aerossóis de EVP, houve citotoxicidade reduzida em comparação com a exposição à fumaça de cigarro, mas nenhuma resposta mutagênica ou genotóxica foi observada quando os aerossóis de EVP ou e-líquidos foram testados. Os dados apresentados contribuem para o crescente corpo de evidências científicas que apóiam o papel potencial desses EVPs de alta qualidade como ferramentas de redução de danos para fumantes adultos⁽⁷⁷⁾.

O uso de produtos eletrônicos vaping (EVPs) continua a aumentar em todo o mundo entre os fumantes adultos, paralelamente ao acúmulo de informações sobre sua potencial toxicidade e segurança relativa em comparação com a fumaça do tabaco. Neste momento, as avaliações *in vitro* de muitos EVPs amplamente disponíveis são limitadas. Neste estudo, uma bateria *in vitro* de ensaios estabelecidos foi usada para examinar as respostas citotóxicas (absorção de vermelho neutro), genotóxicas (micronúcleo *in vitro*) e mutagênicas (mutação bacteriana reversa) de duas EVPs comerciais quando comparadas à fumaça de um cigarro de referência (3R4F). No total, 12 produtos comerciais foram testados como e-líquidos e aerossóis. Além disso, dois líquidos de base experimentais contendo 1,2% e 2,4% de nicotina também foram avaliados para determinar o efeito do sabor e da nicotina em todos os três ensaios. Nos ensaios de mutação reversa bacteriana (Ames) e micronúcleo *in vitro* (IVM), as exposições a e-líquidos e aerossóis EVP, com e sem nicotina e em uma variedade de aromas, não mostraram efeitos mutagênicos ou genotóxicos em comparação com a fumaça do tabaco. O ensaio de captação de vermelho neutro (NRU) mostrou citotoxicidade significativamente reduzida ($P < 0,05$) para aerossóis inteiros não diluídos de EVP em comparação com a fumaça do tabaco, que, por outro lado, foi marcadamente citotóxica mesmo quando diluída. As respostas toxicológicas *in vitro* reduzidas dos EVPs aumentam o crescente corpo de evidências científicas que apóiam o papel dos EVPs de alta qualidade como uma ferramenta de redução de danos para fumantes adultos⁽⁷⁷⁾.

O uso de cigarro eletrônico (e-cigarette) cresceu substancialmente desde o início, principalmente entre adolescentes e usuários de tabaco combustível. Vários constituintes da fumaça do cigarro com efeito neurovascular conhecido estão presentes nos líquidos dos cigarros eletrônicos ou são formados durante a geração de vapor. O presente estudo estabelece modelos inalados de uso de cigarros e cigarros eletrônicos com entrega normalizada de nicotina e, em seguida, caracteriza o impacto na função da barreira hematoencefálica. O sequenciamento do RNA de microvasos após a exposição revelou a regulação negativa de vários genes com papéis críticos na função blood-brain barrier (BBB). A expressão proteica reduzida de Occludin e Glut1 também é observada na junção apertada em todos os grupos após a exposição. Alterações pró-inflamatórias na interação leucócitos-células endoteliais também são observadas, e camundongos expostos a cigarros eletrônicos sem nicotina prejudicaram o desempenho de reconhecimento de novos objetos. Com base nisso, conclui-se que o uso prolongado de cigarros eletrônicos pode afetar adversamente a saúde neurovascular. Os efeitos observados são parcialmente independentes do conteúdo de nicotina e a nicotina pode até servir para moderar os efeitos de componentes não nicotínicos na barreira hematoencefálica⁽⁷⁸⁾.

Questão 3

Qual a toxicidade da nicotina, especialmente das novas formas (saís de nicotina), utilizadas nos DEFs?

A nicotina é o alcalóide do tabaco mais abundante, compondo cerca de 95% do teor de alcalóides dos cigarros de tabaco combustível e 1,5% em peso no tabaco de cigarro. O conteúdo de nicotina de E-líquidos comercialmente disponíveis varia de baixo a alto (geralmente 0,3 a 5% em volume). Na ativação do DEF, a nicotina é liberada do E-líquido em partículas de aerossol ou volatilizadas em nicotina em fase gasosa, que são então inaladas. A nicotina ligada a partículas pode ser depositada nos pulmões, onde se espera que seja rapidamente absorvida pela circulação venosa pulmonar, ou evapore em partículas no impacto na boca e parte superior das vias aéreas sendo absorvida na circulação, mas de forma mais lenta do que nos pulmões⁽³⁾.

A quantidade de nicotina administrada e a forma como é administrada influencia a dependência de um produto do tabaco, e seu abuso aumenta quanto maior for a oferta, a velocidade de absorção e maiores concentrações de nicotina no sangue, quando altos níveis de nicotina atingem o cérebro em cerca de 15 segundos após uma tragada em um cigarro de tabaco combustível⁽³⁾.

A nicotina é fornecida a partir de cigarros eletrônicos através da via pulmonar de uma maneira muito semelhante à dos cigarros de tabaco combustível; cigarros eletrônicos podem fornecer níveis de nicotina comparáveis aos cigarros de tabaco combustíveis; e o perfil de nicotina plasmática pode ser semelhante à de fumantes de cigarro de tabaco combustível⁽³⁾.

A ação da nicotina leva à liberação de dopamina que é associada ao prazer e supressão do apetite, também na recompensa induzida por drogas. Outros efeitos comportamentais induzidos pela nicotina são mediados por uma variedade de neurotransmissores que são também liberados, incluindo a norepinefrina (excitação, supressão do apetite), a acetilcolina (excitação, melhoria cognitiva), a serotonina (modulação do humor, supressão do apetite), o ácido g-aminobutírico (redução da ansiedade e tensão), glutamato (aprendizagem, aumento da memória) e endorfinas (redução da ansiedade e tensão). Uma característica importante da dependência de nicotina é o surgimento de sintomas de abstinência na cessação de sua administração e a tolerância à nicotina se desenvolve para alguns em repetida exposição. Sintomas de intoxicação por nicotina incluem náuseas e vômitos, diarreia, aumento da salivação e secreções respiratórias, bradicardia, convulsões e depressão respiratória. O desenvolvimento de tolerância à nicotina com administrações repetidas diminui o risco de toxicidade aguda⁽³⁾.

Um dos principais ingredientes dos E-líquidos dos DEFs é a nicotina. A nicotina é uma base fraca e em seu estado ionizado, como em ambientes ácidos, a nicotina não atravessa rapidamente as membranas. O pH da fumaça curada pela combustão do tabaco encontrado na maioria dos cigarros

é ácido (pH 5,5-6,0). Quando a fumaça do tabaco atinge as pequenas vias aéreas e alvéolos do pulmão, a nicotina é rapidamente absorvida, provavelmente porque a dissolução da nicotina ocorre no fluido (pH 7,4) no pulmão humano, o que facilita a transferência através das membranas. A nicotina se liga aos receptores nicotínicos de acetilcolina (nAChRs) presentes no sistema nervoso central e periférico, bem como a vários outros órgãos. Os nAChRs são canais de íons controlados por ligante que açãoam a liberação de neurotransmissores, incluindo dopamina, que induz um comportamento recompensador. Esses receptores também são expressos por células endoteliais, epiteliais pulmonares, imunológicas e musculares. Um cigarro tradicional contém 10-14 mg de nicotina e fornece aproximadamente 2 mg de nicotina para o usuário. O conteúdo de nicotina varia em E-líquidos, em concentrações entre 16 e 24 mg/mL. Em 2015, um dispositivo de cigarro eletrônico ultra portátil chamado JUUL foi lançado. Um pod JUUL contém a mesma quantidade de nicotina que até dois maços de cigarros. Alguns desses cigarros eletrônicos mais recentes contêm uma base de nicotina e um ácido orgânico fraco (por exemplo, ácido benzóico) que forma um sal de nicotina, uma vez que o dispositivo é ativado. Sais de nicotina são mais toleráveis para os pulmões quando inalado, levando ao fornecimento de concentrações mais altas de nicotina. É possível então que os usuários desses produtos obtenham ainda mais nicotina do que o tabaco tradicional de um cigarro. Por esta razão, bem como seu design compacto e pequeno, houve um aumento dramático na utilização do JUUL, principalmente pelos jovens, desde a sua introdução no mercado. Atualmente, JUUL é a marca mais popular de e-cigarros na América do Norte, responsável por mais de 70% do E-cigarro do mercado nos EUA⁽²⁰⁾.

Os cigarros eletrônicos são projetados para fornecer nicotina em aerossol para o usuário. Porque a dependência no tabaco é produzida principalmente através dos efeitos farmacológicos da nicotina, a compreensão farmacológica da nicotina, concentração de nicotina em líquidos e aerossóis de E-cigarros comerciais, exposição sistêmica à nicotina entre os usuários e fatores que

podem afetar a exposição à nicotina, são essenciais para compreender o potencial de dependência de E-cigarros, e seu impacto à saúde ⁽³⁾.

Embora alguns E-cigarros/E-líquidos não contenham nicotina, a maioria contém, e seu conteúdo nos DEFs é variável, mas a concentração de nicotina nos E-líquidos pode ser um determinante da exposição sistêmica à nicotina. A forma como a concentração da nicotina é relatada nos rótulos dos produtos ou nos estudos pode ser qualitativa (por exemplo, zero, baixo, médio, alto, super alto) ou quantitativa [como quantidade por cartucho (mg), porcentagem por volume (por exemplo, 2,4 por cento de nicotina), concentração (mg/ml), ou quantidade de nicotina por quantidade de e-líquido (μ g /mg ou mg / g)]. Os níveis de nicotina em E-líquidos podem variar com um intervalo de 0 a 150mg/ml, e a concentração medida pode atingir 107% do conteúdo do E-líquido ⁽³⁾.

A concentração de nicotina nas emissões do cigarro eletrônico é um determinante importante da exposição sistêmica à nicotina, e características dos DEFs que permitem alterar a concentração de nicotina disponível no aerossol também afetam a atitude abusiva frente aos cigarros eletrônicos. Avaliar os dados de estudos que relatam as quantidades de nicotina no aerossol de DEFs nos obriga a entender que a unidade de medida de nicotina no aerossol varia entre os estudos, podendo incluir a quantidade em um certo número de puffs (por exemplo, 100 ou 150 puffs) ou a quantidade por volume de ar (por exemplo, emissão em mg/100 ml ou mg/m³), lembrando que a distribuição de nicotina não é consistente em todos os produtos. Por exemplo: estudo avaliando a nicotina em DEFs (Polônia, Reino Unido e EUA) identificou que a concentração nos cartuchos variava de 0,3 a 19 mg, no aerossol de 0,5 a 15,4 mg por série de 300 tragadas, e de 21% a 85% no aerossol da nicotina presente no cartucho. Além disso há variação na comparação da oferta de nicotina entre vários DEFs e cigarros convencionais, sob padronização de concentração de nicotina, por exemplo de 18 mg/ml sob desempenho dos DEFs em 4,0 V (5,7 W), que permite identificar que a

nicotina média por tragada do cigarro de tabaco combustível varia de 0,171 mg a 0,193 mg, e do E-cigarro de 0,049 mg a 0,053 mg. Então, apesar da oferta de nicotina por DEFs com potência de 5,7W ser menor da de cigarros convencionais a partir de concentrações semelhantes de nicotina, sabe-se que essa oferta pelos DEFs pode ser muito maior à medida que se aumente a potência utilizada pelo dispositivo, ou a duração ou velocidade do puff (comportamento do usuário). Estudo avaliando a influência da duração e velocidade do puff, bem como potência do dispositivo e a concentração da nicotina nas emissões derivadas da máquina de vaporização de cigarros eletrônicos descobriu que o rendimento de nicotina varia em mais de 50 vezes entre as diferentes condições, de 0,11 mg a 4,70 mg de nicotina em 15 tragadas. Este estudo mostrou que a concentração de nicotina em aerossóis de cigarros eletrônicos é determinada pelas características do cigarro eletrônico e pelo comportamento do usuário ⁽³⁾.

A nicotina é uma base fraca (pH: 8,5), e sua absorção e excreção depende do pH. Em ambientes ácidos, a nicotina está em seu estado protonado e não cruza membranas rapidamente. Por exemplo, a fumaça de cigarros curados (a forma mais comum) tem pH variando de 5,5 a 6,0, resultando em nicotina na forma protonada. O pH de E-líquidos e suas implicações para a absorção de nicotina e os efeitos farmacológicos dos cigarros eletrônicos também podem depender do pH no aerossol, e a avaliação de pods (cartuchos) de E-líquidos de recarga demonstrou variação de 5,1 a 9,9. A nicotina não protonada foi considerada responsável por 18 a 95% da nicotina total, dependendo do produto em questão e do pH. O sabor de aditivos em E-líquidos provavelmente afetam o pH dos DEFs, e em estudo se encontrou taxas elevadas de absorção de nicotina e concentração máxima de nicotina no plasma quando os participantes usaram um e-líquido de morango (18 mg/ml de nicotina, 50/50 glicerol/PG, pH 8,29) em comparação com um e-líquido de tabaco (18 mg/ml nicotina, glicerol / PG 50/50, pH 9,10). Após 15 tragadas (inter puff de 30 segundos) com o mesmo E-cigarro em dias separados, as áreas sob a curva de concentração de nicotina no plasma-

tempo (AUC) foram 17 a 23% maiores e a concentração plasmática máxima de nicotina foi 22% maior com o E-líquido de morango menos básico em comparação com o tabaco ⁽³⁾.

Quase todos os e-cigarros usam solventes como PG e glicerol como compostos transportadores no aerossol. No entanto, novos cigarros eletrônicos estão sendo desenvolvido que não contém glicerol ou PG, mas contém base de nicotina e um ácido orgânico fraco que forma um sal de nicotina. Um exemplo é o JUUL, no E-líquido (pods pré-carregados) do qual se encontram ácido benzóico e nicotina em uma razão de concentração de $44,8 \pm 0,6$ e $61,6 \pm 1,5$ mg/ml, respectivamente. Outro DEF novo denominado de P3L equipado com pods contendo base de nicotina e ácido láctico em cavidades separadas, e na ativação e aquecimento controlado, o sal de nicotina (lactato de nicotina) é liberado como um aerossol. Em um estudo clínico, as concentrações de nicotina plasmática máxima do uso de três formulações de P3L, a saber, 50, 80 e 150 μ g/puff, foram 9.7; 11.2 e 9.8ng/ml, respectivamente. Há evidências de que o uso de cigarro eletrônico resulta em sintomas de dependência, e que a nicotina desempenha papel importante nessa dependência ⁽³⁾.

Os cigarros eletrônicos JUUL têm uma fração muito baixa de nicotina livre na cápsula do E-líquido e no aerossol em comparação com outros tipos de E-cigarros (cerca de 5% -6% de nicotina livre em comparação com 13% -95%, respectivamente), mas um alto teor de nicotina total na forma de sal de benzoato, cuja formulação garante a entrega de altas doses de nicotina em uma forma de pH baixo, que é menos agressiva em comparação com a nicotina de pH mais alto encontrada na maioria das outras marcas de cigarros eletrônicos, apoiando assim uma inalação mais profunda pelos consumidores. O nível de exposição à nicotina em 38 adolescentes (medido por cotinina urinária) usando cigarros de base foi maior (245 μ g / L [para converter em nanomoles por litro, multiplicar por 5,675]) do que os níveis detectados em adolescentes fumantes regulares de cigarro (155 μ g / mL).

Adolescentes que usam cigarros eletrônicos baseados em cápsulas eram mais prováveis do que outros usuários de cigarros eletrônicos, vaporizam diariamente e mostram maiores sintomas de dependência de nicotina. Por exemplo, uma pesquisa com 517 usuários de cigarros eletrônicos com idades entre 12 e 21 anos descobriu que mais usuários de cigarros eletrônicos baseados em cápsulas foram categorizados como usuários diários em comparação com outros usuários de cigarros eletrônicos, com 76% dos usuários de cigarros eletrônicos baseados em cápsulas relatando o uso no dia anterior (vs 30% entre outros usuários de cigarros eletrônicos). Estudo observacional realizado entre usuários de cigarros eletrônicos de 13 a 18 anos (N = 173) descobriram que a proporção de usuários de cigarros eletrônicos que relataram JUUL como seu dispositivo mais comum aumentou de 22% em linha de base para 48% em um período de 12 meses. Uma análise das emissões de aerossol descobriu que, em comparação com outras formas de e-cigarros e cigarros, JUUL tinha níveis mais baixos de certos constituintes nocivos, como benzeno, compostos orgânicos voláteis, radicais livres, carbonilas, formaldeído e total aldeídos. No entanto, 1 estudo descobriu que os E-líquidos JUUL tinham uma associação citotóxica com células epiteliais de pulmão humano examinadas *em vitro* ⁽⁷⁹⁾.

Estudamos os efeitos do vapor do cigarro eletrônico na mucina (MUC5AC e MUC5B) e a mudança de MUC5AC e MUC5B do líquido do cigarro eletrônico com ou sem nicotina nas células epiteliais respiratórias. Os efeitos do vapor do cigarro eletrônico com ou sem nicotina na mucina, juntamente com as vias de sinalização envolvidas, foram investigados usando reação em cadeia da polimerase com transcriptase reversa (PCR), PCR em tempo real, imunoensaios enzimáticos e análise de immunoblot com vários inibidores específicos e pequeno RNA interferente. Vapor de cigarro eletrônico com ou sem expressão de MUC5AC estimulada por nicotina, mas não MUC5B, em células epiteliais respiratórias. Além disso, mostramos que o vapor do cigarro eletrônico com e sem nicotina induziu a expressão de MUC5AC via ativação da proteína quinase ativada por mitógeno (MAPK; quinase regulada por sinal extracelular [ERK] 1/2 e p38) e fator nuclear kappa-luz- intensificador de cadeia de vias de sinalização

de células B ativadas (NF-κB) em células epiteliais das vias aéreas humanas. Vapor de cigarro eletrônico com e com nicotina aumentou significativamente a expressão de MUC5AC em células epiteliais das vias aéreas humanas⁽⁸⁰⁾.

Questão 4

Qual a toxicidade das substâncias ou plantas ilícitas, que podem ser utilizadas por meio dos DEF?

A Cannabis sativa é uma planta com flor nativa da Ásia oriental, mas agora é cultivada em todo o mundo devido ao seu uso industrial generalizado. O cânhamo ou cânhamo industrial, é uma das cepas da planta Cannabis sativa, que tem uma baixa concentração de Tetraidrocannabinol (THC) e alta concentração de Canabidiol (CBD), e a maconha é outra cepa de Cannabis sativa, mas que tem uma concentração maior de THC e uma concentração mais baixa de CBD. O CBD é um canabinóide não psicotrópico e o THC é o canabinóide psicoativo. Os canabinoides estão sendo consumidos em formulações variadas, e vaporizar é um método de oferta que tem sido cada vez mais usado nos últimos tempos. Vaping é definido como o processo de inalar o vapor produzido por DEF (E-cigarro ou dispositivo similar). Cigarros eletrônicos ou dispositivos de vaporização são usados para fumar nicotina, canabinoides (CBD/THC), agentes aromatizantes, produtos químicos e outras substâncias de interesse dos consumidores.

O dispositivo de vaporização consiste em um cartucho de vapor contendo o material desejado na forma líquida (nicotina ou canabinóides) junto com um bocal, bateria e um aquecedor componente que converte o líquido no cartucho a uma forma de vapor facilitando a inalação. Há vários tipos de cartuchos de vaporização de Cannabis em uma combinação de CBD e THC em diferentes definições individuais, e junto com o Terpeno. Os Terpenos são hidrocarbonetos compostos encontrados naturalmente na essência das plantas e que auxiliam na melhor absorção do CBD e do THC causando um efeito somatório, inclusive de realce do sabor. No entanto, os Terpenos no extrato de Cannabis quando aquecidos a altas temperaturas durante o processo de vaporização se

degradada em metacroleína e benzeno, que são conhecidos por causar lesão pulmonar aguda e edema levando a insuficiência respiratória. O óleo do CBD/THC usado nos cartuchos de vaporização também combinados, e na dependência do tipo de solvente de extração usado (butano, propano, etanol, e dióxido de carbono), podem produzir substâncias prejudiciais. A Cannabis extraída com óleo de butano é chamada de óleo de hash de butano (BHO), contém uma concentração muito alta de THC em 80% em comparação com apenas 10% a 25% com outros métodos de extração. No entanto, fumar BHO contendo óleo de butano foi associado a insuficiência respiratória aguda requerendo assistência ventilatória. Há outros casos relatados como de pneumonite e insuficiência respiratória secundária ao uso de Cannabis processado de BHO. O acetato de vitamina E (outro aditivo adicionado comumente a cigarros à base de THC ou produtos de vaporização), embora benigno à ingestão oral, quando inalado em aerossóis de acetato foram associados a um aumento nos marcadores de lesão pulmonar analisando o fluido de lavado broncoalveolar. A presença de vitamina E no fluido de lavagem alveolar em 94% das amostras em paciente com diagnóstico de lesão pulmonar associada a Vaping (VALI) fortalece ainda mais seu papel etiológico. O aquecimento da vitamina E a altas temperaturas durante o processo de vaporização também libera gás ceteno tóxico, diretamente tóxico para os pulmões. Além disso, produtos químicos liberados da vaporização da Cannabis também podem danificar o epitélio brônquico e interromper o surfactante alveolar, interferindo assim com troca gasosa levando a insuficiência respiratória. Com o uso crescente de produtos à base de Cannabis e dispositivos de vaporização, a vaporização de Cannabis surge como uma das principais vias de consumo da maconha, sendo disponível em cartuchos descartáveis e finos tanques de cigarros eletrônicos cheios de líquido de Cannabis. Não foi dada atenção a quaisquer eventos adversos associados ao uso de Cannabis até recentemente, quando houve um aumento no número de casos de vaporização de Cannabis associada a lesão pulmonar aguda levando à insuficiência respiratória. Além da angústia respiratória os casos também podem apresentar sintomas semelhantes aos da gripe, fadiga, febres e gastrointestinais como náuseas, vômitos e cólicas abdominais (3) (81) (82).

A exposição pré-natal à nicotina e/ou THC por meio de um modelo de cigarro eletrônico leva a déficits no desenvolvimento motor, e a combinação de exposição à nicotina e ao THC produz deficiências mais graves. Esses resultados sugerem que o co-consumo de nicotina e cannabis por meio de cigarros eletrônicos pode não ser tão seguro quanto se supõe e pode levar a alterações duradouras nos domínios relacionados ao motor entre os descendentes. Esses dados têm implicações importantes para mulheres grávidas, saúde pública e decisões de políticas públicas em relação ao uso pré-natal de cigarros eletrônicos⁽⁸³⁾.

Nos EUA, a nicotina e a maconha são as drogas lícitas e ilícitas mais utilizadas entre as gestantes. É importante ressaltar que a nicotina e a cannabis agora estão sendo combinadas para consumo por meio de cigarros eletrônicos, um dispositivo de entrega cada vez mais popular. Tanto a nicotina quanto o tetrahidrocannabinol (THC), o principal componente psicoativo da cannabis, atravessam a barreira placentária. No entanto, as consequências do uso pré-natal de cannabis não são bem compreendidas, e menos se sabe sobre os possíveis efeitos combinados quando consumidos com nicotina, especialmente por meio de cigarros eletrônicos. O presente estudo usou um modelo de roedor para examinar como a exposição pré-natal do cigarro eletrônico à nicotina, THC e a combinação afeta o desenvolvimento motor entre os filhos. Ratas Sprague-Dawley grávidas foram expostas à nicotina (36 mg/mL), THC (100 mg/mL), a combinação ou veículo via inalação de cigarro eletrônico desde os dias gestacionais (DG) 5–20. Um par sexual por ninhada foi testado em uma tarefa de desenvolvimento sensório-motor precoce (dias pós-natal [DP] 12–20) e uma tarefa de coordenação motora de barra paralela (DP 30–32). A exposição pré-natal combinada à nicotina e ao THC atrasou o desenvolvimento sensório-motor, embora nenhuma das drogas produzisse prejuízos por conta própria. Em contraste, a exposição pré-natal à nicotina ou ao THC prejudicou a coordenação motora, enquanto a exposição combinada exacerbou esses efeitos, principalmente entre as mulheres. Esses dados ilustram que a exposição pré-natal à nicotina ou ao THC pode alterar o desenvolvimento motor e que a combinação pode produzir efeitos mais graves. Esses achados têm implicações

importantes para mulheres grávidas, pois entendemos melhor os efeitos teratogênicos dessas drogas consumidas por meio de cigarros eletrônicos⁽⁸³⁾.

A nicotina e a cannabis são duas das drogas lícitas e ilícitas mais comumente consumidas durante a gravidez, muitas vezes consumidas juntas por meio de cigarros eletrônicos. Vaping é considerado uma alternativa mais segura do que as rotas tradicionais de consumo, mas as possíveis consequências da exposição pré-natal ao cigarro eletrônico são amplamente desconhecidas, principalmente quando essas duas drogas são consumidas em conjunto. Em um novo modelo de co-exposição, ratas Sprague-Dawley grávidas receberam nicotina (36 mg/mL), tetrahidrocannabinol (THC) (100 mg/mL), a combinação ou o veículo por meio de cigarros eletrônicos diariamente dos dias 5 a 20 de gestação, imitando o primeiro e segundo trimestres humanos. Amostras de sangue materno foram coletadas durante a gravidez para medir os níveis de drogas e metabólitos, e as temperaturas corporais antes e depois da exposição também foram medidas. Mães grávidas expostas à combinação de nicotina e THC apresentaram níveis plasmáticos de nicotina e cotinina mais baixos do que aquelas expostas apenas à nicotina; da mesma forma, o grupo de exposição combinada também apresentou níveis plasmáticos mais baixos de THC e metabólitos de THC (THC-OH e THC-COOH) do que aqueles expostos apenas ao THC. A exposição pré-natal à nicotina diminuiu gradualmente as temperaturas iniciais do corpo a cada dia, com exposição crônica, enquanto a exposição ao THC diminuiu as temperaturas durante as sessões individuais. Apesar desses efeitos fisiológicos, nenhuma mudança foi observada na ingestão de comida ou água, ganho de peso ou resultados básicos da ninhada. O uso desse modelo pode ajudar a elucidar os efeitos da co-exposição ao THC e à nicotina por meio de cigarros eletrônicos em usuários e seus filhos. Compreender os efeitos do co uso durante a gravidez é fundamental para melhorar a educação das gestantes sobre o uso pré-natal de cigarros eletrônicos e tem implicações importantes para as políticas públicas⁽⁸⁴⁾.

A incidência de e-cigarro, ou vaping, lesão pulmonar associada ao uso do produto (EVALI) foi associada ao vaping de produtos de tetrahidrocannabinol (THC) aos quais o acetato de vitamina E (VEA) foi adicionado. Neste trabalho,

vaporizamos misturas de THC/VEA em níveis elevados de potência usando uma variedade de cartuchos vaping de bobina de cerâmica e um dispositivo vaping disponível comercialmente, enquanto medimos simultaneamente a temperatura e coletamos o condensado vaporizado. O condensado de vapor coletado foi analisado quanto à evidência de decomposição de VEA por GC/MS, GC/FT-IR/MS e LC-APCI-HRMS/MS. A temperatura média máxima para todos os cartuchos examinados na potência selecionada excedeu 430°C, com uma faixa de 375–569°C, bem além do necessário para a decomposição térmica do VEA. A recuperação percentual de VEA e Δ9-THC da mistura vaporizada em seis cartuchos variou de 71,5 a 101% e de 56,4 a 88,0%, respectivamente. A análise do material vaporizado condensado identificou os produtos de decomposição VEA duroquinona (DQ), 1-pristene e monoacetato de durohidroquinona (DHQMA); um composto consistente com 4-acetoxi-2,3,5-trimetil-6-metileno-2,4-ciclohexadienona (ATMMC) também foi detectado. A concentração de DQ produzida a partir da vaporização da mistura de THC/VEA em um cartucho foi de $4,16 \pm 0,07 \mu\text{g}$ por mg de condensado de vapor⁽⁸⁵⁾.

Questão 5

É possível afirmar que o consumo destes produtos é seguro do ponto de vista toxicológico?

Há evidências da presença de toxicidade (in vitro, in vivo, em animais e em humanos) com o uso de DEFs, seja identificando elementos tóxicos em sua composição, ou na emissão do aerossol, como carbonilas, compostos orgânicos voláteis (VOCs), metais, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs), nitrosaminas específicas do tabaco (TSNAs), sabores, solventes, e outros.

E a presença dessas diversas substâncias, sabidamente tóxicas à saúde, em um conteúdo aspirado ou em seus constituintes, por si só caracterizariam a ausência de segurança desses dispositivos.

Entretanto, soma-se a essa constatação, evidências experimentais da presença de dano celular, tecidual e orgânico resultante diretamente de seus constituintes e de suas emissões gasosas e/ou de vaporização.

Lembrando ainda, da possibilidade de variação do grau de injúria produzido na dependência das variações do modo de uso dos DEFs (principalmente abertos) e do comportamento de seus usuários.

E-líquidos com conteúdo e sabores variados de nicotina foram aerossolizados através de meio de crescimento e expostos à linha celular epitelial brônquica humana (BEAS-2B) e à linha celular humana de monócitos-macrófagos (THP-1) *in vitro*. A citotoxicidade em resposta a aerossóis de cigarro eletrônico foi medida pelo ensaio MTT em células BEAS-2B e a resposta inflamatória foi medida por TNF- α , IL-6, IL-8 e MCP-1 liberados de células THP-1. Além disso, o marcador de estresse oxidativo, REDD1, e o impacto na fagocitose, foram avaliados após a exposição de macrófagos derivados de BEAS-2B e THP-1, respectivamente. Extrato de fumaça de cigarro foi usado como controle positivo com conhecida citotoxicidade e comprometimento da resposta inflamatória. Aerossóis de cigarro eletrônico induziram toxicidade celular moderada em células epiteliais brônquicas. Nossos dados também mostram que baixos níveis de nicotina são menos prejudiciais para as células epiteliais brônquicas, e sabores em e-líquidos influenciam os marcadores combinados de resposta inflamatória, fagocitose e REDD1 quando examinados *in vitro*. Nossos bioensaios *in vitro* podem ser utilizados para medir efetivamente os efeitos induzidos pelo sabor e pela nicotina dos cigarros eletrônicos na resposta inflamatória combinada e na citotoxicidade em macrófagos humanos e células epiteliais brônquicas humanas, respectivamente⁽⁸⁶⁾.

No presente estudo, investigamos, pela primeira vez, se os cigarros eletrônicos com sabor e contendo nicotina induzem a disfunção endotelial para resultar em angiogênese prejudicada e cicatrização de feridas, particularmente em condições diabéticas. Cigarros eletrônicos contendo nicotina com vários conteúdos de nicotina (0, 1,2%, 2,4%), e cigarros eletrônicos com sabor de tabaco clássico, menta, mentol e baunilha ou frutas de BLU (nicotina 2,4%) ou

JUUL (nicotina 3%) foram usados para tratar células endoteliais in vitro e camundongos diabéticos induzidos por estreptozotocina in vivo. A produção de superóxido de células endoteliais, determinada por imagem fluorescente de di-hidroetídio (DHE) e ressonância de spin eletrônico (ESR), foi acentuadamente aumentada pela exposição ao extrato de cigarro eletrônico (e-CSE) de maneira dependente do conteúdo de nicotina, enquanto o óxido nítrico (NO) a biodisponibilidade detectada pela imagem fluorescente DAF-FM diminuiu substancialmente. Todos os diferentes cigarros eletrônicos com sabor examinados também mostraram efeitos significativos no aumento da produção de superóxido, ao mesmo tempo em que diminuíram a biodisponibilidade de NO. A apoptose das células endoteliais avaliada pela atividade da caspase 3 foi acentuadamente aumentada pela exposição ao e-CSE preparado a partir de cigarros eletrônicos com sabor e contendo nicotina. Ensaios de feridas de monocamada endotelial revelaram que cigarros eletrônicos com sabor e contendo nicotina induziram reparo angiogênico prejudicado de feridas de monocamadas de células endoteliais. Além disso, a cicatrização de feridas estimulada pelo fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) em camundongos diabéticos foi prejudicada pela exposição a e-CSEs preparados a partir de cigarros eletrônicos com sabor e contendo nicotina. Tomados em conjunto, nossos dados demonstram pela primeira vez que cigarros eletrônicos com sabor e contendo nicotina induzem disfunção endotelial por meio da produção excessiva de ROS, resultando em diminuição da biodisponibilidade de NO, aumento na apoptose de células endoteliais e comprometimento da angiogênese e cicatrização de feridas, especialmente em condições diabéticas. Essas respostas de disfunção endotelial provavelmente estão por trás dos efeitos nocivos dos cigarros eletrônicos em órgãos ricos em endotélio, como coração e pulmões. Esses dados também indicam que uma regulamentação rigorosa sobre o uso de cigarros eletrônicos deve ser aplicada em pacientes diabéticos e/ou cirúrgicos para evitar consequências graves do comprometimento da angiogênese/cicatrização de feridas⁽⁸⁷⁾.

O objetivo do presente estudo foi avaliar a presença de contaminantes derivados de metal e plástico em quatro diferentes e-líquidos comerciais com alta concentração de nicotina e seu efeito citotóxico em células epiteliais brônquicas

humanas normais por uma série de ensaios *in vitro*, em comparação com o cigarro de referência 1R6F, usando um sistema de exposição de interface ar-líquido (ALI). Além disso, avaliamos o efeito da exposição ao aerossol no estresse oxidativo, medindo a produção de espécies reativas de oxigênio e o potencial mitocondrial. Nossos resultados não mostraram contaminantes em todos os e-líquidos e um efeito citotóxico significativamente reduzido do aerossol de e-líquido em comparação com a fumaça do cigarro, bem como uma integridade mitocondrial mantida. Além disso, nenhuma produção de espécies reativas de oxigênio foi detectada com o aerossol de cigarro eletrônico⁽⁸⁸⁾.

Vaping de cigarro eletrônico (e-cigarette), contendo nicotina e/ou Δ^8 , Δ^9 ou Δ^{10} ou Δ^0 tetraidrocanabinol (Δ^0 -THC), está associado a um surto de e-cigarette, ou vaping, lesão pulmonar associada ao uso do produto (EVALI). Apesar de milhares serem hospitalizados com EVALI, muito permanece desconhecido sobre diagnóstico, tratamento e patogênese da doença. Biomarcadores de inflamação, estresse oxidativo e mediadores lipídicos podem ajudar a identificar usuários de cigarro eletrônico com EVALI. Coletamos plasma e urina junto com dados demográficos e relacionados ao vaping de indivíduos EVALI (idade de 18 a 35 anos) e não usuários pareados por sexo e idade em um estudo piloto. Os biomarcadores foram avaliados por ELISA/EIA e ensaios baseados em Luminex. Níveis elevados de metabólito THC (11-nor-9-carboxi- Δ^9 -THC) foram encontrados no plasma de indivíduos EVALI em comparação com não usuários. Os níveis de 8-hidroxi-2'-desoxiguanosina (8-OHDG), um biomarcador de dano oxidativo ao DNA, e 8-isoprostano, um marcador de estresse oxidativo, foram ligeiramente aumentados em amostras de urina de indivíduos EVALI em comparação com não usuários. Por outro lado, os níveis plasmáticos de mediadores lipídicos, incluindo resolvin D1 (RvD1) e prostaglandina E2 (PGE2), foram significativamente menores em indivíduos EVALI em comparação com não usuários. Ambos os biomarcadores pró-inflamatórios, como fator de necrose tumoral - α , proteína inflamatória de macrófagos-1 β , RANTES (regulado na ativação, células T normais expressas e secretadas) e fator estimulante de colônias de granulócitos-macrófagos, bem como biomarcadores anti-inflamatórios, como interleucina-9 e CC10/16, foram diminuídos no plasma de indivíduos EVALI em comparação com não-usuários, apoiando uma possível

resposta inflamatória desregulada em indivíduos EVALI. Elevações significativas nos biomarcadores de estresse oxidativo na urina e no plasma, bem como reduções nos mediadores lipídicos, foram mostradas em indivíduos EVALI. Esses biomarcadores não invasivos (8-OHdG, 8-isoprostano, RvD1 e CC10/16), individual ou coletivamente, podem servir como ferramentas no diagnóstico de futuros sujeitos do EVALI⁽⁸⁹⁾.

Este estudo foi um estudo exploratório em duas partes. A Parte A foi projetada para elucidar a absorção e deposição de nicotina marcada com ^{11}C inalada na cavidade oral, vias respiratórias, pulmões e sangue. A Parte B iluminou a captação e deposição no cérebro e no sangue. Duas formulações diferentes de nicotina (freebase e nicotina lactato) foram aerossolizadas e inaladas usando o cigarro eletrônico mybluTM. Cada sujeito do estudo inalou uma das formulações. Doravante, o e-cigarro mybluTM é referido como o e-cigarro. Na parte A, os participantes do estudo realizaram dois exames PET/CT de [^{11}C]nicotina de 40 minutos, um sobre os pulmões e outro sobre a boca e as vias respiratórias superiores. O tempo entre as sessões de PET/CT foi de pelo menos três horas para permitir a deterioração e eliminação da [^{11}C]nicotina. Na parte B, os indivíduos tiveram uma PET/CT de [^{11}C]nicotina de 30 minutos sobre o cérebro. [^{11}C] A nicotina foi administrada como 1–2 tragadas, inaladas como aspirações profundas do cigarro eletrônico. Os indivíduos da parte B do estudo foram submetidos a uma sequência de volume cerebral 3D ponderada em T1 (T1w) para referência anatômica no mesmo dia da PET/TC. Na parte A, a tomografia computadorizada de dose ultrabaixa (ULDCT) para correção de atenuação iniciada antes da tomografia PET também foi usada para informações anatômicas⁽⁹⁰⁾.

Quinze indivíduos adultos saudáveis (3 homens e 12 mulheres), de 51 a 65 anos (58 +/- 4,4 anos) com peso corporal entre 51 e 85 kg (média de 71 kg), foram incluídos neste estudo. Os principais critérios de inclusão foram boa saúde geral, fumante diário de cigarros combustíveis, com idade entre 50 e 65 anos, e ausência de doenças ou distúrbios clinicamente significativos (conforme julgado pela avaliação do investigador de seu histórico médico). Medidas de pressão arterial e frequência de pulso, eletrocardiograma de 12 derivações (ECG) e

exames laboratoriais clínicos foram realizados. Todos os indivíduos estavam livres de doenças clinicamente significativas que afetavam o trato respiratório ou qualquer condição que pudesse influenciar os resultados do estudo ou a capacidade do indivíduo de participar. Além disso, eles não tinham histórico de alcoolismo ou abuso de substâncias. As mulheres do estudo não tinham potencial para engravidar, ou seja, pós-menopausa, esterilizadas ou verificadas por medições de hormônio folículo-estimulante e estradiol no sangue. Para a parte B, foram excluídos os indivíduos com condições que contraindicam a ressonância magnética (MRI)⁽⁹⁰⁾.

Quinze fumantes adultos saudáveis participaram do estudo de duas partes para avaliar a distribuição e o acúmulo de [11 C] nicotina nas vias respiratórias e no cérebro. Dados de atividade de tempo para as vias respiratórias, pulmões, esôfago e cérebro foram obtidos. 31-36% de ambas as formulações traçadoras inaladas acumularam-se no pulmão em 15-35 s. [11 C] Nicotinefreebase exibiu maior captação e deposição nas vias respiratórias superiores. Para [11 C] nicotinalactato, a deposição cerebral atingiu um pico de 4-5%, com um pico anterior e um declínio mais acentuado. Um perfil cinético diferente foi obtido para [11 C] nicotinalactato com menor captação e acúmulo de traçador nas vias respiratórias superiores e um pico mais precoce e um declínio mais acentuado no pulmão e no cérebro. O uso de formulações de lactato de nicotina em cigarros eletrônicos pode, portanto, contribuir para uma maior aceitação e satisfação do fumante adulto em comparação com as formulações de base livre, auxiliando potencialmente na transição dos cigarros combustíveis e na aceleração das iniciativas de redução de danos do tabaco⁽⁹⁰⁾.

Nossos dados sugerem que o tipo de sal de nicotina usado em e-liquids e vape-bars, derivados de tabaco ou sintéticos, desempenha um papel na modulação da geração de ROS após a aerossolização de componentes de e-líquidos. Para explicar melhor, foram observadas diferenças significativas na geração de ROS entre TFN e produtos vape contendo nicotina derivados do tabaco contendo bebida e aromatizante de menta/gelo. No entanto, diferenças não significativas na geração de ROS foram observadas entre TFN e produtos vape contendo nicotina derivados do tabaco com aroma de frutas e tabaco. Nossos dados

sugerem que os agentes aromatizantes usados em cigarros eletrônicos contendo nicotina sintética desempenham um papel na modulação dos níveis de ROS nos aerossóis gerados. Nossos dados também indicam que os agentes aromatizantes usados em e-líquidos afetam a geração de ROS acelular de cigarros eletrônicos contendo nicotina sintética e cigarros eletrônicos contendo nicotina derivada do tabaco de sabores comparáveis de maneira diferente⁽⁹¹⁾.

Da mesma forma, os resultados de nosso estudo parecem concordar com nosso estudo anterior, cujos dados sugeriram que os agentes aromatizantes usados em vapebars contendo nicotina derivados do tabaco desempenham um papel na modulação da geração de ROS após a aerossolização do componente e-líquido. Em relação aos efeitos do conteúdo de nicotina na geração de ROS e estresse oxidativo, um estudo descobriu que a nicotina aumenta o estresse oxidativo em células mesencefálicas de ratos de maneira dose-dependente. Outro estudo descobriu que os aerossóis de cigarros eletrônicos e líquidos com sabor promoveram o estresse oxidativo nas células epiteliais do pulmão H292, bem como nos pulmões de camundongos. Além disso, um estudo descobriu que as ROS geradas a partir de cigarros eletrônicos eram altamente dependentes do sabor do líquido eletrônico usado (frutado e tabaco). No entanto, faltam estudos que examinem as diferenças na geração de ROS em sistemas celulares e acelulares devido ao uso de produtos vape contendo nicotina derivados do tabaco e TFN. Embora estudos anteriores tenham mostrado que a voltagem, o sabor e a concentração de nicotina têm um papel na modulação dos níveis de ROS gerados por cigarros eletrônicos, os resultados de nosso estudo mostram que o tipo de sal de nicotina usado (sintético ou derivado do tabaco) também. Curiosamente, notamos que entre os produtos vape com sabor de menta/resfriado analisados (Spearmint e Banana Ice), o nível de ROS gerado pelo produto vape de nicotina sintética foi significativamente menor do que o gerado por seu sabor específico derivado do tabaco nicotina- contendo contrapartida. Além disso, entre os produtos vape com sabor de bebida/bebida analisados, o produto vape sintético contendo nicotina gerou significativamente menos ROS do que sua contraparte contendo nicotina derivada do tabaco. A nicotina sintética carece das impurezas contidas na nicotina derivada do tabaco. Os produtos vape que usam nicotina sintética não possuem nitrosaminas

específicas do tabaco (TSNAs), um carcinógeno encontrado no tabaco e na nicotina derivada do tabaco. Em nosso estudo, as diferenças em ROS exógenas entre aerossóis gerados por TFN e produtos vape contendo nicotina derivados de tabaco com sabor de limonada rosa, hortelã e banana-gelo podem ser devido às diferenças de impurezas dentro de cada tipo de sal de nicotina (tabaco - derivado ou sintético) usado. No entanto, para determinar se os resultados observados para os ENDS com sabor de Pink Punch Lemonade, Spearmint e Banana Ice são devidos a diferenças no nível de impurezas na nicotina salgada usada, a triagem de cigarro eletrônico por meio de espectrometria de massa de plasma acoplado indutivamente (ICP-MS) é preciso⁽⁹¹⁾.

Para avaliar o efeito de exposições repetidas de ENDS, células epiteliais brônquicas humanas normais primárias (NHBE) cultivadas na interface ar-líquido (ALI) foram expostas a preparações de cigarro e ENDS diariamente por 10 dias. As preparações de fumaça de cigarro alteraram significativamente a expressão gênica de maneira dose-dependente em comparação com o controle do veículo, incluindo genes ligados ao estresse oxidativo, metabolismo xenobiótico, vias de câncer, transição epitelial-mesenquimal, metabolismo de ácidos graxos, degradação de colágeno e matriz extracelular, glicosilação, e quimiocinas/citocinas, que são vias conhecidas por serem alteradas em fumantes. Por outro lado, as preparações de ENDS tiveram efeito mínimo nas vias de transcrição. Usando um modelo primário de cultura de vias aéreas NHBE, observamos várias alterações na via transcricional após exposições repetidas a preparações de cigarro e ENDS. Vários genes diferenciados associados a exposições a preparações de cigarros foram observados de maneira semelhante em fumantes humanos. Muito poucas vias foram reguladas pelas preparações de ENDS neste estudo, particularmente em altas doses, e mudança de dobra menos pronunciada quando comparada às preparações de cigarro. As alterações transcricionais induzidas por preparações de cigarro refletem algumas das alterações fisiológicas recentemente relatadas por nosso grupo após uma exposição de 10 dias em culturas primárias de NHBE. Por outro lado, as preparações de ENDS parecem regular muito menos vias em comparação com as preparações de cigarro, refletindo as alterações fisiológicas mínimas relatadas anteriormente. Este estudo também demonstra o uso de culturas

primárias de NHBE em ALI como um modelo in vitro adequado para avaliação de produtos de tabaco, o que reflete respostas semelhantes às observadas em humanos. Uma vez que as preparações de ENDS induzem alterações transcricionais únicas, embora menos respostas de via, recomendam-se mais investigações sobre esses genes⁽⁹²⁾.

O extrato de vapor E-cig (EVE) e o extrato de fumaça de cigarro (CSE) foram criados borbulhando vapor e fumaça, respectivamente, no meio de cultura celular. Human vocal fold fibroblasts (hVFFs) foram expostos a EVE sem ou com nicotina ou CSE por 24 horas. Células não tratadas foram usadas como grupo controle. As células foram coletadas e a citotoxicidade, a matriz extracelular e a expressão de genes inflamatórios e os danos ao DNA foram avaliados. EVE não diluído sem e com nicotina reduziu a viabilidade dos hVFFs a um nível citotóxico. CSE reduziu a viabilidade de hVFFs em maior extensão do que EVE e induziu danos ao DNA medidos por quebras de fita dupla de DNA. Nenhuma alteração na expressão gênica foi observada após a exposição a EVE ou CSE. Ainda há muito a ser elucidado sobre os efeitos dos cigarros eletrônicos na saúde, especialmente no que diz respeito às pregas vocais. Nós investigamos os efeitos de EV e CS em hVFFs cultivados. Descobrimos que o vapor do e-cig não é inerte e induz citotoxicidade em hVFFs. Este efeito não foi dependente da nicotina. Maiores reduções na viabilidade celular e evidências de danos ao DNA foram observadas após a exposição ao CSE, sugerindo que os cigarros convencionais podem induzir mais danos, pelo menos a curto prazo. Em resumo, este é o primeiro estudo conhecido a avaliar os efeitos de EVE em hVFFs. Os resultados formam a base para uma metodologia in vitro para estudos futuros. A longo prazo, os resultados nos ajudarão a desenvolver investigações in vivo destinadas a interpretar os mecanismos biológicos alterados pelos e-cigs e contribuir para o desenvolvimento de novas estratégias de tratamento⁽⁹³⁾.

Os macrófagos alveolares (AMs) são células imunes residentes no pulmão que fagocitam partículas e patógenos inalados e ajudam a coordenar a resposta imune do pulmão à infecção. Pouco se sabe sobre o impacto do uso crônico de cigarro eletrônico (ou seja, vaping) nesse importante tipo de célula pulmonar. Assim, determinamos o efeito do vaping no fenótipo AM e na expressão gênica.

Recrutamos nunca fumantes, fumantes e usuários de cigarro eletrônico (vapers) e realizamos broncoscopia de pesquisa para isolar AMs de amostras de fluido de lavagem broncoalveolar e células epiteliais de escavações brônquicas. Em seguida, realizamos análises morfológicas e usamos a plataforma Nanostring para procurar mudanças na expressão gênica. AMs obtidos de fumantes e vapers foram fenotipicamente distintos daqueles obtidos de não fumantes e uns dos outros. A imunocitoquímica revelou que os AMs vapers tinham uma expressão significativamente elevada da sintase induzível de óxido nítrico (M1) e uma expressão significativamente reduzida de CD301a (M2) em comparação com não fumantes ou fumantes. Os AMs de Vapers e epitélios brônquicos exibiram mudanças únicas na expressão gênica em comparação com não fumantes ou fumantes. Além disso, os AMs dos vapers foram os mais afetados de todos os grupos e tiveram 124 genes exclusivamente regulados negativamente. A análise da ontologia genética revelou que vapers e fumantes tiveram mudanças opostas nos processos biológicos. Esses dados indicam que o vaping causa alterações únicas nos AMs e no epitélio brônquico em comparação com não fumantes e fumantes, o que pode afetar a defesa do hospedeiro pulmonar. Esses dados indicam que vapers “saudáveis” normais têm AMs alterados e podem estar em risco de desenvolver respostas imunes anormais a estímulos inflamatórios⁽⁹⁴⁾.

Este estudo caracterizou produtos químicos desenvolvidos quando óleos diluentes foram aquecidos a temperaturas que imitam produtos de cigarro eletrônico ou vaping (EVPs) para investigar a produção de produtos químicos potencialmente tóxicos que podem ter causado lesões pulmonares. VEA, vitamina E, coco e óleo de triglicerídeos de cadeia média (MCT) foram diluídos com etanol e então testados quanto a constituintes e impurezas usando um espectrômetro de massa de cromatografia gasosa (GC/MS). Óleos não diluídos foram aquecidos a 25°C (controle), 150°C e 250°C em uma câmara inerte para imitar uma faixa de temperaturas indicativa de aerossolização de EVPs. Os produtos químicos volatilizados foram coletados usando tubos de dessorção térmica, analisados usando um GC/MS e identificados. A presença de produtos químicos identificados foi confirmada usando tempo de retenção e correspondência de espectros de íons com padrões analíticos. A análise direta

dos óleos, conforme recebidos, revelou que o VEA e a vitamina E eram os principais constituintes de seus óleos, e os óleos de coco e MCT eram quase idênticos, tendo dois constituintes principais: tricaprilato de glicerol e 2-(decanoiloxi)propano-1,3-diil dioctanoato. Mais produtos químicos foram medidos e com intensidades maiores quando os óleos diluentes foram aquecidos a 250°C em comparação com 150°C e 25°C. A vitamina E e os óleos de coco/MCT produziram diferentes emissões químicas. A presença de alguns produtos químicos identificados é uma consequência potencial para a saúde porque muitos são irritantes respiratórios conhecidos e toxinas respiratórias agudas. A exposição a uma mistura de produtos químicos perigosos pode ser relevante para o desenvolvimento ou exacerbação de EVALI, especialmente quando associada a danos físicos causados pela deposição pulmonar de aerossóis produzidos por óleos diluentes em aerossol⁽⁹⁵⁾.

Neste estudo, comparamos os efeitos dos cigarros de tabaco e dos cigarros eletrônicos nos células endoteliais da veia umbilical humana (HUVECs). Embora os cigarros eletrônicos também induzam os níveis de moléculas de adesão e citocinas pró-inflamatórias em HUVECs, os cigarros de tabaco mostraram dados toxicológicos muito mais graves, incluindo menor viabilidade celular, maior taxa apoptótica e níveis mais altos de inflamação e ROS em HUVECs. Examinamos os efeitos dos cigarros convencionais e dos cigarros eletrônicos na sobrevivência das células endoteliais, resposta inflamatória, expressão de moléculas de adesão e nível de ROS. Com base nesses dados, concluímos que, nesses aspectos, os cigarros eletrônicos parecem ser menos tóxicos do que fumar cigarros. E os cigarros eletrônicos podem ser uma boa alternativa aos cigarros de tabaco. No entanto, isso não significa que os cigarros eletrônicos não sejam prejudiciais. De fato, estudos sobre os efeitos a longo prazo na saúde humana são necessários⁽⁹⁶⁾.

Com o desenvolvimento dos tempos, os cigarros eletrônicos (e-cigarros) estão sendo recebidos por mais e mais pessoas. Comparamos os diferentes efeitos dos cigarros eletrônicos e cigarros de tabaco nas células endoteliais da veia umbilical humana (HUVECs) tratadas com os típicos extratos de aerossol de cigarro eletrônico (ECA) e extratos de fumaça de cigarro (CS) provenientes de

lojas comerciais de varejo. As HUVECs foram tratadas com diferentes tipos de ECA ou CS com diferentes concentrações nicotínicas (0,03, 0,125, 0,5, 2, 8 ou 32 µg /mL). A viabilidade celular foi examinada pelo ensaio MTT. A apoptose celular foi investigada por laranja de acridina (AO) e coloração Hoechst 33258. Os ensaios de RT-PCR e western blot foram utilizados para analisar as moléculas de adesão e as citocinas inflamatórias liberadas pelas HUVECs. Além disso, as espécies reativas de oxigênio (ROS) intracelulares foram observadas por microscopia de fluorescência. Nossos dados mostraram que o CS (concentração de nicotina a 0,125 µg /mL) pode diminuir a viabilidade das HUVECs em 71%, mas não os quatro tipos de ECA. A taxa apoptótica foi de cerca de 32,5% no grupo CS. Independentemente dos níveis de adesão moléculas, citocinas inflamatórias ou ROS, foram maiores nos grupos CS do que nos grupos ECA. No geral, os quatro tipos de cigarros eletrônicos induziram significativamente menos citotoxicidade do que os cigarros de tabaco disponíveis comercialmente em HUVECs. O CS mostrou o impacto mais grave nos HUVECs. O ECA pode fornecer uma medida de redução de danos, especialmente no risco cardiovascular, depois que as pessoas mudam de cigarros de tabaco para cigarros eletrônicos⁽⁹⁶⁾.

Nossos resultados suportam o potencial reduzido de e-cigs em relação aos cigarros convencionais em um modelo *in vitro* de células epiteliais brônquicas, mesmo sob condições de exposição mais extremas (aerossol não diluído) do que aquelas de papéis replicados. Para estudos futuros, nossas descobertas sugerem que a diluição do aerossol e a normalização dos dados para refletir melhor a funcionalidade celular em vez da viabilidade serão importantes para alcançar os resultados mais precisos. Além disso, estudos futuros são agora necessários para demonstrar também *in vitro* os efeitos crônicos e o risco reduzido de ENDS. De fato, mostrou que o vaping crônico exerce efeitos biológicos marcantes no pulmão e que esses efeitos podem ser em parte mediados pela base PG/VG. No entanto, deve-se notar que este estudo, como também afirmado pelos autores, e muitos outros têm uma limitação importante em relação ao fato de que os vapers incluídos nos estudos eram em sua maioria ex-fumantes e, portanto, os resultados devem ser interpretados no contexto deste fundo. Da mesma forma, em relação ao recente surto de lesão pulmonar

associada ao uso de produtos de cigarro eletrônico (EVALI), deve-se observar que isso ainda é motivo de debate e, na maioria dos casos, estava relacionado ao uso de drogas não aditivo comercial ou uso impróprio dos dispositivos⁽⁹⁷⁾.

Os sistemas eletrônicos de entrega de nicotina (ENDS) podem reduzir os riscos à saúde associados à exposição crônica à fumaça e seus potenciais benefícios têm sido objeto de intenso debate científico. Nosso objetivo foi replicar três estudos publicados sobre os efeitos citotóxicos e inflamatórios da fumaça do cigarro e do aerossol ENDS em um estudo multicêntrico independente. Nosso objetivo foi estabelecer a confiabilidade dos resultados e a robustez das conclusões, replicando os protocolos experimentais dos autores e validando-os com diferentes técnicas. Células epiteliais brônquicas humanas (NCI-H292) foram expostas à fumaça total do cigarro e à fase de vapor e ao aerossol do ENDS. Também avaliamos as citocinas inflamatórias interleucina-6 e interleucina-8 e o mediador da remodelação da matriz metaloproteinase-1. Replicamos os resultados de viabilidade celular e confirmamos que quase 80% dos efeitos citotóxicos são devidos a compostos voláteis na fase de vapor da fumaça. Nossos achados comprovaram os efeitos citotóxicos reduzidos do aerossol ENDS. No entanto, nossos dados sobre a atividade inflamatória e remodeladora desencadeada pela fumaça diferiram significativamente daqueles nos relatórios originais. Tomados em conjunto, dados independentes de vários laboratórios demonstraram claramente a toxicidade reduzida dos produtos ENDS em comparação com os cigarros⁽⁹⁷⁾.

O uso de cigarro eletrônico (e-cig), particularmente na população jovem, é uma preocupação crescente. Sabe-se que o e-cig causa disfunção endotelial, fator de risco para o desenvolvimento de doenças cardiovasculares; no entanto, os mecanismos envolvidos permanecem obscuros. Nossa hipótese é que longos RNAs não codificantes (lncRNAs) podem desempenhar um papel na disfunção endotelial induzida por e-cig. Aqui, identificamos lncRNAs que são desregulados em células endoteliais derivadas de células-tronco pluripotentes induzidas por humanos (iPSC-ECs) após 24 h de tratamento com extrato de aerossol e-cig por meio de análise de microarray. Realizamos análises da via Gene Ontology and Kyoto Encyclopedia of Genes and Genome (KEGG) dos mRNAs desregulados

após a exposição ao e-cig e construímos redes de co-expressão dos 5 principais lncRNAs regulados positivamente e os 5 principais lncRNAs regulados negativamente, e os mRNAs que estão correlacionados com eles. Além disso, os efeitos funcionais de derrubar o transcrito 1 associado ao câncer de pulmão do lncRNA (LUCAT1) nos fenótipos EC foram determinados, pois era um dos lncRNAs significativamente regulados positivamente após a exposição ao e-cig com base em nosso perfil. 183 lncRNAs e 132 mRNAs foram regulados positivamente, enquanto 297 lncRNAs e 413 mRNAs foram regulados negativamente após a exposição ao e-cig. Também observamos que o e-cig causou desregulação do metabolismo endotelial, resultando em aumento da atividade da FAO, maior potencial de membrana mitocondrial e diminuição da captação de glicose e glicólise. Esses resultados sugerem que o e-cig altera o metabolismo do CE aumentando a FAO para compensar a deficiência de energia nos CEs. Finalmente, o knockdown de LUCAT1 preveniu a disfunção de CE induzida por e-cig, mantendo a barreira vascular, reduzindo o nível de espécies reativas de oxigênio e aumentando a capacidade de migração. Este estudo identifica um perfil de expressão de lncRNAs diferencialmente expressos e vários potenciais reguladores e vias em ECs expostos a e-cig, que fornecem informações sobre a regulação de lncRNAs e mRNAs e o papel das redes de lncRNA e mRNA na exposição de e-cig associada a ECs⁽⁹⁸⁾.

Este estudo fornece evidências de que fluidos EC e resíduos de aerossóis podem afetar adversamente a pele humana. A pele humana pode ser exposta a fluidos de recarga devido a vazamentos ou derramamentos e/ou contato com ECEAR em superfícies internas. Para fluidos de recarga e exposições ECEAR, as concentrações que produziram um efeito nos ensaios de queratinócitos e EpiDerm™ estavam dentro da faixa que os usuários receberiam devido a derramamentos ou contato com superfícies contaminadas. Nossa estudo se concentrou em dois fluidos de recarga populares, contendo principalmente sabores doces com uma concentração de nicotina relativamente baixa, disponíveis on-line e em lojas. Churrios foi mais citotóxico para queratinócitos do que Dewberry Cream e ambos os fluidos aumentaram ROS extracelulares e intracelulares. Nossa trabalho demonstrou um claro aumento na secreção de marcadores inflamatórios após a exposição ALI de tecidos 3D EpiDerm™ a PG,

que está presente na maioria dos produtos de EC. Usuários de EC e funcionários em lojas de vape devem estar cientes de que danos podem ser causados ao manusear e/ou tocar em fluidos de recarga, ECs com vazamento ou ao tocar em ECEAR. Nossos dados sugerem a necessidade de regulamentação de solventes em produtos EC e acúmulo de ECEAR em ambientes internos⁽⁹⁹⁾.

Nosso objetivo foi avaliar os efeitos de fluidos de recarga de EC e resíduo de aerossol exalado de EC (ECEAR) em queratinócitos humanos cultivados e MatTek EpiDerm™, um modelo 3D de pele humana com interface ar-líquido. A quantificação de produtos químicos de sabor e nicotina em fluidos de recarga Dewberry Cream e Churrios foi feita usando GC-MS. Os produtos químicos de sabor dominantes foram maltol, etil maltol, vanilina, etil vanilina, álcool benzílico e furaneol. A citotoxicidade foi determinada com os ensaios de MTT e LDH, e os marcadores inflamatórios foram quantificados com ELISAs. Churrios foi citotóxico para queratinócitos no ensaio MTT, e ambos os fluidos induziram a produção de ROS no meio (ROS- ROSGlo™) e nas células (CellROX). A exposição de EpiDerm™ a concentrações relevantes de Dewberry Cream e Churrios por 4 ou 24 horas causou secreção de marcadores inflamatórios (IL-1 α , IL-6 e MMP-9), sem alterar a histologia de EpiDerm™. Fluidos produzidos em laboratório com propilenoglicol (PG) ou PG mais um produto químico de sabor não produziram efeitos citotóxicos, mas aumentaram a secreção de IL-1 α e MMP-9, que foi atribuída ao PG. ECEAR derivado de Dewberry Cream e Churrios não produziu citotoxicidade com Epiderm™, mas Churrios ECEAR induziu a secreção de IL-1 α . Esses dados suportam a conclusão de que os produtos químicos EC podem causar dano oxidativo e inflamação na pele humana⁽⁹⁹⁾.

Os resultados deste estudo preliminar mostram que e-líquidos com sabores de canela, mentol, morango, baunilha e banana são citotóxicos para células RPE com maior toxicidade na presença de nicotina, enquanto e-líquidos de uva, chocolate, cola, tabaco, e os sabores de caramelo apresentaram pouca ou nenhuma citotoxicidade. Nossos dados podem ajudar a informar os usuários de cigarro eletrônico para identificar certos sabores em líquidos de recarga que podem representar risco para o epitélio da retina. Nossos resultados fornecem

indicações precoces de que a exposição ao líquido do cigarro eletrônico é deletéria para o epitélio da retina; no entanto, estudos mais aprofundados são necessários para expandir nossas descobertas e avaliar se os aromas podem afetar as várias funções das células RPE e podem contribuir para a AMD. Estudos futuros para avaliar os efeitos de diferentes sabores de cigarros eletrônicos em células EPR primárias que são o modelo fisiológico mais relevante seriam necessários⁽¹⁰⁰⁾.

O tabagismo é um fator etiológico da degeneração macular relacionada à idade (DMRI). Embora a fumaça do cigarro tenha sido extensivamente pesquisada para a degeneração das células do epitélio pigmentar da retina (RPE), o potencial de efeitos adversos no epitélio da retina após a exposição ao líquido de recarga de cigarro eletrônico com sabor nunca foi explorado. Neste estudo preliminar, examinamos os efeitos de 20 e-líquidos (10 sem nicotina com sabor diferente e 10 ricos em nicotina) usados em cigarros eletrônicos na atividade metabólica, integridade da membrana e potencial de membrana mitocondrial do EPR células. Nossos resultados mostraram que dos sabores estudados na faixa de concentração: 0,5, 1 e 2% v/v por um período de 48 h, canela foi o mais tóxico e mentol foi o segundo mais tóxico, enquanto outros sabores apresentaram menor ou nenhuma citotoxicidade. A presença de nicotina aumentou a citotoxicidade para canela, mentol, morango, baunilha e banana, enquanto para outros sabores não houve sinergismo. Juntos, nossos resultados demonstram que a exposição de EPR a líquidos aromatizados de recarga de cigarro eletrônico causou citotoxicidade significativa e pode ser um fator de risco para o desenvolvimento de patogênese retiniana, embora estudos mais aprofundados sejam necessários⁽¹⁰⁰⁾.

O presente estudo testou a hipótese de que a exposição fetal ao e-cig induz um perfil aberrante de metilação do DNA no cérebro em desenvolvimento, levando à alteração de sinalização de fluxo autofágico e programação de um fenótipo sensível à encefalopatia hipóxico-isquêmica neonatal (EHI). Ratas grávidas foram expostas a aerossol de e-cig intermitente crônico. Os recém-nascidos foram examinados com 9 dias de idade. A exposição materna ao cigarro eletrônico diminuiu o peso corporal e o peso do cérebro, mas aumentou a

proporção de peso do cérebro para o corpo dos recém-nascidos. A exposição ao cigarro eletrônico induziu um aumento dependente do gênero na lesão cerebral induzida por isquemia hipóxica em recém-nascidos do sexo masculino, associada ao aumento da atividade das espécies reativas de oxigênio (ROS). Ele alterou diferencialmente a expressão da metiltransferase do DNA e aumentou os níveis globais de metilação do DNA e a metilação CpG específica no promotor do gene 5 (ATG5) relacionado à autofagia. Além disso, a exposição materna ao e-cig causou downregulations de ATG5, proteína associada a microtúbulos 1 cadeia leve 3b e expressão de sirtuína 1 em cérebros neonatais. É importante ressaltar que o knockdown de ATG5 em filhotes neonatos exagerou a EHI neonatal. Em conclusão, o presente estudo revela que a exposição materna ao e-cig diminui a expressão gênica relacionada à autofagia por meio da hipermetilação do DNA, levando à programação de um fenótipo sensível à hipóxia-isquêmica no cérebro neonatal⁽¹⁰¹⁾.

Uma diminuição significativa na expressão da proteína sirtuína (Sirt1) nos cérebros neonatais foi observada no grupo exposto ao e-cig, o que sugere que a repressão Sirt1 pode ser um mecanismo molecular chave que liga a exposição materna ao e-cig aos seus resultados prejudiciais mediados no cérebro da prole. É bem conhecido que Sirt1 é um importante regulador da epigenética, que não apenas desacetila histonas para modular a função da cromatina, mas também pode desacetilar fatores de transcrição para regular a expressão de genes-alvo positiva ou negativamente. Tem sido sugerido que Sirt1 está fortemente ligada à metilação do DNA via desacetilação de Dnmt. Especificamente, a ativação de Sirt1 pode desacetilar Dnmt, levando a aumentos em sua atividade de metiltransferase e DNAmetilação, o que resulta em alteração da expressão do gene alvo. Numerosos estudos sugerem que a autofagia e os genes associados ao estresse oxidativo são os principais alvos da Sirt 1. Demonstrou-se que a Sirt1 regula o estresse oxidativo por meio da regulação do gene NOX. Curiosamente, a inibição de Sirt1 com agentes farmacológicos ou siRNA leva a uma elevação dos níveis de ROS, sugerindo uma relação causal entre Sirt1 e ROS. Nossos estudos recentes em um modelo de rato grávida com diabetes mellitus gestacional também demonstraram que Sirt1 pode interagir com a metilação do DNA, autofagia e sinalização de ROS em que sua interação

contribui para o desenvolvimento aberrante do fenótipo sensível à isquemia cardíaca na prole. Tomados em conjunto, nossos achados atuais com estudos anteriores sugerem que a expressão reduzida de Sirt1 pode ser um regulador molecular epigenético chave e um linker de rede entre a exposição fetal ao e-cig e a programação do fenótipo sensível à hipóxia-isquêmica do cérebro na vida pós-natal⁽¹⁰¹⁾.

Os cigarros eletrônicos utilizam uma ampla gama de produtos químicos aromatizantes com efeitos na saúde respiratória que não são bem compreendidos. Neste estudo, usamos linhagens de células pulmonares associadas para avaliar os efeitos citotóxicos *in vitro* de 30 produtos químicos aromatizantes. Células epiteliais brônquicas humanas (BEAS-2B) e macrófagos virgens e ativados (THP-1) foram tratados com 10, 100 e 1000 μ M de produtos químicos aromatizantes e analisados quanto a alterações na viabilidade, danos à membrana celular, espécies reativas de oxigênio (ROS) produção e liberação de citocinas inflamatórias. A viabilidade não foi afetada para todos os produtos químicos nas concentrações de 10 e 100 μ M. A 1000 μ M, as maiores reduções na viabilidade foram observadas com decanal, hexanal, nonanal, cinamaldeído, eugenol, vanilina, alfa-pineno e limoneno. Altas quantidades de ROS foram induzidas por vanilina, etil maltol e dicetonas (2,3-pentanodiona, 2,3-heptanodiona e 2,3-hexanodiona) de ambas as linhagens celulares. Células THP-1 virgens produziram níveis significativamente elevados de IL-1 β , IL-8 e TNF- α quando expostas a etil maltol e hexanal. Células THP-1 ativadas liberaram aumento de IL-1 β e TNF- α quando expostas ao etil maltol, mas muitos produtos químicos aromatizantes tiveram um aparente efeito supressor nas citocinas inflamatórias liberadas por macrófagos ativados, alguns com graus variados de citotoxicidade concomitante. As dicetonas, L-carvona e linalol suprimiram a liberação de citocinas na ausência de citotoxicidade. Essas descobertas fornecem informações sobre a citotoxicidade das células pulmonares e a liberação de citocinas inflamatórias em resposta a aromas comumente usados em cigarros eletrônicos⁽¹⁰²⁾.

Nosso estudo de 30 produtos químicos aromatizantes de cigarros eletrônicos em uma concentração de 1000 μ M encontrou efeitos variáveis e complexos na

citotoxicidade e na produção de citocinas inflamatórias em células epiteliais pulmonares humanas BEAS-2B e macrófagos pulmonares THP-1. Não foi observada citotoxicidade com nenhum produto químico a 10 e 100 uM. Os produtos químicos mais citotóxicos em ambas as linhagens celulares foram: alfa-pineno, decanal, eugenol, hexanal, nonanal e trans-2-hexen-1-al. As células THP-1 também foram sensíveis à citotoxicidade do cinamaldeído, etil maltol e limoneno. Efeitos pró e anti-inflamatórios foram observados, dependendo do produto químico, sendo o etil maltol o aromatizante mais pró-inflamatório, induzindo IL - 1 β , IL-8 e TNF- α , além de causar citotoxicidade. Espécies reativas de oxigênio foram significativamente induzidas por vanilina, etil maltol e a classe das dicetonas, incluindo 2,3 - pentanodiona, 2,3-hexanodiona e 2,3-heptanodiona, mas não por 2,3-butanodiona. A modelagem sugeriu que SMILES canônico é uma maneira útil de agrupar e explorar considerações de atividade estrutural. Mais pesquisas devem abordar a dosimetria desses produtos químicos in vivo, os vários mecanismos de toxicidade e as consequências do uso a longo prazo dessas misturas complexas. Essas descobertas fornecem informações sobre o potencial de citotoxicidade pulmonar, inflamação e estresse oxidativo apresentado pelo uso de cigarros eletrônicos e fornecem uma base para experimentos futuros com exposições a líquidos químicos aromatizantes ou aerossóis. Coletivamente, nossas descobertas sugerem que os usuários de cigarros eletrônicos com sabor podem estar em risco de toxicidade por inalação em uma variedade de tipos de sabor e um estudo mais aprofundado do risco de perturbação dos processos imunes e inflamatórios pulmonares normais é necessário⁽¹⁰²⁾.

Neste estudo, investigamos os efeitos do condensado de fumaça de cigarro (CSC) em dose toxicológica em comparação com o condensado de fumaça de cigarro eletrônico (ECSC) em nível de nicotina equivalente. O conteúdo de nicotina de CSC e ECSC foi determinado por UPLC. Células epiteliais pulmonares humanas (BEAS-2B) foram expostas a 0–32 μ g /ml de CSC e ECSC por 24 horas para determinar IC50 de viabilidade celular e avaliação morfológica. Inflamação, apoptose, análise do ciclo celular e análise do transcriptoma de RNA-Seq foram realizadas para caracterizar as diferenças entre CSC e ECSC. Descobrimos que a exposição aguda de células BEAS-2B a CSC em IC50 levou

a alteração morfológica, produção de citocinas inflamatórias e apoptose celular, enquanto ECSC não exerceu tais efeitos celulares em nível equivalente de nicotina. A análise do transcriptoma mostrou que os genes expressos diferencialmente em CSC eram muito mais do que em ECSC e enriquecidos principalmente na categoria de ciclo celular, reparo de DNA, câncer e vias metabólicas relacionadas. Essa parada do ciclo celular foi confirmada experimentalmente. Esses resultados sugerem que a dose toxicológica de ECSC pode ser muito maior do que a de CSC. Com base no conteúdo equivalente de nicotina, uma exposição aguda a CSC teve impactos significativos nos efeitos celulares e no perfil de expressão gênica em comparação com ECSC. Nossos resultados forneceram uma referência para os estudos de segurança do cigarro convencional e do cigarro eletrônico⁽¹⁰³⁾.

Aqui relatamos alterações transcriptômicas, incluindo diminuição da expressão de muitos genes ribossomais, em células epiteliais das vias aéreas em resposta à exposição ao e-cig. Usando o RNA-seq, identificamos mais de 200 genes expressos diferencialmente na interface ar-líquido cultivada em epitélio brônquico humano normal primário (NHBE) exposto à solução de fumaça de e-cig de cartuchos de e-cig comerciais. Em particular, a exposição à solução de fumaça de e-cig inibe as vias biológicas envolvendo ribossomos e biogênese de proteínas nas células NHBE. Consistente com este efeito, a expressão das proteínas ribossômicas correspondentes e a subsequente biogênese de proteínas são reduzidas nas células expostas ao e-cig. A análise de cromatografia gasosa/espectrometria de massa (GC/MS) identificou a presença de cinco produtos químicos aromatizantes designados como 'alta prioridade' em relação à saúde respiratória e metilgioxal na solução de fumaça de cigarro eletrônico. Juntos, nossos achados revelam o potencial efeito prejudicial da fumaça do cigarro eletrônico nos ribossomos e a biogênese de proteínas associada no epitélio das vias aéreas. Nosso estudo exige uma investigação mais aprofundada sobre como essas mudanças no epitélio das vias aéreas contribuem para a atual epidemia de lesões pulmonares em usuários de e-cig⁽¹⁰⁴⁾.

Nossas descobertas revelam que a solução de fumaça de e-cig afeta as vias biológicas relacionadas às proteínas ribossômicas e à síntese de proteínas nas células NHBE. Além disso, mostramos que a exposição à solução de fumaça de e-cig regulou negativamente a expressão de genes que codificam proteínas ribossomais e diminuiu a síntese de novas proteínas das células. Devido às associações de crescente popularidade do uso de e-cig entre as pessoas e associações de uso de e-cig e doenças respiratórias graves, mais estudos mecanísticos são necessários para avaliar os efeitos do e-cig no epitélio das vias aéreas⁽¹⁰⁴⁾.

O tabaco é o principal agente etiológico na piora do carcinoma espinocelular (LUSC) do pulmão. Entretanto, tem sido demonstrado que agentes etiológicos alteram a expressão de RNAs intensificadores (eRNAs). Portanto, nosso objetivo foi identificar os efeitos do uso de tabaco e cigarro eletrônico (e-cigarette) na expressão de eRNA em relação aos resultados de LUSC. Nós extraímos as contagens de eRNA do sequenciamento de RNA dados do tumor/tecido normal adjacente e antes/depois do tecido do cigarro eletrônico do The Cancer Genome Atlas (TCGA) e Gene Expression Omnibus (GEO), respectivamente. Os eRNAs de LUSC mediados por tabaco foram correlacionados com a sobrevida do paciente, variáveis clínicas e elementos imunoassociados. A expressão de eRNA também foi correlacionada com as taxas de mutação por meio do algoritmo REVEALER (Repetited Evaluation of Variables Conditional Entropy and Redundance) e sites metilados por meio de methylationArrayAnalysis. A análise de expressão diferencial foi então concluída para os dados do cigarro eletrônico para comparar com os principais eRNAs mediados pelo tabaco. Identificamos 684 eRNAs regulados negativamente e 819 eRNAs regulados positivamente associados a LUSC mediadas pelo tabaco, especificamente, com o estágio patológico do câncer. Também observamos uma diminuição na abundância de células imunes em LUSC mediadas por tabaco. No entanto, encontramos uma associação aumentada da expressão de eRNA com abundância de células imunes em LUSC mediadas por tabaco. Identificamos 16 eRNAs chave com correlações significativas para 8 variáveis clínicas, implicando esses eRNAs na malignidade LUSC. Além disso, observamos que esses 16 eRNAs foram altamente associados a alterações cromossômicas e redução da

metilação do sítio CpG. Finalmente, observamos uma grande regulação positiva da expressão de eRNA com o uso de cigarro eletrônico, que correspondeu à regulação positiva dos 16 eRNAs chave. Nossas descobertas fornecem um novo mecanismo pelo qual a fumaça do tabaco e do cigarro eletrônico influencia as interações de eRNA para promover a patogênese de LUSC e fornecer informações sobre a progressão da doença em nível molecular⁽¹⁰⁵⁾.

Nosso estudo fornece informações importantes sobre eRNAs específicos e sua influência no LUSC mediado pelo fumo. Identificamos e analisamos os efeitos da fumaça do tabaco na expressão do eRNA e a influência da desregulação do eRNA mediada pelo fumo na patogênese das LUSC. Identificamos que, embora os eRNAs na coorte LUSC de não fumantes não se correlacionem com a sobrevida do paciente, muitos eRNAs desregulados no LUSC do início do tabagismo foram significativamente correlacionados com a sobrevida do paciente, abundância de células imunes e estágio patológico LUSC avançado. Dos eRNAs desregulados no LUSC do início do tabagismo, continuamos a filtrar e identificar 16 eRNAs que consideramos os contribuintes mais críticos e preditores de um cenário imunológico alterado e fenótipo tumoral avançado no LUSC. Um total de 14 dos 16 eRNAs foram destacados como oncogênicos, pois foram correlacionados com a redução da sobrevida do paciente, positivamente associados ao estágio avançado do câncer e à metástase do tumor, e tiveram uma expressão de mudança de dobra de log maior que 1. Dos 16 eRNAs, dois foram destacados como supressores de tumor, pois estavam correlacionados com o aumento da sobrevida do paciente, negativamente associados ao estágio avançado do câncer e à metástase do tumor, e tinham uma expressão de alteração de dobra de log inferior a -1⁽¹⁰⁵⁾.

Também descobrimos que esses 16 eRNAs -chave críticos para a patogênese LUSC foram associado a um alto grau de alterações cromossômicas e uma diminuição da extensão da metilação do DNA em locais-chave. Dada a forte associação desses 16 eRNAs com desfechos clínicos, eles poderiam servir como marcadores prognósticos em LUSC com início do tabagismo. Além disso, descobrimos que vários desses 16 eRNAs principais estavam desregulados na presença de fumaça de cigarro eletrônico. Até onde sabemos, somos os

primeiros a traçar o perfil de eRNAs significativamente desregulados associados ao vapor do cigarro eletrônico, fornecendo um novo mecanismo pelo qual o vaping pode contribuir para a patogênese de LUSC. Pesquisas futuras usando experimentos in vitro e in vivo são necessárias para validar nossos achados atuais sobre a influência de eRNAs na progressão de LUSC⁽¹⁰⁵⁾.

Usamos um modelo vaping in vivo para demonstrar níveis aumentados de quimiotaxia de macrófagos e citocinas inflamatórias após um período de exposição aguda. Além disso, agora implicamos um mecanismo dependente de Ca ²⁺ que leva a essa resposta pró-inflamatória e à ativação de células imunes. Esse aumento na ativação de macrófagos provavelmente exacerbaria os sintomas de pneumonia devido à infecção microbiana pulmonar. Esses achados indicam que o uso de E-cig tem efeitos potenciais na saúde pulmonar e no resultado da doença⁽¹⁰⁶⁾.

Como o uso de cigarro eletrônico (E-cig), também conhecido como “vaping”, aumentou rapidamente em popularidade, surgiram recentemente dados sobre possíveis efeitos patológicos. Associações recentes entre vaping e patologia pulmonar levaram a uma necessidade crescente de examinar os E-cigs quanto a impactos adversos à saúde. Nossa trabalho anterior (e outros) associou vaping com citotoxicidade dependente de Ca ²⁺ em células epiteliais das vias aéreas humanas cultivadas. Aqui, desenvolvemos um modelo de camundongo de exposição pulmonar e-líquido vaped para avaliar os efeitos vaping in vivo. Usando este modelo, demonstramos a patologia pulmonar por meio do uso de medidas pré-clínicas, ou seja, a proporção de pulmão úmido: seco e histologia pulmonar/coloração de H&E. Além disso, demonstramos que o vaping agudo aumenta a quimiotaxia de macrófagos, que foi verificada usando técnicas baseadas em citometria de fluxo, e a produção de citocinas inflamatórias, via análise Luminex, por meio de um mecanismo dependente de Ca ²⁺. Este aumento na ativação de macrófagos parece exacerbar a patologia pulmonar resultante de infecção microbiana. É importante ressaltar que a modulação da sinalização de Ca ²⁺ pode apresentar uma direção terapêutica para o tratamento contra a inflamação pulmonar associada ao vaping⁽¹⁰⁶⁾.

A formação de carbonilas e epóxidos no aerossol do cigarro eletrônico (EC) é possível devido ao aquecimento dos constituintes líquidos. No entanto, altos níveis de fundo desses compostos inibiram uma avaliação clara da exposição durante o uso de ECs. Um CE contendo um e-líquido substituído por 10% de propileno glicol marcado com ^{13}C e glicerol foi usado em um estudo clínico de uso controlado com 20 usuários de CE. Além disso, cinco fumantes fumaram cigarros enriquecidos com o e-líquido descrito. Sete carbonilas (formaldeído, acetaldeído, acroleína, acetona, crotonaldeído, metacroleína, propionaldeído) foram medidas no aerossol e na fumaça principal. Os biomarcadores correspondentes de exposição foram determinados nas amostras de urina do usuário. Formaldeído, acetaldeído e acroleína marcados com ^{13}C foram encontrados no aerossol EC, enquanto todos os sete carbonilos marcados foram detectados na fumaça. Os biomarcadores marcados de exposição a formaldeído (ácido ^{13}C -tiazolidina carboxílico e $^{13}\text{CN}-(1,3\text{-tiazolidina-4- carbonil})\text{glicina}$), acroleína (ácido $^{13}\text{C}_3$ -3-hidroxipropilmercaptúrico) e glicidol ($^{13}\text{C}_3$ - ácido diidroxipropilmercaptúrico) estavam presentes na urina de vapers, indicando uma exposição específica do uso de CE a esses tóxicos. No entanto, outras fontes além do vaping contribuem em uma extensão muito maior em várias ordens de magnitude para a exposição geral a esses tóxicos. A comparação dos dados dos biomarcadores nativos (não rotulados) e rotulados (específicos da exposição) revelou o vaping como uma fonte menor de exposição do usuário a esses tóxicos, enquanto outros carbonilos e epóxidos não foram detectáveis no aerossol EC⁽¹⁰⁷⁾.

Conseguimos determinar a exposição a vários carbonilos e epóxidos, resultantes da degradação térmica de propilenoglicol e glicerol sob condições de fumar e vaporizar usando uma abordagem de marcação de isótopos estáveis. A formação de vários tóxicos, como crotonaldeído, metacroleína e acetona, foi observada apenas durante a combustão de cigarros convencionais, enquanto o propilenoglicol e o glicerol também podem ser decompuestos em formaldeído, acetaldeído, acroleína e glicidol sob condições comuns de vaping, em geral em um grau muito menor em comparação com fumar. A avaliação dos biomarcadores correspondentes de exposição na urina confirmou os achados dos dados de aerossol para formaldeído e acroleína, enquanto um biomarcador

adequado para exposição ao acetaldeído ainda precisa ser identificado. Este é o primeiro estudo a provar a absorção específica de glicidol pela EC devido à degradação do propilenoglicol e/ou glicerol durante o vaping. No entanto, o vaping parece ser uma fonte menor em relação à exposição geral ao formaldeído, acroleína e glicidol⁽¹⁰⁷⁾.

Embora inicialmente comercializado como uma alternativa mais segura aos cigarros combustíveis tradicionais, estudos mostraram os potenciais efeitos nocivos dos e-Cigs. De fato, o diacetil, um aditivo químico usado para aromatizar, tem sido associado a lesões pulmonares em trabalhadores ocupacionais. Como uma medida determinística do risco não cancerígeno (sistêmico) para exposições ao diacetil, todos os valores de HQ foram superiores a 1 (faixa 6,2875–297,1429), sugerindo um risco não cancerígeno significativamente maior de exposições ao diacetil entre adolescentes e adultos que usam e-Cigs. Como existem relativamente poucos estudos especificamente relacionados à exposição ao e-Cig por via inalatória, mais estudos precisam ser conduzidos para abordar as incertezas discutidas acima, a fim de modelar quocientes de perigo mais precisos para riscos não relacionados ao câncer, bem como para avaliar quaisquer riscos potenciais de câncer. O aumento do uso de e-Cig, juntamente com as estimativas de risco significativamente mais altas, ressaltam a necessidade de regular o uso de e-Cig entre adolescentes e adultos para protegê-los da exposição ao diacetil e do risco de desenvolver bronquiolite obliterante e outras lesões pulmonares⁽¹⁰⁸⁾.

Diacetil ($C_4H_6O_2$) é um tóxico comumente encontrado em cigarros eletrônicos (e-Cigs) como componente aromatizante e intensificador de sucos eletrônicos. A lesão pulmonar em trabalhadores e ex-trabalhadores da fabricação de pipoca sugere uma possível associação com a exposição à inalação de diacetil. Embora o número de usuários de e-Cig continue a aumentar constantemente entre adolescentes e adultos, o risco potencial de doença pulmonar não foi caracterizado. Uma revisão sistemática da literatura aberta identificou a bronquiolite obliterante – uma inflamação patológica que resulta em fibrose dos bronquíolos levando a uma limitação irreversível do fluxo de ar nos pulmões – como o resultado primário das exposições ao diacetil. Seguindo a estrutura de

avaliação de risco determinística do Conselho Nacional de Pesquisa dos Estados Unidos/Agência de Proteção Ambiental, que consiste em quatro etapas principais: identificação de perigo, avaliação de dose-resposta, avaliação de exposição e caracterização de risco, estimamos os riscos não cancerígenos (sistêmicos) usando um quociente de perigo (HQ) sobre a exposição ao diacetil entre adolescentes e adultos que usam e-Cigs. Com base na dose de referência do NIOSH (BMD; 0,0175 mg/kg-dia) e nas doses diárias médias modeladas (ADDs; intervalo de 0,11 a 5,2 mg/kg-dia), estimamos 12 valores diferentes de HQ - uma medida de risco não cancerígeno para exposições por inalação de diacetil - todas maiores que 1 (intervalo 6,2875–297,1429), sugerindo um risco não cancerígeno significativamente maior de exposições a diacetil entre os adolescentes e adultos que usam e-Cigs. Esses resultados ressaltam a necessidade de regulamentar os e-Cigs para proteger adolescentes e adultos da exposição ao diacetil e do risco de desenvolver lesões pulmonares, incluindo bronquiolite obliterante⁽¹⁰⁸⁾.

Os cigarros eletrônicos ganharam popularidade global significativa e em todos os grupos demográficos ou etários como uma alternativa ao tabaco combustível. Os cigarros eletrônicos estão sendo comercializados para serem particularmente atraentes para menores, adolescentes e jovens adultos, em parte por meio de publicidade envolvente e esforços de marketing cuidadosamente direcionados. Embora frequentemente comercializados como uma ajuda segura para parar de fumar, não há evidências de que os cigarros eletrônicos ou outros dispositivos ENDS sejam uma ferramenta eficaz para parar de fumar. As consequências dos produtos de tabaco convencionais para a saúde são bem conhecidas, incluindo o aumento de consultas médicas e maior probabilidade de lesões em militares; no entanto, os efeitos do ENDS na saúde ainda estão surgindo. Em muito pouco tempo, e-cigs e ENDS se estabeleceram como dispositivos cada vez mais populares entre adolescentes e jovens adultos e como uma alternativa ao fumo convencional de produtos de tabaco combustível. Embora muitas vezes comercializados como uma ajuda para a cessação do tabagismo, as evidências de pesquisa não demonstraram um impacto positivo na diminuição do consumo ou abstinência do tabaco, ou estabeleceram os cigarros eletrônicos como seguros - atualmente não há dados que apoiem ou demonstrem formalmente a

segurança do uso de cigarros eletrônicos. Embora os e-cigs sejam muitas vezes declarados pelos anunciantes, e até mesmo na literatura revisada por pares, como sendo relativamente "mais seguros" (mas certamente não seguros) do que os cigarros de tabaco combustível, o que "mais seguro" realmente significa no contexto da saúde humana, quando o dispositivo e seu conteúdo são claramente inseguros?⁽¹⁰⁹⁾

Embora as consequências dos produtos de tabaco convencionais para a saúde estejam bem estabelecidas, incluindo aumento das consultas médicas e maior probabilidade de lesões em membros do serviço, os efeitos potenciais do uso de ENDS para a saúde estão apenas começando a surgir e provavelmente permanecerão amplamente desconhecidos por vários anos. Apesar de muitos artigos científicos publicados e revisados por pares, um esforço destinado a definir um 'perfil de risco baseado em evidências' para o uso de e-cig permanece, na melhor das hipóteses, um desafio. Além disso, muitos dos estudos resumidos neste relatório foram derivados de autores e/ou instituições/entidades com claros conflitos de interesse, alguns dos quais foram financiados principalmente pelas grandes empresas de tabaco ou fabricantes de dispositivos e-cig. Além disso, a estratégia de redução de danos do uso de e-cig é fundamentalmente falha. Embora possa haver benefícios potenciais para os fumantes relutantes em parar de fumar cigarros convencionais de tabaco combustível, conclui-se que os ex-fumantes e os que nunca fumaram são populações suscetíveis que correm maior risco caso optem por usar e-cigs, particularmente menores, adolescentes e jovens adultos que são alvo de estratégias de publicidade e marketing⁽¹⁰⁹⁾.

No entanto, estamos cientes de que produtos químicos perigosos são de fato formados acidentalmente a partir do uso de dispositivos e-cig. Por exemplo, o formaldeído é gerado pela oxidação dos umectantes glicerol/glicol quando o e-líquido entra em contato com as bobinas de fio aquecidas do e-cig. Estudos de exposição são urgentemente garantidos porque muitos dos dispositivos ENDS disponíveis no mercado são heterogêneos em seu design e recursos, capacitando o usuário final com a capacidade de personalizar a tensão da bateria aplicada e, portanto, o calor gerado, a taxa de sopro e a topografia, e o tipo de e-líquido que é vaporizado. Essas variáveis podem afetar a duração da

exposição, a concentração e a dose efetiva de tóxicos como o formaldeído, aos quais o usuário final é exposto toda vez que são usados⁽¹⁰⁹⁾.

Assim, os efeitos a longo prazo ou crônicos na saúde do usuário prolongado e repetitivo de e-cigs são desconhecidos. A dose de nicotina fornecida por e-cigs vaping e ENDS, e uma infinidade de outros componentes químicos e contaminantes aos quais os usuários de e-cig serão expostos, varia acentuadamente entre os dispositivos. Consequentemente, não existe um e-cig ou ENDS típico ou padrão. Reconhece-se que existem preocupações com relação à segurança geral dos cigarros eletrônicos e seus efeitos suspeitos na saúde e bem-estar humanos. Além disso, tem havido relatos crescentes de envenenamento accidental ou intencional e tentativas de suicídio por ingestão de soluções líquidas contendo nicotina destinadas à recarga de cigarros eletrônicos não descartáveis. É notável que a fabricação e vendas e marketing agressivos de um produto com efeitos crônicos ou de longo prazo desconhecidos na saúde sejam permitidos na ausência de controle de qualidade padronizado, rotulagem descritiva ou informativa e regulamentação adequada de saúde pública. No entanto, em relativamente desenvolvimentos recentes, a FDA ampliou sua definição de produtos de tabaco para incluir ENDS, aplicando os regulamentos de tabaco existentes à venda, distribuição, marketing e publicidade desses produtos⁽¹⁰⁹⁾.

Estudos recentes dos componentes químicos em e-cigs e outros dispositivos ENDS encontraram combinações de compostos carbonílicos, formaldeído, metais pesados e de transição, material particulado fino e ultrafino (ou nanoparticulado) e compostos orgânicos voláteis (VOCs), entre outros componentes químicos ou suplementação personalizada do e-líquido. Embora o principal problema de saúde associado seja o fornecimento de níveis viciantes e potencialmente tóxicos de nicotina, os efeitos adversos a longo prazo permanecem desconhecidos⁽¹⁰⁹⁾.

Também existem preocupações sobre os riscos potenciais para a saúde da exposição de segunda e terceira mão a aerossóis exalados e sedimentação de partículas na poeira encontrada em móveis, carpetes, superfícies planas e

roupas pessoais e cabelos, potencialmente afetando negativamente a qualidade do ar interno. Também existe um potencial claro para os usuários abusarem de dispositivos vaping para consumir cannabis e outras drogas psicoativas, e potencialmente fazê-lo sem serem detectados. Outra preocupação crescente é que as estratégias de marketing atuais também visam especificamente os membros do serviço, além das conhecidas estratégias de publicidade e marketing que tornam os dispositivos e-cig e ENDS atraentes para menores e adolescentes em virtude dos nomes e cores dos suplementos aromatizantes presentes no formulações de e-líquido. Evidências emergentes indicam a possibilidade de que os usuários de e-cig possam desenvolver doenças pulmonares adversas após a exposição respiratória a aromatizantes líquidos de e-cig⁽¹⁰⁹⁾.

No contexto da preocupação ambiental mais ampla com relação ao descarte e lixo de cigarros eletrônicos, há uma apreciação emergente de que metais e outros componentes de cigarros eletrônicos podem vaziar desses dispositivos eletrônicos operados por bateria. Ao fazer isso, os dispositivos ENDS podem colocar em risco o bem-estar de crianças que podem se engasgar com os detritos ou cápsulas de e-líquido derivadas desses dispositivos. Além disso, Ecigs e cápsulas recarregáveis de e-líquido sem cuidado também podem representar um risco para muitas espécies selvagens, incluindo pássaros e pequenos mamíferos que se alimentam de folhagens e áreas gramadas de parques, espaços abertos e bairros paisagísticos e, portanto, consomem inadvertidamente componentes desses dispositivos com consequências indesejáveis para a sua saúde⁽¹⁰⁹⁾.

Ajuda para parar de fumar e são comercializados como tal na ausência de quaisquer ensaios clínicos sistemáticos em fases da eficácia e toxicidade potencial de novos produtos, esta situação prevalecente é um pouco contrária ao convencional processo aplicado ao teste clínico, marketing e venda de uma intervenção terapêutica projetada para intervenção ou tratamento humano. Além disso, existem preocupações genuínas de saúde pública em relação à segurança e validade dos cigarros eletrônicos como dispositivos clinicamente úteis ou recreacionalmente aceitáveis. Além disso, o uso de e-cig muitas vezes

não é empregado para ajudar os fumantes a parar de fumar cigarros de tabaco convencionais, mas, em vez disso, é abusado em uma prática comumente chamada de 'vaping furtivo'. A prática do vaping furtivo é evitar as proibições de fumar associadas aos cigarros tradicionais e personalizar os dispositivos de forma que o vaping possa ocorrer sem ser facilmente detectado⁽¹⁰⁹⁾.

Conclui-se que, dada a complexidade e as opções personalizáveis do usuário dos e-cigs, as comunidades reguladoras e científicas precisam buscar estudos detalhados e racionais para abordar três preocupações principais com relação aos impactos atuais na saúde pública do marketing e uso contínuo de e-cig: 1) em estudos cuidadosamente controlados, determinar o grau de toxicidade e potencial de danos dos produtos químicos e compostos encontrados na gama de dispositivos e-cig; 2) determinar quão difundido é o uso de e-cig; e 3) identificar as populações em risco de efeitos na saúde do e-cig, uma vez que esses efeitos na saúde tenham sido identificados⁽¹⁰⁹⁾.

Este estudo piloto mostra evidências preliminares de que vaporizar 20 baforadas de um cigarro eletrônico é suficiente para causar alterações significativas na expressão do supressor de tumor TP53, além de outros genes relacionados ao câncer (por exemplo, MPG) em humanos. Esses eventos moleculares iniciais podem ser usados como biomarcadores de exposição a carcinógenos de cigarros eletrônicos; no entanto, estudos maiores de acompanhamento (in vitro e in vivo) são necessários para entender como esses eventos moleculares contribuem para o acúmulo de lesões não reparadas. Este estudo também mostrou expressão correlacionada de MPG e TP53 após vaping, e que os comportamentos de vaping afetam as mudanças na expressão gênica em tecidos-alvo relevantes. Esses resultados preliminares requerem confirmação; e um estudo maior em humanos é necessário para entender melhor o impacto do uso de e-cig nesses genes e vias, bem como como o comportamento do vaping modifica a exposição e a toxicidade do e-cig⁽¹¹⁰⁾.

Há uma escassez de dados sobre como a expressão gênica permite a identificação de indivíduos que correm o risco de exposição a agentes cancerígenos do vaping de cigarro eletrônico (e-cig); e como os comportamentos

vaping humanos modificar essas exposições. Este estudo piloto teve como objetivo identificar genes regulados pela exposição aguda para e-cig usando RT-qPCR. Três sujeitos (2M e 1F) fizeram três visitas ao laboratório (nTOT = 9 visitas); amostras bucais e de sangue foram coletadas antes e imediatamente após vaporizar 20 baforadas (nTOT = 18 amostras); dados de topografia vaping foram coletados em cada sessão. Os indivíduos usaram seu próprio e-cig contendo 50:50 propileno glicol (PG):vegetal glicerina (VG) +3–6 mg/mL de nicotina. O supressor de tumor TP53 foi significativamente regulado positivamente em amostras bucais. A expressão de TP53 foi dependente do volume de sopro e da taxa de fluxo em ambos os tecidos. No sangue, a significativa redução da N-metilpurina DNA glicosilase (MPG), um gene de reparo por excisão de base, foi consistente em todos os indivíduos. Além da via de reparo do DNA, as vias do ciclo celular e do câncer foram as vias mais enriquecidas em amostras bucais e de sangue, respectivamente. Este estudo piloto demonstra que vaporizar 20 baforadas altera significativamente a expressão de TP53 em tecidos humanos; o comportamento vaping é um modificador importante dessa resposta. Um estudo maior é necessário para confirmar essas relações⁽¹¹⁰⁾.

As hospitalizações e mortes relacionadas a cigarros eletrônicos nos EUA continuam a aumentar. Uma alta porcentagem de pacientes apresenta testes de função hepática elevados, indicativos de toxicidade sistêmica. Este estudo foi projetado para determinar o efeito dos produtos químicos do cigarro eletrônico na toxicidade das células do fígado. As células HepG2 foram expostas a produtos químicos aromatizantes (acetato de isoamila, vanilina, etil vanilina, etil maltol, L-mentol e trans-cinamaldeído), propileno glicol e misturas de glicerina vegetal, e a viabilidade celular foi medida. Os dados revelaram que a vanilina, etil vanilina e etil maltol diminuíram a viabilidade das células HepG2; a exposição repetida causou aumento da citotoxicidade em relação à exposição única, consistente com a hipótese de que o vaping frequente pode causar hepatotoxicidade⁽¹¹¹⁾.

No geral, esses estudos sugerem que os produtos químicos aromatizantes e os coquetéis diminuem a viabilidade de um modelo de célula hepática comumente

usado. Com base nos dados apresentados, os aromatizantes químicos de particular interesse para estudos futuros são vanilina, etil vanilina, etil maltol e L-mentol. Embora as combinações de PG/VG sozinhas não pareçam diminuir a viabilidade das células HepG2, elas podem contribuir para a citotoxicidade observada com os coquetéis e justificar um exame mais aprofundado. Está bem documentado que os cigarros eletrônicos têm o potencial de causar toxicidade sistêmica, incluindo lesão hepática. Como os e-líquidos contendo produtos químicos aromatizantes têm crescido em popularidade, especialmente entre os jovens, fica claro que pesquisas adicionais são necessárias para entender os mecanismos de toxicidade e as combinações químicas que têm maior risco de hepatotoxicidade⁽¹¹¹⁾.

O presente estudo avaliou a associação da exposição ao cigarro eletrônico (CE) com o nível sérico de ácido úrico (AU) e hiperuricemia (HUA) usando uma amostra nacionalmente representativa da Coreia do Sul. Este estudo incluiu 10.692 participantes (9.905, 609 e 178, nunca, nunca e usuários atuais de CE, respectivamente). Os níveis urinários de cotinina e 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanol (NNAL) foram usados para determinar a exposição ao fumo convencional entre usuários de CE. A associação entre uso de CE e nível de AU foi avaliada por análise de regressão linear. A análise de regressão logística multivariada foi utilizada para avaliar a associação entre EC e HUA. A análise de subgrupo confinada a fumantes ativos verificados com cotinina foi realizada para abordar a associação entre o uso duplo de CE e cigarros combustíveis e os níveis séricos de AU. O nível sérico de AU foi maior entre as atuais usuárias de CE, seguidas pelas que nunca usaram e nunca usaram CE. A prevalência de HUA foi de 26,2%, 19,3% e 10,8% em atual, sempre e nunca usuários da CE, respectivamente. Embora a exposição ao EC tenha sido associada positivamente com HUA de maneira dependente da dose apenas em homens ($p = 0,04$), uma tendência semelhante também foi observada em mulheres com significância marginal ($p = 0,102$). A associação positiva de HUA com exposição a CE foi mais aparente entre os usuários duais (odds ratio [OR] = 1,96, intervalo de confiança [IC] de 95%: 1,29–2,99) do que entre aqueles que fumavam apenas cigarros combustíveis. A exposição ao EC foi associada a níveis séricos mais altos de AU e maior OR de HUA. A associação positiva entre a exposição ao EC

e HUA foi mais proeminente em usuários duplos que consumiram simultaneamente CE e cigarros combustíveis⁽¹¹²⁾.

No presente estudo, nosso objetivo foi avaliar o efeito de uma mudança de cigarros convencionais para e-cigarros na reatividade brônquica em condições realistas. Essas condições chamam a atenção para o fato de que a maioria dos indivíduos que mudam para cigarros eletrônicos ainda fuma cigarros convencionais em grau significativo. Portanto, não interferimos no comportamento tabágico dos participantes, exceto pela exigência de uso de líquidos contendo nicotina. De fato, após o período de observação de 3 meses, o número médio de cigarros de tabaco consumidos diminuiu cerca de 75%, o que foi ligeiramente menor do que a redução observada em um grupo de controle que parou de fumar. A reatividade brônquica ao estímulo indireto manitol diminuiu significativamente, especialmente no grupo do cigarro eletrônico. Outros parâmetros como função pulmonar espirométrica, FeNO, CO exalado ou cotinina na urina não foram ou foram menos informativos. Essas observações indicam que a redução da reatividade brônquica esperada após a redução do consumo de cigarros não foi abolida pelo uso concomitante de cigarros eletrônicos. Se a diminuição da responsividade brônquica observada após 3 meses é mantida ao usar cigarros eletrônicos por mais tempo ou tem valor prognóstico individual, deve ser esclarecido em estudos de longo prazo⁽¹¹³⁾.

Foram incluídos 60 indivíduos que declararam reduzir ou interromper o consumo de tabaco por inalação de líquidos contendo nicotina via cigarro eletrônico e 20 voluntários que participaram de um programa para parar de fumar. Os dados foram analisados por meio de procedimentos estatísticos paramétricos e não paramétricos. Espirometria, dosagens de monóxido de carbono exalado (eCO) e óxido nítrico (FeNO), teste de provação com manitol como estímulo brônquico indireto e dosagens de cotinina foram utilizados para investigar a HRB e a abstinência de nicotina. A bronchial reactivity (BHR) para manitol diminuiu significativamente no grupo que usava cigarros eletrônicos e líquidos contendo nicotina durante um período de três meses neste cenário da vida real. Os participantes reduziram o consumo de tabaco para cerca de 25% ou menos, confirmado por uma redução no eCO. As alterações na função pulmonar e na

FeNO foram pequenas e não estatisticamente significativas, e as alterações no grupo que parou de fumar foram semelhantes às do grupo do cigarro eletrônico. A redução da HRB que pode ser esperada após a redução do consumo de cigarros não foi abolida pelo uso concomitante de cigarros eletrônicos. Se a diminuição da HRB observada após 3 meses é mantida ao usar cigarros eletrônicos por períodos de tempo mais longos ou se tem valor prognóstico individual, isso deve ser esclarecido em estudos de longo prazo⁽¹¹³⁾.

Os cigarros eletrônicos imitam cigarros combustíveis por meio de uma tecnologia de aquecimento que vaporiza um líquido de recarga composto por solventes, sabores e nicotina. Por vezes, os cigarros eletrônicos ainda são utilizados como suporte para a cessação tabágica, mesmo que em 2019 tenha ocorrido um surto de lesão pulmonar aguda nos EUA, afetando sobretudo adolescentes e adultos jovens, e correlacionado com os eCigs. Portanto, devido à falta de conhecimento definitivo sobre o(s) mecanismo(s) de toxicidade do líquido de refil e considerando que investigações anteriores deram resultados controversos, o objetivo do presente estudo foi a avaliação da citotoxicidade de diferentes líquidos de refil em células endoteliais humanas, avaliada por meio de duas abordagens diferentes *in vitro*, ou seja, a resazurina e os ensaios de liberação de LDH. Nossos resultados demonstraram claramente que diferentes líquidos de recarga (6 amostras) apresentam diferentes níveis de citotoxicidade em nosso modelo celular, embora sua citotoxicidade tenha sido sempre menor do que a observada para o condensado obtido de cigarros tradicionais (3 amostras). Esses resultados sugerem que avaliações precisas devem ser fornecidas para líquidos de refil, em particular para correlacionar sua toxicidade com sua composição química, com o objetivo final de obter informações úteis para os órgãos envolvidos na regulamentação de seus componentes⁽¹¹⁴⁾.

A popularidade de produtos de tabaco novos e emergentes, como os cigarros eletrônicos (E-cigs), está se expandindo rapidamente em todo o mundo. No entanto, existem incertezas em torno das possíveis consequências para a saúde devido ao uso de tais produtos e justificam um estudo mais aprofundado. Os epitélios das vias aéreas A549 e Calu-3 cultivados foram expostos a três dos oito tipos de líquidos eletrônicos da marca JUUL (“Mint”, “Virginia Tobacco” e

“Menthol”, todos contendo 3% de nicotina a 1% e 3% (vol /vol) diluições) e avaliada quanto à viabilidade usando um ensaio baseado em resazurina. Os níveis intracelulares de Ca²⁺ foram medidos usando indicadores fluorescentes e os níveis de citocinas pró-inflamatórias foram monitorados por PCR quantitativo (qPCR). As culturas também foram analisadas por citometria de fluxo para avaliar marcadores apoptóticos e viabilidade celular. A exposição das células epiteliais das vias aéreas aos e-líquidos JUUL com sabor levou a uma citotoxicidade significativa, sendo o sabor “Ment” o mais citotóxico em geral. O e-líquido com sabor de “menta” também levou a elevações significativas no Ca²⁺ intracelular e regulação positiva da citocina pró-inflamatória IL-6 e marcador apoptótico precoce. O desafio JUUL e-liquid resultou na perda da viabilidade das células epiteliais das vias aéreas, induziu respostas pró-inflamatórias e, eventualmente, causou apoptose⁽¹¹⁵⁾.

O impacto biológico da exposição a um aerossol de um dispositivo de e-vapor foi investigado usando modelos brônquicos e alveolares humanos. O impacto biológico da exposição ao aerossol de vapor eletrônico foi menor do que o da fumaça do cigarro em níveis de nicotina semelhantes. Os efeitos da exposição nos níveis moleculares foram avaliados usando uma abordagem de toxicologia de sistemas⁽¹¹⁶⁾.

Sugeriu-se que a exposição ao aerossol de produtos de vapor eletrônico (e-vapor) resulta em menos risco de danos aos fumantes do que a exposição à fumaça de cigarro (CS). Embora muitos estudos sobre produtos e-vapor tenham testado os efeitos de formulações líquidas em culturas de células, poucos avaliaram os efeitos de aerossol. Examinamos os efeitos da exposição aguda ao aerossol de um dispositivo de e-vapor que usa a tecnologia MESH1 (IQOS1 MESH, Philip Morris International) e ao CS do cigarro de referência 3R4F em cultura epitelial brônquica organotípica humana e modelos de tricultura alveolar. Em contraste com 3R4F CS exposição, a exposição ao aerossol IQOS MESH (aroma Classic Tobacco) não causou citotoxicidade em culturas epiteliais brônquicas ou tri culturas alveolares, apesar de suas maiores concentrações de nicotina depositada (3 e 4 vezes, respectivamente). A exposição ao CS causou uma diminuição acentuada na frequência e na área ativa do batimento ciliar em

culturas brônquicas, enquanto a exposição ao aerossol IQOS MESH, não. A expressão global de mRNA e os perfis de proteína secretada revelaram um impacto significativamente menor da exposição ao aerossol IQOS MESH do que a exposição ao 3R4F CS. No geral, todo o nosso estudo de exposição ao aerossol mostra um impacto claramente reduzido do aerossol IQOS MESH em relação ao CS em culturas brônquicas e alveolares, mesmo em doses maiores de nicotina⁽¹¹⁶⁾.

O presente estudo demonstrou a adequação de dois modelos pulmonares ALI diferentes que imitam duas regiões distintas dos pulmões para testes de toxicidade de aerossóis inalados para serem usados como modelos para estudar os efeitos da exposição a aerossóis como CS e aerossóis de produtos de vapor eletrônico. Além disso, uma abordagem de toxicologia de sistemas forneceu uma avaliação mais robusta dos efeitos da exposição à fumaça/aerossol no nível molecular. O estudo mostra que a exposição ao aerossol MESH Classic Tobacco não diluído gerado com a tecnologia IQOSMESH resultou em menor toxicidade e teve um impacto biológico menor em dois modelos pulmonares in vitro em comparação com a exposição CS, mesmo em doses de nicotina depositadas muito maiores⁽¹¹⁶⁾.

Os cigarros eletrônicos são os produtos contendo nicotina mais comumente usados entre os adolescentes. O epitélio oral é o primeiro local de exposição e nosso trabalho recente revelou uma diversidade considerável entre os e-líquidos para composição e nível de constituintes químicos que afetam a deposição de nicotina em um molde de traqueia oral humana e afetam a formação de carbonilas reativas. Aqui, avaliamos a resposta à dose para citotoxicidade e genotoxicidade de aerossóis gerados por cigarro eletrônico de 10 produtos líquidos com e sem sabor com e sem nicotina em comparação com sem sabor em 3 linhagens de células epiteliais orais imortalizadas. Três e-líquidos, Blue Pucker, Love Potion e Jamestown causaram 20% de toxicidade celular avaliada pelo ensaio de absorção de vermelho neutro. Nove produtos induziram níveis significativos de estresse oxidativo até 2,4 vezes quantificados pelo ensaio ROS-Glo em pelo menos 1 linha celular, com resposta à dose observada para Love Potion com e sem nicotina em todas as linhas celulares. A peroxidação lipídica

detectada pelo ensaio de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico foi menos comum entre os produtos; no entanto, foram observados aumentos de resposta à dose até 12 vezes para linhas celulares individuais. A formação de micronúcleos indicativos de genotoxicidade foi aumentada em até 5 vezes para alguns produtos. O Blue Pucker foi o e-líquido mais genotóxico, induzindo micronúcleos em todas as linhagens celulares, independentemente do status da nicotina. Uma pontuação de potência derivada de todos os ensaios identificou Blue Pucker e Love Potion como os e-líquidos mais perigosos. Esses estudos de exposição aguda *in vitro* fornecem uma nova visão sobre o potencial de alguns produtos vaping com sabor de induzir níveis significativos de estresse oxidativo e genotoxicidade⁽¹¹⁷⁾.

Esses estudos de exposição aguda *in vitro* fornecem uma nova visão sobre os efeitos potenciais de alguns produtos vaping com sabor em relação aos baixos níveis de estresse oxidativo e genotoxicidade que podem ser aumentados pela exposição crônica. O aumento da deposição na traqueia oral de nosso trabalho anterior combinado com esse estresse genotóxico para as células epiteliais orais pelos sabores Blue Pucker e Love Potion compõe ainda mais os efeitos de alguns e-líquidos. É provável que essa exposição aumentada também afete as grandes vias aéreas, conforme comprovado por estudos *in vitro* que mostram a sensibilidade das células epiteliais do pulmão aos efeitos toxicológicos de alguns líquidos⁽¹¹⁷⁾.

Dentro da estrutura de redução de danos do tabaco, na qual os fumantes idealmente deveriam poder escolher livremente entre uma variedade de alternativas para fumar, os produtos emergentes do tabaco (como o HTP) e o e-cig parecem ter o potencial de uma nova oferta promissora. No entanto, é fundamental que os fumantes conheçam e comparem os riscos à saúde desses diferentes dispositivos emergentes, a fim de determinar qual produto deve ser preferido para a cessação do tabagismo. Nosso estudo fornece dados comparativos sobre a composição química das emissões de HTP, e-cig e cigarro de tabaco e seus impactos toxicológicos nas células epiteliais brônquicas humanas⁽¹¹⁸⁾.

Primeiro relatamos que o HTP fornece um pouco menos de nicotina e emite quantidades muito menores de compostos de carbonila e PAH do que o cigarro de tabaco. No entanto, as emissões de HTP ainda contêm compostos cancerígenos (por exemplo, formaldeído, acetaldeído e benzo[a]pireno) e as quantidades de carbonilas e PAHs nos aerossóis de HTP são maiores do que nos vapores de cigarro eletrônico. De acordo com os níveis de compostos tóxicos em cada aerossol, o aerossol HTP exibe citotoxicidade reduzida em comparação com a fumaça do cigarro, mas superior aos vapores do cigarro eletrônico. HTP e e-cig têm o potencial de aumentar o estresse oxidativo e a resposta inflamatória, de maneira muito semelhante à fumaça do cigarro, mas somente após uma exposição mais intensa. Além disso, nossos dados suportam que o uso de e-cig em configurações de potência mais altas emite compostos de carbonila e PAH mais altos e, consequentemente, gera mais estresse oxidativo. Finalmente, este estudo contribui para uma melhor compreensão das propriedades de emissão de HTP e e-cig e seus impactos toxicológicos relacionados e fornece dados importantes necessários para fins de avaliação de risco, demonstrando que o HTP pode ser menos prejudicial do que o cigarro de tabaco, mas consideravelmente mais prejudicial do que o ecig. Outros estudos de longo prazo em modelos animais devem ser conduzidos para confirmar esses achados *in vitro* e permitir a avaliação de exposições crônicas a produtos emergentes do tabaco. Além dos impactos tóxicos desses produtos, a comparação de sua dependência é outro elemento-chave a ser levado em consideração na estratégia de redução de danos causados pelo tabaco⁽¹¹⁸⁾.

Aldeídos de sabor em cigarros eletrônicos, incluindo vanilina, etil vanilina (baunilha) e benzaldeído (baga/fruta), sofrem reações químicas rapidamente com os solventes líquidos eletrônicos, propilenoglicol e glicerol vegetal (PG/VG), para formar substâncias químicas adutos denominados aldeídos de sabor PG/VG acetais que podem ser transferidos com eficiência para o aerossol de cigarro eletrônico. O objetivo deste estudo foi comparar os efeitos metabólicos e citotóxicos de acetais e seus aldeídos parentais em células epiteliais respiratórias. Ensaios metabólicos celulares foram realizados em células epiteliais brônquicas (BEAS-2B) e alveolares (A549) avaliando os efeitos de benzaldeído, vanilina, etilvanilina e seus correspondentes PG acetais nos

principais parâmetros bioenergéticos da função mitocondrial. Os potenciais efeitos citotóxicos do benzaldeído e da vanilina e seus correspondentes PG acetais foram analisados usando o ensaio de células LIVE/DEAD em células BEAS-2B e células epiteliais nasais humanas primárias (HNEpC). Os efeitos citostáticos da vanilina e da vanilina PG acetal foram comparados usando o ensaio de proliferação celular Click- iT EDU em células BEAS-2B. Em comparação com seus aldeídos parentais, os acetais PG diminuíram os principais parâmetros das funções metabólicas de energia celular, incluindo respiração basal, produção de trifosfato de adenosina e capacidade respiratória sobressalente. O benzaldeído PG acetal (1–10 mM) aumentou a mortalidade celular em BEAS-2B e HNEpC, em comparação com o benzaldeído. A vanilina PG acetal foi mais citotóxica do que a vanilina na maior concentração testada, enquanto ambas diminuíram a proliferação celular de uma maneira dependente da concentração. Os produtos de reação formados em e-líquidos entre aldeídos de sabor e solventes químicos têm propriedades toxicológicas diferentes de seus aldeídos de sabor originais e podem contribuir para os efeitos do aerossol de cigarro eletrônico no sistema respiratório dos usuários de cigarro eletrônico. Sem estudos de toxicidade por inalação disponíveis para acetais, os dados deste estudo fornecerão uma base para estudos toxicológicos adicionais usando modelos in vitro e in vivo. Este estudo sugere que a divulgação dos ingredientes do e-líquido pelos fabricantes no momento da produção pode ser insuficiente para informar uma avaliação de risco abrangente de e-líquidos e uso de sistemas eletrônicos de administração de nicotina, devido à instabilidade química dos e-líquidos ao longo do tempo e à formação de novos compostos⁽¹¹⁹⁾.

O uso de sabores em cigarros eletrônicos atrai adultos e jovens que nunca fumaram. O consumo aumentou rapidamente na última década e, somente no mercado dos EUA, existem mais de 8.000 sabores exclusivos. A Food and Drug Administration (FDA) dos EUA começou a regular os e-líquidos, mas muitos não foram testados, e seu impacto, tanto no nível celular quanto na saúde humana, ainda não está claro. Testamos e-líquidos na linha celular humana HEK293T e medimos a toxicidade, potencial de membrana mitocondrial ($\Delta\Psi_m$), produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e potencial de membrana celular (V_m) usando abordagens de triagem de alto rendimento (HTS). Nossos esforços de

HTS incluíram curvas dose-resposta de dose única e de 16 pontos, que permitiram testar ≥ 90 e-líquidos comercialmente disponíveis em paralelo para fornecer uma avaliação rápida dos efeitos celulares como uma prova de conceito para um método rápido e preliminar de toxicidade. Também investigamos a composição química dos sabores via cromatografia gasosa-espectrometria de massa. Descobrimos que os e-líquidos causaram uma diminuição em $\Delta\Psi$ m e Vm e um aumento na produção de ROS e toxicidade de forma dose-dependente. Além disso, a presença de cinco componentes químicos específicos: vanilina, álcool benzílico, acetoína, cinamaldeído e metilciclopentenolona, mas não a nicotina, foram relacionados com as alterações observadas nas características celulares estudadas. Nossos dados sugerem que $\Delta\Psi$ m, ROS, Vm e toxicidade podem ser indicativos da extensão da morte celular após a exposição ao e-líquido. Mais pesquisas sobre o efeito dos sabores devem ser priorizadas para ajudar os formuladores de políticas, como o FDA, a regular a composição do e-líquido. A toxicidade celular do e-líquido pode ser prevista usando parâmetros passíveis de HTS. Nossos dados sugerem que $\Delta\Psi$ m, ROS, Vm e toxicidade podem ser indicativos da extensão da morte celular após a exposição ao e-líquido, e essa toxicidade está ligada à composição química, ou seja, componentes aromatizantes. Mais pesquisas sobre o efeito dos sabores devem ser priorizadas para ajudar os formuladores de políticas, como o FDA, a regular a composição do e-líquido⁽¹²⁰⁾.

RNAs não codificantes longos (lncRNAs) são o conjunto variado de transcritos que desempenham um papel crítico em processos biológicos como regulação de genes, transcrição, modificação pós-transcricional e remodelação da cromatina. Estudos recentes relataram a presença de lncRNAs nos exossomos que estão envolvidos na regulação da comunicação célula a célula em patologias pulmonares, incluindo câncer de pulmão, doença pulmonar obstrutiva crônica (DPOC), asma e fibrose pulmonar idiopática (FPI). Neste estudo, comparamos os perfis de lncRNA nos exossomos derivados do plasma entre não fumantes (NS), fumantes de cigarro (CS), usuários de E-cig (E-cig), fumantes de narguilé (WP) e fumantes duplos (CSWP) usando o kit GeneChip™ WT Pico para criação de perfil transcrional. Encontramos alterações em um conjunto distinto de lncRNAs entre indivíduos expostos a vapor de cigarro eletrônico, fumaça de

cigarro, fumaça de narguilé e fumaça dupla com algumas sobreposições. As análises de enriquecimento de genes dos lncRNAs expressos diferencialmente demonstraram enriquecimento nos lncRNAs envolvidos em processos biológicos cruciais, incluindo metabolismo de esteroides, diferenciação celular e proliferação. Assim, os perfis de lncRNA caracterizados dos exossomos derivados do plasma de fumantes, vapers, usuários de narguilé e fumantes duplos ajudarão a identificar os biomarcadores relevantes para doenças pulmonares crônicas, como DPOC, asma ou FPI. O presente estudo é a primeira tentativa de comparar os perfis exossomais de lncRNA de indivíduos que usam cigarros de tabaco, cigarro eletrônico, narguilé ou ambos (cigarro e narguilé). Identificamos alguns alvos importantes que podem desempenhar um papel importante na regulação das respostas inflamatórias ou autofágicas no uso prolongado desses produtos⁽¹²¹⁾.

Eletrônicos de entrega de nicotina, ou cigarros eletrônicos, utilizam uma solução líquida que normalmente contém propilenoglicol (PG) e glicerina vegetal (VG) para gerar vapor e atuar como transportador de nicotina e aromatizantes. As evidências indicaram que esses “portadores” reduziram o crescimento e a sobrevivência das células epiteliais, incluindo as das vias aéreas. Nossa hipótese é que 3% de PG ou PG misturado com VG (3% PG/VG, 55:45) inibe a absorção de glicose nas células epiteliais das vias aéreas humanas como um primeiro passo para reduzir a sobrevivência das células das vias aéreas. A exposição de H441 ou células epiteliais bronquiolares humanas (HBECs) a PG e PG/VG (30-60 min) inibiu a captação de glicose e a síntese mitocondrial de ATP. PG/VG inibiu a glicólise. PG/VG e manitol reduziram o volume celular e a altura das culturas de interface ar-líquido. O manitol, mas não o PG/VG, aumentou a fosforilação de p38 MAPK. PG/VG reduziu a resistência elétrica transepitelial, que foi associada ao aumento da permeabilidade transepitelial do soluto. PG/VG diminuiu a recuperação da fluorescência após a fotobranqueamento dos transportadores de glicose ligados a proteínas fluorescentes verdes GLUT1 e GLUT10, indicando que a função de transporte de glicose foi comprometida. Insuflar vapor de PG/VG na superfície apical de HBECs primários por 10 minutos para imitar o efeito do cigarro eletrônico também reduziu o transporte de glicose. Em conclusão, a exposição a curto

prazo ao PG/VG, componentes-chave dos cigarros eletrônicos, diminuiu o transporte de glicose e o metabolismo nas células das vias aéreas. Propomos que isso foi resultado da redução do volume celular e da fluidez da membrana do PG/VG, com consequências adicionais na função da barreira epitelial. Considerando esses resultados em conjunto, sugerimos que esses fatores contribuem para a redução das propriedades defensivas do epitélio. Propomos que a exposição repetida/crônica a esses agentes provavelmente contribui para danos nas vias aéreas em usuários de cigarros eletrônicos⁽¹²²⁾.

Em conclusão, mostramos que a exposição de curto prazo a PG e VG, componentes-chave dos cigarros eletrônicos, em solução ou vapor na superfície luminal das células das vias aéreas, diminuiu o transporte de glicose mediado por GLUT e a produção de ATP nas células das vias aéreas. Propomos que isso ocorreu como resultado de alterações no volume celular e na fluidez da membrana causadas por efeitos osmóticos e interação direta de PG/VG com lipídios na membrana celular. PG/VG também diminuiu a função de barreira e aumentou a permeabilidade epitelial. Juntando tudo isso, sugerimos que todos esses fatores contribuem para a redução das propriedades defensivas do epitélio, o que pode levar ao aumento da suscetibilidade dos pulmões à infecção. Propomos que a exposição repetida/crônica a esses agentes provavelmente contribui para danos nas vias aéreas em usuários de cigarros eletrônicos⁽¹²²⁾.

Os sistemas eletrônicos de entrega de nicotina (ENDS) são um mercado global em rápido crescimento anunciado como uma alternativa mais segura aos cigarros combustíveis. No entanto, investigações abrangentes das propriedades físico-químicas e toxicológicas do aerossol END não foram totalmente exploradas entre as marcas para avaliar a segurança relativa. Neste estudo, avaliamos aerossóis coletados de três ENDS – Juul Fruit Medley (5% de nicotina), Logic Power (2,4% de nicotina) e Mistic (1,8% de nicotina). Os aerossóis ENDS foram gerados usando o regime padrão de sopro da máquina e coletados com um novo coletor de condensação de fluoropolímero. O plasma-massa triplo quadrupolo acoplado indutivamente determinou a presença de metais pesados nos aerossóis coletados. Os efeitos toxicológicos dos aerossóis ENDS em células epiteliais brônquicas humanas normais (NHBE) foram

investigados usando viabilidade celular, espécies reativas de oxigênio, ensaios de estresse oxidativo, juntamente com avaliações de danos ao DNA usando o CometChip. Os resultados indicaram que as concentrações totais de metal nos aerossóis ENDS coletados foram maiores para Mistic e Logic em comparação com Juul. Os aerossóis Logic Power provocaram níveis mais elevados de espécies reativas de oxigênio do que Mistic e Juul no NHBE após 24 horas de exposição. Reduções semelhantes dependentes da dose de viabilidade celular e glutatona total foram encontradas para cada exposição. No entanto, os aerossóis Logic e Juul causaram maiores danos ao DNA de fita simples em comparação com o Mistic. Nossa estudo indica que, independentemente da marca, os aerossóis ENDS são tóxicos para as células epiteliais das vias aéreas superiores e podem representar um risco respiratório potencial para usuários ocasionais e frequentes⁽¹²³⁾.

Os achados de nosso estudo são consistentes com outros dados que relatam a reação pró-inflamatória e os efeitos do estresse oxidativo da fumaça eletrônica. Nossos dados indicam o efeito plausível da E-fumaça no balanço protease/antiprotease junto com a resposta de defesa antimicrobiana como um alvo importante tanto em brônquios quanto alveolares. O padrão e a extensão dos efeitos podem ser influenciados pela região do pulmão, sabor e/ou teor de nicotina. Proteases e antiproteases são secretadas do epitélio respiratório e desempenham um papel importante na manutenção da homeostase respiratória. Sabe-se que o equilíbrio alterado de protease/antiprotease desempenha um papel fundamental no desenvolvimento de doenças pulmonares crônicas, como enfisema e DPOC. As antiproteases respiratórias são compostas por TIMPs, inibidores de serina protease (serpins), trappins-2/ elafin e SLPI com substratos-alvo exclusivos, fontes celulares e funções antiprotease⁽¹²⁴⁾.

O aumento de MMP9 e seu principal inibidor TIMP171 foi detectado após exposições à fumaça eletrônica. Elafin (PI3) e SLPI, produzidos por epitélio respiratório, club cells, células tipo II etc. são conhecidas como antiproteases de alarme que inibem a elastase neutrofílica e também são conhecidas por exibir ampla resposta imune antimicrobiana, anti-inflamatória, inata e adaptativa, efeitos de remodelação tecidual e cicatrização de feridas. A secreção de

antiproteases de alarme é influenciada por moléculas pró-inflamatórias como IL1 e TNF. O DEFB4A é um peptídeo multifuncional com atividade antimicrobiana juntamente com funções na imunidade inata e adaptativa, resposta inflamatória e anti-inflamatória, imunomodulação e reparação de feridas. É expresso em todo o epitélio respiratório. A expressão alterada de DEFB4A tem sido associada a várias doenças respiratórias como asma, DPOC, fibrose pulmonar, pneumonia, tuberculose e rinite. Níveis elevados de DEFB4A foram relatados em associação com fibrose cística e DPOC, enquanto níveis reduzidos foram detectados em caso de asma por meio de resposta do tipo TH2⁽¹²⁴⁾.

É plausível que a regulação alterada do DEFB4A após a exposição à fumaça eletrônica possa afetar a resposta à infecção. A exposição crônica à fumaça eletrônica foi implicada em maior suscetibilidade à infecção em modelos de camundongos⁽¹²⁴⁾.

Nossos resultados com os modelos de mucosa brônquica e alveolar indicam que o padrão de regulação de PI3, SLPI e DEFB4A depende do sabor, teor de nicotina do E-líquido, bem como da região do pulmão. Consistente com nossos achados com ECIG-flavor-2 no modelo brônquico, diminuição do SCGB1A1, aumento do SLPI e aumento dos níveis de PI3 foram detectados no escarro de pacientes com DPOC em comparação com fumantes sem DPOC e/ou nunca fumantes⁽¹²⁴⁾.

No entanto, detectamos níveis aumentados de transcrição de DEFB4A no modelo de mucosa brônquica, enquanto DEFB4A foi suprimido nos pacientes com DPOC. Para resumir, em nossa análise química da fumaça eletrônica dos dois sabores, detectamos vários produtos químicos citotóxicos, bem como diferenças significativas na composição. Na caracterização das partículas observamos um aumento acentuado de PNC com a potência aplicada e um leve aumento com a presença de nicotina. Essas descobertas sugerem que a escolha do E-líquido e do dispositivo de entrega/potência afetará a composição e a dosimetria durante o vaping e, portanto, também os possíveis efeitos à saúde. O papel de compostos como p-benzoquinona, nicotirina e agentes aromatizantes detectados em concentrações mais altas garante estudos independentes para

avaliar seu papel na toxicidade do ECIG. Os diferentes padrões de resposta molecular nos modelos de mucosa brônquica e alveolar sugerem efeitos específicos da região pulmonar, incluindo o papel da nicotina. Além disso, além da resposta ao estresse inflamatório e oxidativo, a regulação de antiproteases de alarme e fatores de resposta de defesa antimicrobiana, bem como a função de barreira e modificações epigenéticas após a exposição à fumaça eletrônica podem desempenhar um papel importante na transmissão de efeitos tóxicos. Para concluir, nosso estudo identifica a necessidade de uma abordagem multidisciplinar para um perfil de segurança abrangente dos produtos ECIG⁽¹²⁴⁾.

As três plataformas in vitro para expor o epitélio respiratório ao mentol levam a conclusões semelhantes. Concentrações de mentol dentro da faixa encontrada em muitos fluidos e aerossóis de EC produziram um influxo rápido de cálcio, seguido por um aumento no estresse oxidativo e nas citocinas inflamatórias. Essas respostas foram inibidas pelo knock-down de BCTC (N-(4-tert-butylphenyl)-4-(3-chloropyridin-2-yl) tetrahydropyrazine-1(2H)-carboxamide) e siRNA do receptor TRPM8. Juntos, esses dados fornecem uma estratégia para avaliar a toxicidade de produtos químicos inalados pela primeira triagem no ensaio MTT para identificar concentrações citotóxicas e possíveis modos de ação. Os padrões autênticos podem ser testados no ALI primeiro usando a exposição à câmara de nevoeiro para evitar solventes e produtos de reação formados pelo aquecimento, seguido pela exposição ao aerossol EC autêntico, como feito no Cultex. O uso de proteômica com sistemas de exposição ALI tem a vantagem de confirmar e descobrir caminhos simultaneamente. Em estudos futuros, será valioso mostrar efeitos semelhantes aos observados com o protocolo EpiAirway em usuários de CE. A validação do modelo EpiAirway para tradução para exposição in vivo seria valiosa e poderia substituir testes em animais, reduzir custos experimentais e acelerar o progresso da pesquisa. Os dados obtidos com esta abordagem suportam a conclusão de que o mentol, em concentrações encontradas em aerossóis EC, afeta adversamente as células epiteliais brônquicas, o que pode interromper a homeostase do tecido, prejudicar a função celular e levar a doenças, incluindo alguns dos casos recentemente relatados de EVALI⁽¹²⁵⁾.

Observamos que as mudanças nas moléculas de biomarcadores pulmonares, de uma infinidade de cascatas biológicas associadas a lesões e doenças pulmonares, são qualitativamente semelhantes entre a exposição crônica ao cigarro eletrônico e ao cigarro em camundongos. Embora existam algumas diferenças entre as moléculas individuais, descobriu-se que, em geral, as alterações nos biomarcadores observadas na exposição crônica ao aerossol do e-cig seguem aquelas observadas na exposição crônica à fumaça do cigarro. Como esses biomarcadores demonstraram contribuir significativamente para o desenvolvimento de doenças pulmonares induzidas pelo cigarro, nosso estudo indica que a exposição crônica ao cigarro eletrônico tem o potencial de iniciar processos patológicos que são conhecidos por contribuir para danos/doenças pulmonares crônicas. A relativa segurança da exposição crônica ao aerossol do cigarro eletrônico (e-cig) permanece obscura em termos de patogênese pulmonar. Portanto, este estudo tem como objetivo avaliar biomarcadores gênicos/proteicos associados à lesão pulmonar induzida pelo cigarro em animais cronicamente expostos ao aerossol contendo nicotina contendo e-cig. Camundongos C57BL/6J foram aleatoriamente designados para três grupos de exposição: e-cig, fumaça de cigarro e ar filtrado. Tecidos pulmonares e/ou lâminas embebidas em parafina foram usados para avaliar a expressão de genes e/ou proteínas do metabolismo CYP450 (CYP1A1, CYP2A5 e CYP3A11), estresse oxidativo (Nrf2, SOD1), transição epitelial-mesenquimal (E-caderina e vimentina), patogênese pulmonar (AhR) e vias de sobrevivência/apoptótica (p-AKT, BCL-XL, p53, p21 e CRM1). As expressões de E-caderina e CRM1 foram significativamente diminuídas, enquanto CYP1A1, AhR, SOD1 e BCL-XL foram significativamente reguladas positivamente no grupo e-cig em comparação com o controle ($p<0,05$). A localização nuclear subcelular de p53, avaliada por imuno-histoquímica, em tecidos bronquiolares foi maior no grupo e-cig ($25,3\pm2,7\%$) em comparação aos controles ($12,1\pm1,8\%$) ($p<0,01$). Embora as respostas dos biomarcadores não fossem idênticas, em geral, as respostas tiveram tendências qualitativas semelhantes entre os grupos de e-cig e cigarro. Como essas alterações moleculares relacionadas estão envolvidas na patogênese da lesão pulmonar induzida pelo cigarro, existe a possibilidade de que os cigarros eletrônicos possam produzir um resultado semelhante. Embora seja necessária

uma investigação mais aprofundada, é improvável que os cigarros eletrônicos sejam considerados seguros em termos de saúde pulmonar⁽¹²⁶⁾.

Este estudo demonstrou que o aerossol do cigarro eletrônico é menos prejudicial do que a fumaça do cigarro. No entanto, os cigarros eletrônicos têm efeitos adversos; diminui a viabilidade/proliferação das células nasais, desregula a estrutura da mucosa nasal e aumenta a secreção de citocinas pró-inflamatórias. Esses achados indicam que os cigarros eletrônicos podem ter o potencial de exacerbar o tecido nasal, levando a danos celulares e inflamação. Células epiteliais nasais primárias humanas e tecidos de mucosa nasal 3D modificados foram expostos ou não a aerossol de cigarro eletrônico ou fumaça de cigarro padrão. Em seguida, avaliamos a viabilidade celular e a atividade da lactato desidrogenase (LDH). Com os tecidos analisados a estrutura tecidual, a expressão do marcador de proliferação Ki67 e a secreção de citocinas pró-inflamatórias pela mucosa nasal manipulada. As células epiteliais nasais expostas aos cigarros eletrônicos apresentaram um tamanho celular maior e um núcleo fraco após a exposição aos cigarros eletrônicos. Isso é apoiado pelos níveis aumentados de atividade de LDH após a exposição a cigarros eletrônicos, em comparação com o observado no controle. Os tecidos expostos ao aerossol do cigarro eletrônico apresentaram uma desregulação estrutural, com células de maior tamanho, menos células positivas para Ki67 e uma taxa de proliferação reduzida, em comparação com os tecidos não expostos. As medições de citocinas mostraram altos níveis de IL-6, IL-8, TNF α e MCP-1, demonstrando que os cigarros eletrônicos ativaram as respostas pró-inflamatórias das citocinas. O aerossol de cigarro eletrônico mostrou efeitos adversos nas células epiteliais nasais e no tecido da mucosa nasal. Esses achados indicam que os cigarros eletrônicos podem ser uma ameaça aos tecidos nasais e podem prejudicar a função imune inata das células epiteliais nasais⁽¹²⁷⁾.

As células epiteliais brônquicas (H292) foram expostas ao aerossol gerado a partir de cigarros eletrônicos recarregados com (1) apenas solvente de propilenoglicol (PG, controle), (2) solução sem sabor comprada comercialmente com CBD ou (3) soluções compradas comercialmente com e sem CBD e com sabores diferentes. Os efeitos toxicológicos in vitro foram avaliados usando os

seguintes métodos: (1) ensaio de exclusão do azul de tripano (viabilidade celular), (2) ensaio de captação de vermelho neutro (atividade metabólica) e (3) ELISA (concentrações de mediadores inflamatórios). A maioria dos produtos aromatizados com ou sem CBD foram citotóxicos em comparação com o controle de ar. No geral, os aerossóis com CBD foram mais citotóxicos do que os aerossóis sem CBD, independentemente do aromatizante usado no produto. Embora os aerossóis sem sabor contendo CBD em PG fossem significativamente mais citotóxicos do que os aerossóis contendo apenas PG, nem todos os produtos com sabor contendo CBD eram significativamente mais tóxicos do que os mesmos produtos com sabor sem CBD. A maioria dos produtos contendo CBD aumenta significativamente a concentração de citocinas liberadas em comparação com os mesmos produtos com sabor sem CBD. Diferentes sabores mostram diferentes efeitos citotóxicos em cigarros eletrônicos contendo CBD. Aerossóis emitidos por cigarros eletrônicos contendo CBD foram mais citotóxicos do que aqueles emitidos por cigarros eletrônicos sem CBD. Os resultados do nosso estudo in vitro sugerem potenciais efeitos respiratórios prejudiciais de aromatizantes e CBD quando inalados simultaneamente com aerossóis emitidos por cigarros eletrônicos. Como o uso de produtos vaping derivados de cannabis está aumentando, são necessários estudos urgentes para avaliar as possíveis consequências para a saúde dos usuários dessas substâncias, particularmente os efeitos respiratórios da inalação crônica de produtos vaping com sabor de CBD⁽¹²⁸⁾.

Os cigarros eletrônicos estão cada vez mais ganhando espaço por serem considerados menos nocivos que os cigarros convencionais, havendo também a percepção de que podem servir como uma potencial ferramenta para parar de fumar. Embora os efeitos agudos do uso de cigarros eletrônicos tenham sido extensivamente estudados, os potenciais efeitos adversos a longo prazo na saúde humana permanecem amplamente desconhecidos. Está bem estabelecido que o estresse oxidativo está envolvido no desenvolvimento de várias condições patológicas. Até agora, a maioria dos estudos sobre cigarros eletrônicos diz respeito aos efeitos no sistema respiratório, enquanto poucos se concentraram no sistema vascular. No presente estudo, tentamos revelar os efeitos dos líquidos de recarga de cigarro eletrônico no estado redox de células

endoteliais humanas (linha celular EA.hy 926). Para tanto, o efeito citotóxico de três e-líquidos com diferentes sabores (tabaco, baunilha, maçã/menta) e concentrações de nicotina (0, 6, 12, 18 mg/ml) foram inicialmente examinados quanto ao seu impacto na viabilidade celular de EA. Em seguida, cinco biomarcadores redox [forma reduzida de glutatona (GSH), espécies reativas de oxigênio (ROS), capacidade antioxidante total (TAC), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) e carbonilas proteicas (CARBS)] foram medidos. Os resultados mostraram uma perturbação no equilíbrio redox em favor dos radicais livres em e-líquidos com sabor de tabaco, enquanto os e-líquidos com sabor de baunilha exibiram um perfil mais complexo, dependendo do teor de nicotina. O achado mais interessante do presente estudo diz respeito aos e-líquidos com sabor de maçã/menta que parecem ativar a defesa antioxidante celular e, assim, proteger as células dos efeitos adversos dos radicais livres. Conclusivamente, parece que os aromas e não o conteúdo de nicotina desempenham um papel fundamental na toxicidade induzida pelo estresse oxidativo dos e-líquidos⁽¹²⁹⁾.

O uso do sistema eletrônico de entrega de nicotina (ENDS) está superando nossa compreensão de seus potenciais efeitos nocivos. A homeostase do pulmão é mantida por meio do equilíbrio adequado da morte celular, depuração eferocítica e fagocitose de patógenos. Para investigar se o uso de ENDS tem o potencial de alterar esse equilíbrio, desenvolvemos paradigmas de exposição de ENDS fisiologicamente relevantes para células epiteliais pulmonares e macrófagos primários. Em nossos estudos, as células foram expostas diretamente ao aerossol feito de componentes cuidadosamente controlados com e sem nicotina. Descobrimos que a exposição ao aerossol ENDS levou à apoptose, necrose secundária e necrose em modelos de células epiteliais pulmonares. Em contraste, os macrófagos morreram principalmente por apoptose e morte celular mediada por caspases inflamatórias quando exposto ao aerossol ENDS. A eliminação de células mortas e patógenos por eferocitose e fagocitose, respectivamente, é um processo importante na manutenção de um pulmão saudável. Para investigar o impacto do aerossol ENDS na função macrófaga independente da toxicidade geral, usamos um tempo de exposição que não induziu a morte celular em macrófagos primários. A exposição ao

aerossol ENDS contendo nicotina inibiu quase todos os fagocíticos e reduziu muito as habilidades esferocíticas dos macrófagos primários. Quando desafiado com um patógeno bacteriano, houve diminuição da depuração bacteriana. A presença de nicotina no aerossol ENDS aumentou sua toxicidade e impacto funcional; no entanto, a exposição à nicotina sozinha não teve nenhum efeito deletério. Esses dados demonstram que a exposição ao aerossol ENDS pode levar ao aumento da morte de células epiteliais e macrófagos no pulmão e prejudicar importantes funções dos macrófagos que são essenciais para a manutenção da função pulmonar⁽¹³⁰⁾.

Este estudo representa novas descobertas sobre os efeitos biológicos da exposição ao aerossol ENDS. Relatamos aumento da morte celular inflamatória e não inflamatória em células epiteliais e imunes inatas e diminuição da capacidade fagocitária dos macrófagos. É importante ressaltar que todos os achados foram observados após a exposição ao e-líquido sem aromatizantes. Descobrimos que os componentes básicos do e-líquido têm toxicidade própria e essa toxicidade foi aumentada pela adição de nicotina. Curiosamente, a nicotina deve estar presente na fase de produção do aerossol para aumentar os impactos do aerossol ENDS. Isso aponta para um requisito de sinalização de nicotina para os tóxicos gerados pela decomposição de PG ou VG no atomizador para ter toda a amplitude de efeitos potenciais. Alternativamente, a presença de nicotina pode alterar as reações de decomposição que ocorrem no atomizador e posteriormente alterar a composição do aerossol. O recente surto de EVALI demonstra a necessidade de urgência renovada na regulamentação e controle de dispositivos ENDS. Essas descobertas são informativas sobre o perigo potencial do uso de ENDS e devem ser consideradas como tal pelos órgãos reguladores relevantes⁽¹³⁰⁾.

Os cigarros eletrônicos (E-cigs) geram aerossóis contendo nicotina para inalação e surgiram como um produto popular do tabaco entre adolescentes e adultos jovens, mas pouco se sabe sobre seus efeitos na saúde devido à sua introdução relativamente recente. Poucos estudos avaliaram os efeitos a longo prazo da inalação de fumaça ou vapor de cigarro eletrônico. Aqui, mostramos que dois meses de exposição ao cigarro eletrônico causa a supressão das células-tronco

hematopoiéticas e progenitoras da medula óssea (HSPCs). Especificamente, os progenitores mieloides comuns e os progenitores granulócitos-macrófagos diminuíram em animais expostos a E-cig em comparação com camundongos expostos ao ar. A reconstituição competitiva em transplantes de medula óssea não foi afetada por dois meses de exposição ao E-cig. Quando camundongos expostos ao ar e ao E-cig foram desafiados com um estímulo inflamatório usando lipopolissacarídeo (LPS), a aptidão competitiva entre os dois grupos não foi significativamente diferente. No entanto, camundongos transplantados com medula óssea de ratos expostos a cigarro eletrônico e LPS apresentaram monócitos elevados em seu sangue periférico cinco meses após o transplante, indicando um viés mielóide semelhante às respostas de células-tronco hematopoiéticas (HSC) envelhecidas a um desafio inflamatório agudo. Também investigamos se a exposição ao cigarro eletrônico aumenta a vantagem seletiva de células hematopoiéticas com mutações associadas à malignidade mielóide. A exposição ao cigarro eletrônico por um mês aumentou ligeiramente as células mutantes JAK2V617F no sangue periférico, mas não teve impacto nas células TET2^{-/-}. No total, nossos achados revelam que a exposição crônica ao cigarro eletrônico por dois meses altera as populações de HSPC da medula óssea, mas não afeta a reconstituição de HSC em transplantes primários⁽¹³¹⁾.

Cardiomiócitos derivados de iPSCs foram usados no estudo para avaliar as toxicidades celulares. As células foram expostas a ECE ou CSE por dois dias consecutivos como uma exposição aguda ou em dias alternados por 14 dias. A concentração de nicotina em ECE e CSE foi medida por espectrometria de massa e Q- Exactive- HF foi usado para identificar outros ingredientes em ambos os extratos. A microscopia fluorescente foi usada para medir o estresse oxidativo após a exposição a ECE e CSE. A motilidade e a frequência de batimentos dos cardiomiócitos foram determinadas usando o sistema Sisson-Ammons Video Analysis. Os genes-alvo do painel de insuficiência cardíaca de cardiomiócitos expostos foram comparados com células de controle não expostas. Apesar da concentração de nicotina no CSE ser seis vezes maior do que no ECE (50 µg no CSE e 8 µg no ECE), o ECE teve efeito tóxico semelhante nos cardiomiócitos. Tanto o CSE quanto o ECE geraram espécies reativas de oxigênio celular significativas. A análise de vídeo de Sisson-Ammons (SAVA) mostrou mudanças

significativas na função dos miócitos com CSE e ECE retardando o batimento e aumentando a morte celular. A exposição crônica de ECE e CSE diminui significativamente a viabilidade dos cardiomiócitos a longo prazo em todas as doses. Os perfis de expressão gênica do painel alvo de cardiomiócitos expostos a ECE e CSE foram diferentes dos controles com padrão distinto de genes que envolviam proliferação celular, inflamação e apoptose. ECE e CSE produzem toxicidades de cardiomiócitos semelhantes que incluem a geração de estresse oxidativo, efeitos cronotrópicos negativos, alterações adversas na expressão gênica miocárdica e, finalmente, morte celular⁽¹³²⁾.

Questão 6

Estes produtos, à luz do conhecimento atual, poderiam substituir os produtos de tabaco convencionais, sem oferecer riscos adicionais, do ponto de vista toxicológico, aos usuários de tabaco?

O motivo original do desenvolvimento de DEF foi sabidamente auxiliar na cessação do hábito de fumar cigarros convencionais, sobretudo pelos riscos advindos da ação nicotínica. Entretanto, duas questões principais comprometem diretamente esse objetivo dos DEFs:

1. Se os DEFs estivessem restritos aos modelos de primeira geração, a razão benefício/risco provavelmente seria positiva. Mas as inovações e os atrativos dos DEFs de última geração, abertos à customização, também inovaram em riscos toxicológicos que não havia nos cigarros convencionais, tornando a razão benefício/risco negativa;
2. A razão benefício/risco é ainda mais negativa com o uso dos DEFs de última geração devido à dependência que migra dos cigarros convencionais para os cigarros eletrônicos e/ou dispositivos de vaporização, seja pela possibilidade de aumento no uso da nicotina, ou pela presença de sabores que aumentam o prazer, ou pela mesma possibilidade do uso da Cannabis e outras drogas em suas várias formas de apresentação, que naturalmente aumentam a toxicidade.

Nesta pesquisa, os níveis de concentração de sete alvos e vários outros VOCs menores emitidos pela fumaça principal de produtos FCC foram quantificados em referência a cigarros sem sabor (NF) e 3R4F. Os produtos FCC foram avaliados em duas condições contrastantes, com e sem quebra das cápsulas. No geral, os produtos FCC tinham níveis relativamente mais altos de VOCs do que os cigarros NF e 3R4F. As concentrações de VOC aumentaram visivelmente quando as cápsulas de FCC foram quebradas (amostras F1–O e F2–O). Em particular, a concentração de benzeno, conhecido como carcinógeno, foi 2,14 vezes maior na amostra F1–O ($99,4 \mu\text{g cig}^{-1}$) do que no cigarro de referência 3R4F ($46,2 \mu\text{g cig}^{-1}$). A concentração de VOCs totais (TVOC), que é a soma de todas as concentrações de VOC, foi cerca de 1,39 vezes maior nos produtos FCC do que nos cigarros NF e 3R4F⁽¹³³⁾.

Os resultados do nosso estudo oferecem uma avaliação abrangente do impacto dos FCCs em comparação com os cigarros NF e 3R4F. Mostramos aqui que os níveis de sete VOCs alvo em dois FCCs aumentaram quando as cápsulas foram quebradas. No entanto, mais esforços devem ser feitos para abordar os efeitos de diversos fatores associados às emissões de VOC dos produtos FCC, pois nosso estudo não considerou todas as variáveis possíveis a esse respeito (como grau de rachadura da cápsula, peso da cápsula, mistura de sabores, diâmetro, posição, fumo passivo e comportamento fumante dos fumantes). Além disso, é necessário aumentar a confiabilidade das abordagens de quantificação para os VOCs na fumaça do cigarro usando um método mais aprimorado. Quebrar a cápsula pode mascarar as substâncias nocivas dos cigarros, o que pode encorajar novos fumantes a começar. Portanto, uma regulamentação mais rigorosa, baseada em dados confiáveis, deve ser estabelecida para controlar adequadamente o uso de FCCs. Nesse sentido, mais pesquisas são necessárias para avaliar com precisão o quanto as cápsulas embutidas nos FCCs contribuem para possíveis problemas. Além disso, a avaliação de risco à saúde de não fumantes deve ser realizada com base na avaliação adequada do impacto ambiental que a liberação da fumaça do FCC exerce⁽¹³³⁾.

Este é um dos primeiros estudos a fornecer uma caracterização físico-química e toxicológica abrangente e sistemática de aerossóis emitidos por e-líquidos à

base de Δ^8 THC e VEA, pois eles foram associados ao desenvolvimento de EVALI na população jovem saudável nos Estados Unidos em 2019-2020. A plataforma E-cig-EGS foi usada para gerar exposições de e-cig do mundo real para monitoramento em tempo real e caracterização físico-química e toxicológica de aerossóis gerados a partir de combinações de diferentes concentrações de Δ^8 THC + Terp com ou sem VEA e VEA 100% em 2 tensões operacionais (3,7 e 5 V). Os e-líquidos convencionais à base de nicotina também foram usados como comparadores. A principal conclusão do estudo é que a composição do e-líquido e a tensão operacional influenciaram as propriedades físico-químicas de cada aerossol (tPNC e distribuição de tamanho, distribuição de tamanho de massa particulada, liberação de VOC e poluentes gasosos), bem como seus efeitos biológicos e inflamatórios (morte celular, disfunção mitocondrial, apoptose, citocinas). No geral, a comparação entre os grupos Δ^8 THC e nicotina e-líquido não mostrou diferenças particulares, de modo que não foi possível encontrar uma forte correlação entre a exposição a um aerossol específico gerado pelo grupo Δ^8 THC/VEA e o desenvolvimento de EVALI. Mais especificação química orgânica dos aerossóis é necessária para identificar diferenças químicas entre os aerossóis gerados entre D8THC/VEA e grupos E-líquidos à base de nicotina. No entanto, o presente estudo apoia o conceito de que houve uma diferença significativa entre o componente E-líquido individual (ou seja, VEA 100%) e a mistura de E-líquido (ou seja, Δ^8 THC + VEA + Terp), em termos de características físico-químicas e bioatividade. Portanto, é fundamental, no futuro, evitar o foco na toxicidade de e-líquidos ou aerossóis gerados a partir de diluentes individuais, pois eles não refletem a real exposição físico-química. A combinação de produtos químicos pode gerar uma mistura de tóxicos cujas ações sinérgicas podem conduzir a bioatividade e EVALI. Estudos de inalação in vitro/in vivo mais abrangentes, baseados também em uma abordagem proteômica, genômica e metabolômica, são necessários para validar os efeitos toxicológicos in vitro e abordar a cascata específica de eventos que leva a danos alveolares difusos e insuficiência respiratória em EVALI pacientes. As descobertas deste estudo ajudarão os avaliadores de risco e as agências governamentais e de saúde pública no desenvolvimento de Δ^8 regulamentos de Ecig de nicotina e THC, para limitar a epidemia de e-cigs na população jovem e

prevenir novos casos de EVALI devido à incorporação de produtos químicos não regulamentados em e-cigs⁽¹³⁴⁾.

A acrilamida (AA) é um composto neurotóxico, genotóxico e carcinogênico desenvolvido durante o aquecimento em altas temperaturas. Alimentos como batatas, biscoitos, pão e café são os principais alimentos que contêm AA. A fumaça do cigarro pode ser uma fonte adicional significativa de exposição. No entanto, o conteúdo de AA pode variar entre diferentes tipos de cigarros. O estudo teve como objetivo avaliar o teor de AA em cigarros convencionais (CC) e produtos de tabaco aquecido (HTP) e sua exposição decorrente de seu uso. Os níveis de AA dos dois tipos de cigarro foram determinados por GC-MS e a exposição diária ao AA também foi verificada. A margem de exposição (MOE) foi calculada para risco neurotóxico e carcinogênico com base no limite de confiança inferior da dose de referência para uma resposta de 10% (BMDL) de 0,43 e 0,17, 0,30 e 1,13 mg/ kgbw /dia. O nível de AA no CC variou de 235 a 897 ng/cigarro, enquanto HTP relatou níveis de AA na faixa de 99–187 ng/cigarro. Os dados mostraram um baixo risco neurotóxico para CC ou HTP, enquanto um risco carcinogênico emergiu através do fumo de CC com base em diferentes doses de referência. O risco carcinogênico para CC com base na dose de referência mais alta que foi considerada mostrou níveis inseguros, tão baixos quanto 10 cigarros CC/dia, enquanto quase sempre foi de baixa preocupação para HTP. Outra abordagem baseada na análise do risco incremental de câncer ao longo da vida (ILCR) levou a resultados semelhantes, superando, em alguns casos, o valor de segurança de 10^{-4} , no que diz respeito ao CC. No geral, os resultados confirmaram que o CC é uma fonte significativa de AA, e seus níveis foram cinco vezes maiores do que no HTP⁽¹³⁵⁾.

O dispositivo desenvolvido para coletar a fumaça pode ser uma ferramenta eficaz para analisar AA e outros compostos polares na fumaça do cigarro. A análise demonstrou que a fumaça do tabaco é uma fonte significativa de AA e sua concentração de níveis de AA no HTP (99–187 ng/cigarro) foi cinco vezes menor do que no CC (235–897 ng/cigarro). A estimativa de exposição por fumaça de tabaco e produtos alternativos de tabaco sugeriu um menor risco relacionado a AA para HTP do que CC, embora um potencial risco carcinogênico

tenha sido observado para o consumo moderado. Nenhum risco neurotóxico surgiu através do consumo de CC e HTP. Até o momento, este estudo provavelmente fornece uma comparação valiosa dos níveis de AA entre CC e HTP. Em conclusão, o HTP pode ser um dispositivo menos perigoso do que o CC em termos de exposição a AA; no entanto, seu efeito na saúde humana também pode depender da co-ocorrência de outros contaminantes. Portanto, futuras investigações *in vitro* e *in vivo*, com base em evidências toxicológicas nas vias de inalação de AA, são necessárias para determinar com precisão o papel desse composto na carcinogênese pulmonar/alveolar e fornecer doses de referência mais adequadas para a avaliação de risco entre fumantes⁽¹³⁵⁾.

Embora estudos desde o surto tenham identificado o acetato de vitamina E (VEA), um diluente de tetrahidrocanabinol (THC) em cartuchos vape, como um potencial contribuinte para lesões pulmonares, os mecanismos moleculares pelos quais o VEA pode causar danos ainda não estão claros. Estudos recentes descobriram que a degradação térmica de e-líquidos durante o vaping pode resultar na formação de produtos mais tóxicos do que os compostos originais. Neste estudo, avaliamos o papel da duroquinona (DQ) nas emissões de vaping do VEA, que podem atuar como um mecanismo pelo qual o vaping do VEA causa danos aos pulmões. As emissões vaping de VEA foram coletadas e analisadas quanto ao seu potencial de gerar espécies reativas de oxigênio (ROS) e induzir a expressão gênica associada ao estresse oxidativo em células epiteliais brônquicas humanas (BEAS-2B). A geração significativa de ROS por emissões vaping de VEA foi observada em sistemas acelulares e celulares. Além disso, a exposição a emissões de vaping resultou em regulação positiva significativa dos genes NQO1 e HMOX-1 em células BEAS-2B, indicando um forte potencial para o VEA vaporizado causar dano oxidativo e lesão pulmonar aguda; os efeitos são mais profundos do que a exposição a concentrações equivalentes de DQ sozinho. Nossas descobertas sugerem que pode haver interações sinérgicas entre os produtos de decomposição térmica do VEA, destacando a natureza multifacetada da toxicidade do vaping⁽¹³⁶⁾.

Este estudo investigou a contribuição potencial do produto de decomposição térmica DQ nas emissões vaping de VEA para induzir estresse oxidativo em

células pulmonares expostas. Nossos resultados mostram que as emissões vaping DQ e VEA mostram significativa potencial para gerar ROS, potencialmente causando oxidação danos a biomoléculas. Além disso, as emissões de vaping VEA foram encontrados para estar ligados ao upregulation de NQO1 (uma enzima metabolizadora de quinona) e HMOX-1 (um biomarcador de estresse), fornecendo evidências de indução por vaping estresse oxidativo e toxicidade quinona como um potencial mecanismo. Finalmente, nossos resultados suportam que a decomposição produtos de VEA podem se depositar em diferentes profundidades pulmonares. DQ, em particular, foi encontrado em tamanhos abaixo de 100 nm, sugerindo seu potencial para penetrar na região alveolar dos pulmões. Notavelmente, as respostas diferenciais entre DQ- e VEA células expostas a emissões vaping destacam a necessidade de aprofundar investigue os produtos de decomposição do VEA durante o vaping⁽¹³⁶⁾.

As respostas aumentadas induzidas pelas emissões de vaping de VEA sugerem que, embora a toxicidade de quinona tenha um alto potencial para danificar as células, é provável que as emissões de vaping contenham uma mistura de compostos eletrofílicos (por exemplo, aldeídos ou cetonas), indutores de ROS e catalisadores de metal que podem aumentar o potencial oxidativo do VEA. Em essência, embora nossos resultados forneçam evidências de que a toxicidade da quinona pode ser um dos mecanismos moleculares pelos quais o vaping do VEA causa lesões pulmonares oxidativas, pode ser um dos vários mecanismos. É provável que os sintomas de EVALI possam ser o resultado de interações sinérgicas entre DQ e outros produtos de emissão de vaping de VEA e THC. Para entender completamente os mecanismos moleculares pelos quais o vaping do VEA causa lesão pulmonar, estudos futuros são necessários para investigar possíveis interações entre produtos de decomposição. A ampla variabilidade nas composições químicas a que os usuários podem ter sido expostos como resultado de variações no comportamento do vaping também deve ser explorada em trabalhos futuros⁽¹³⁶⁾.

Apesar da crescente popularidade dos cigarros eletrônicos, seus efeitos na saúde a longo prazo permanecem desconhecidos. Em modelos animais, foi relatado que a exposição ao cigarro eletrônico resulta em lesão pulmonar e

cardiovascular e, em humanos, o uso agudo de cigarros eletrônicos aumenta a frequência cardíaca e a pressão arterial e induz disfunção endotelial. Em modelos animais e humanos, a disfunção cardiovascular associada aos cigarros eletrônicos foi associada a aldeídos reativos, como formaldeído e acroleína, gerados em aerossóis de cigarros eletrônicos. Esses aldeídos são produtos conhecidos do aquecimento e degradação da glicerina vegetal (VG) presente em e-líquidos. Aqui, relatamos que em camundongos, a exposição aguda a uma mistura de propilenoglicol: glicerina vegetal (PG:VG) ou a aerossóis derivados de cigarros eletrônicos aumentou significativamente a excreção urinária de metabólitos de acroleína e glicidol - ácido 3- hidroxipropilmercaptúrico (3HPMA) e ácido 2,3-dihidroxipropilmercaptúrico (23HPMA) - medido por UPLC-MS/MS. Em humanos, o uso de cigarros eletrônicos levou a um aumento nos níveis urinários de 23HPMA, mas não de 3HPMA. A exposição aguda de camundongos a aerossóis derivados de PG:13C3-VG aumentou significativamente o enriquecimento de $^{13}\text{C}_3$ de ambos os metabólitos urinários $^{13}\text{C}_3$ 3HPMA e $^{13}\text{C}_3$ 23HPMA. Nossos experimentos de rastreamento de isótopos estáveis fornecem mais evidências de que a decomposição térmica da glicerina vegetal no solvente do cigarro eletrônico leva à geração de acroleína e glicidol. Isso sugere que os efeitos adversos à saúde dos cigarros eletrônicos podem ser atribuídos em parte a esses compostos reativos formados pelo processo de aerossolização da nicotina. Nossos achados também apoiam a noção de que o 23HPMA, mas não o 3HPMA, pode ser um biomarcador relativamente específico do uso de cigarros eletrônicos⁽¹³⁷⁾.

Nossos dados fornecem mais evidências para a formação de compostos tóxicos (glicidol e acroleína) em aerossóis de cigarro eletrônico e sustentam a hipótese de que o metabólito de glicidol 23HPMA pode ser útil como um biomarcador relativamente específico do uso de cigarro eletrônico. Além disso, como o risco de doença cardiopulmonar aparece como um continuum de exposição à acroleína, e como os aerossóis derivados do E-líquido PG:VG e JUUL contêm acroleína, há uma preocupação crescente de que os usuários de cigarros eletrônicos, independentemente da nicotina ou aromatizantes, pode aumentar o risco de doença cardiopulmonar. Da mesma forma, como o glicidol também é um composto tóxico, talvez os padrões de produtos devam ser desenvolvidos

para reduzir os níveis de acroleína e glicidol gerados nos aerossóis de cigarros eletrônicos a um nível abaixo do que pode induzir danos cardiopulmonares agudos e/ou crônicos⁽¹³⁷⁾.

O coronavírus-2 da síndrome respiratória aguda grave (SARS-CoV-2), o vírus responsável pela pandemia de COVID-19, entra na célula hospedeira quando sua proteína Spike é clivada pelas proteases do hospedeiro TMPRSS2 e furina, aumentando assim acentuadamente a afinidade viral para o seu receptor, a enzima conversora de angiotensina-2 (ACE2). Em roedores e pulmões humanos doentes, a fumaça do cigarro de tabaco (TCIG) aumenta o ACE2, mas o efeito do cigarro eletrônico vaping (ECIG) é desconhecido. Não se sabe se a nicotina (em TCIGs e ECIGs) ou constituintes não nicotínicos exclusivos da fumaça TCIG aumentam a expressão de proteínas-chave na patogênese do COVID-19. Células imunes (CD45+) coletadas antes da pandemia em jovens saudáveis, incluindo fumantes TCIG (n = 9), vapers ECIG (n = 12) ou não fumantes (NS) (n = 12), foram estudadas. Usando citometria de fluxo, a expressão de proteínas-chave na patogênese do COVID-19 foi comparada entre esses grupos. Os fumantes de TCIG e os vapers de ECIG tiveram cargas semelhantes de fumar ou vaping, conforme indicado por níveis semelhantes de cotinina no plasma. Os fumantes de TCIG em comparação com NS tiveram uma porcentagem significativamente aumentada de células positivas para ACE2 (10 vezes, p <0,001), TMPRSS2 (5 vezes, p <0,001) e ADAM17 (2,5 vezes, p <0,001). Além disso, a intensidade média de fluorescência (MFI) mostrou consistentemente maior média de ACE2 (2,2 vezes, p < 0,001), TMPRSS2 (1,5 vezes, p < 0,001), furina (1,1 vezes, p < 0,05) e ADAM17 (2 vezes, p < 0,001) em fumantes TCIG em comparação com NS. Em vapers ECIG, furina MFI foi aumentada (1,15 vezes, p <0,05) e TMPRSS2 MFI tendeu a ser aumentada (1,1 vezes, p = 0,077) em comparação com NS. A descoberta de que os principais instigadores da infecção por COVID-19 são mais baixos em vapers ECIG em comparação com fumantes TCIG é intrigante e merece investigação adicional para determinar se a mudança para ECIGs é uma estratégia eficaz de redução de danos. No entanto, a tendência de aumento de proteases em vapers ECIG permanece preocupante. Este é o primeiro estudo humano a relatar um aumento acentuado nas proteínas críticas para a infecção por COVID-19, incluindo ACE2, TMPRSS2

e ADAM17, em células imunes de fumantes saudáveis de tabaco sem doença pulmonar em comparação com usuários de cigarro eletrônico e não fumantes. Esses achados justificam uma investigação adicional para determinar se a mudança para cigarros eletrônicos pode ser uma estratégia eficaz de redução de danos em fumantes viciados em nicotina que não conseguem ou não querem parar. O aumento de proteases em vapers de cigarro eletrônico continua preocupante⁽¹³⁸⁾.

Este estudo fornece evidências sugerindo que mudanças nos biomarcadores de exposição a substâncias tóxicas do tabaco ocorrem em casos de transição entre o tabagismo e o uso de cigarros eletrônicos entre adultos nos EUA. Nossas descobertas demonstram os benefícios da transição do fumo de cigarros combustíveis para o uso menos prejudicial de cigarros eletrônicos. No entanto, a maioria dos usuários de cigarros eletrônicos continua a manter o uso duplo de cigarros e cigarros eletrônicos ou faz a transição de volta para o tabagismo, limitando assim os benefícios para a saúde pública associados à mudança para um uso menos prejudicial de cigarros eletrônicos⁽¹³⁹⁾.

Este estudo de coorte usou dados da onda 1 (linha de base, 2013 a 2014) e da onda 2 (acompanhamento de 1 ano, 2014 a 2015) do Estudo de Avaliação de Tabaco e Saúde da População. Foi analisado um subconjunto da amostra probabilística de adultos americanos que forneceram bioespécimes voluntariamente em 2 ondas. Os participantes foram divididos em 3 grupos mutuamente exclusivos no início do estudo: fumantes exclusivos de cigarros, usuários exclusivos de cigarros eletrônicos e usuários duplos. Constituintes nocivos e potencialmente nocivos incluíam metabólitos de nicotina, nitrosaminas específicas do tabaco (TSNAs; incluindo 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanol [NNAL]), metais, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs) e compostos orgânicos voláteis compostos (VOCs). Alterações dentro dos participantes em 55 biomarcadores urinários de exposição (BOEs) a constituintes nocivos e potencialmente nocivos foram examinados usando modelos de regressão multivariada. Entre 3.211 participantes (55,6% mulheres, 68,3% brancos, 13,2% negros e 11,8% hispânicos) no início do estudo, 21,9% dos usuários exclusivos de cigarros, 42,8% dos usuários exclusivos de cigarros

eletrônicos e 62,1% dos usuários duplos mudaram o uso do produto em acompanhamento (todas as porcentagens são ponderadas). Houve uma redução significativa nas concentrações urinárias de TSNAs, PAHs e VOCs quando os usuários passaram do uso exclusivo de cigarro para uso exclusivo de cigarro eletrônico, com uma redução de 92% no NNAL, de uma média de 168,4 pg/mg de creatinina (95% CI, 102,3-277,1 pg/mg de creatinina) para 12,9 pg/mg de creatinina (95% CI, 6,4-25,7 pg/mg de creatinina; $P < 0,001$). Um painel semelhante de BOEs diminuiu quando usuários duplos fizeram a transição para o uso exclusivo de cigarro eletrônico; Os níveis de NNAL diminuíram em 96%, de uma média de 143,4 pg/mg de creatinina (95% CI, 86,7-237,0 pg/mg de creatinina) para 6,3 pg/mg de creatinina (95% CI, 3,5-11,4 pg/mg de creatinina; $P < 0,001$). Os metabólitos da nicotina, TSNAs, PAHs e VOCs aumentaram significativamente quando os usuários de cigarros eletrônicos exclusivos da linha de base fizeram a transição para o uso exclusivo de cigarros ou uso duplo. A mudança do uso exclusivo de cigarros para o uso duplo não foi associada a reduções significativas nos BOEs. Este estudo de coorte nacional fornece evidências sobre a potencial redução de danos associada à transição do uso exclusivo de cigarros ou do uso duplo para o uso exclusivo de cigarros eletrônicos. Os cigarros eletrônicos tendem a complementar os cigarros por meio do uso duplo, em vez da cessação no nível da população. O monitoramento contínuo do BOE no nível da população e a avaliação da mudança do BOE pela transição do produto são garantidos, bem como os resultados adversos à saúde definidos⁽¹³⁹⁾.

As vendas de cigarros eletrônicos nos Estados Unidos (EUA) devem atingir 16,5 bilhões até 2024, de acordo com a análise de mercado. Seis mortes e 450 doenças pulmonares foram associadas ao uso de cigarros eletrônicos. Até onde sabemos, não existe uma revisão sistemática dos efeitos adversos dos cigarros eletrônicos na cabeça, pescoço e células orais. Esta revisão teve como objetivo realizar uma revisão sistemática da literatura atual para determinar se os cigarros eletrônicos causaram efeitos adversos nas células da cabeça, pescoço e cavidade oral. Cinco bancos de dados, incluindo Medline, Dentistry and Oral Sciences, CINAHL, CAPLUS, Web of Science e literatura cinza, foram pesquisados em busca de artigos a qualquer momento até dezembro de 2020.

Usando o software Rayyan, dois pesquisadores independentes examinaram 233 artigos e extraíram 41 para investigação adicional. Com base nos critérios de inclusão, 18 artigos foram elegíveis para esta revisão. Morfologia aberrante, citotoxicidade, estresse oxidativo, viabilidade reduzida, migração retardada de fibroblastos e genotoxicidade foram estatisticamente significativos quando as células da cabeça, pescoço e boca foram expostas a cigarros eletrônicos. É digno de nota que a maioria dos artigos nesta revisão sistemática descobriu que a fumaça do cigarro é significativamente mais tóxica para a cabeça, pescoço e células orais do que os cigarros eletrônicos. Os cigarros eletrônicos estão implicados em efeitos adversos na cabeça, pescoço e células orais, mas muito poucos foram testados contra essas células. Mais estudos longitudinais usando uma variedade maior de cigarros eletrônicos são necessários antes que possamos determinar seus efeitos adversos totais. Pesquisas futuras também devem investigar o uso crônico de cigarro eletrônico e se ele leva à doença periodontal e/ou câncer de cabeça, pescoço ou boca⁽¹⁴⁰⁾.

A toxicidade da exposição de cigarros eletrônicos em células adjacentes à cavidade oral valida ainda mais os achados desta revisão. Aumento da citotoxicidade celular e LDH, transcriptomas alterados, proliferação reduzida e aumento de citocinas pró-inflamatórias foram encontrados quando células nasais, auriculares e pulmonares foram expostas a cigarros eletrônicos. O dietileno glicol, um produto químico encontrado em cigarros eletrônicos, foi testado em fibroblastos gengivais e resultou em redução da viabilidade celular, aumento da apoptose, interrupção do ciclo celular e danos ao DNA. O propilenoglicol em cigarros eletrônicos aumenta o peróxido de hidrogênio nos fibroblastos pulmonares, promove o estresse oxidativo, aumenta a xerostomia e produz um aumento dependente da dose nas citocinas das células brônquicas. O formaldeído, outro produto químico dos cigarros eletrônicos, foi testado em células nasais, mucosas orais e linfócitos⁽¹⁴⁰⁾.

O aumento do uso de formas não queimadas de nicotina, como os cigarros eletrônicos, levanta importantes questões de saúde pública em relação a seus riscos específicos em relação aos produtos de tabaco queimado, como os cigarros. Para delinear completamente esses riscos, são necessários

biomarcadores aprimorados que possam distinguir entre essas formas de uso de nicotina. Trabalhos anteriores sugeriram que o status de metilação em cg05575921 pode servir como um biomarcador específico da exposição à fumaça de tabaco queimado. Nossa hipótese é que a combinação desse biomarcador epigenético com ensaios de metabólitos convencionais poderia classificar o tipo de consumo de produtos de nicotina. Portanto, determinamos a metilação do DNA e os valores de cotinina sérica em amostras de 112 fumantes, 35 usuários de cigarro eletrônico, 19 usuários de tabaco sem fumaça e 269 controles, e realizamos análises de espectroscopia de massa de amostras de urina de todos os usuários de nicotina e 22 controles verificados para determinar níveis de substâncias supostamente específicas de produtos de nicotina; propilenoglicol, ácido 2-cianoetilmercaptúrico (CEMA) e anabasina. 1) O tabagismo foi associado a uma desmetilação dependente da dose de cg05575921 e aumentou os níveis urinários de CEMA e anabasina, 2) o uso de cigarro eletrônico não desmetilou cg05575921, 3) o uso de tabaco sem fumaça também não desmetilou cg05575921, mas foi positivamente associado aos níveis de anabasina, 4) os níveis de CEMA e cg05575921 foram altamente correlacionados e 5) os níveis de propileno glicol não distinguiram de forma confiável os grupos de uso. As avaliações Cg05575921 distinguem a exposição à fumaça do tabaco de fontes de nicotina sem fumaça, incluindo cigarros eletrônicos e tabaco sem fumaça, nenhum dos quais está associado à desmetilação cg05575921. Uma combinação de perfis metilônicos e de metabólitos pode permitir uma classificação precisa do status de uso de uma variedade de produtos que contêm nicotina⁽¹⁴¹⁾.

Os cigarros eletrônicos e HTPs tornaram-se populares entre os fumantes porque são considerados uma alternativa menos nociva e tóxica aos cigarros de tabaco. No entanto, as características de emissão e os níveis de toxicidade de substâncias tóxicas emitidas por novos tipos de produtos de tabaco e cigarros não foram sistematicamente comparados. Vale a pena detectar e analisar as características das emissões de alcatrão, nicotina, CO e VOCs, principais componentes emitidos pelo fumo, pelo HTP, cigarros eletrônicos e cigarros. Neste estudo, comparamos sistematicamente os componentes químicos dos aerossóis convencionais dos três produtos acima com um método de fumar

cuidadosamente projetado e avaliou os riscos não cancerígenos e cancerígenos à saúde por meio de HI e LCR sob os modelos MS e RR. Menos de 20 VOCs foram encontrados nos aerossóis de HTPs e cigarros eletrônicos, mas mais de 90 VOCs estavam presentes na fumaça principal dos cigarros. Os resultados mostram que a concentração total de VOCs emitidos pelos cigarros eletrônicos foi a mais alta (795,4 mg/100 tragadas), 50,8 vezes e 9,5 vezes maior do que a emitida pelos HTPs e cigarros, respectivamente. Para os mesmos cigarros, as concentrações de emissão de VOCs, alcatrão e CO para o método de aquecimento foram consideravelmente reduzidas em aproximadamente 81,2%, 95,9% e 97,5% quando comparadas ao método de queima. O tipo e a concentração de VOCs afetam o aroma de HTPs e cigarros. Os resultados do risco à saúde para os diferentes tipos de produtos de tabaco revelam que apenas o risco não cancerígeno para a saúde dos cigarros eletrônicos era aceitável (0,91). O risco cancerígeno para a saúde dos cigarros foi de $2,99 \times 10^{-4}$, 3,01 vezes maior do que o dos HTPs e 6,23 vezes maior do que o dos cigarros eletrônicos, todos excedendo o nível aceitável de 1×10^{-6} . Em geral, HTPs e e-cigarros são menos prejudiciais do que os cigarros⁽¹⁴²⁾.

Entre 32 participantes saudáveis neste ensaio clínico cruzado randomizado, a idade média (intervalo) foi de 24 (21-33) anos, e 19 indivíduos eram do sexo masculino. Nove indivíduos tinham uso prolongado de TCIG (mais de 1 ano), 12 tinham uso prolongado de ECIG e 11 não tinham histórico de uso de TCIG ou ECIG. As características iniciais não diferiram entre os 3 grupos, e a carga de uso de tabaco no início não diferiu entre os grupos ECIG e TCIG. As células imunes foram coletadas antes e 4 horas após as sessões supervisionadas de vaping, usando um ECIG com 5% de nicotina ou sham vaping (sopro em um canudo) em sequência aleatória, conforme descrito anteriormente. Usamos métodos de citometria de fluxo estabelecidos para determinar cellular oxidative stress (COS) em células imunes por investigadores cegos para os grupos de estudo. Os protocolos foram aprovados pelo conselho de revisão institucional da Universidade da Califórnia, Los Angeles, e registrados no ClinicalTrials.gov. Todos os participantes assinaram termo de consentimento. O teste Kruskal - Wallis foi usado para comparar os 3 grupos de usuários de tabaco e o teste U de Mann-Whitney foi usado para comparar os grupos vaping vs sham. Os testes

foram bicaudais e o nível de significância foi estabelecido em $P < 0,05$. Como este foi um pequeno estudo exploratório, não ajustamos para comparações múltiplas. Dados representativos das medidas de COS foram publicados. Consistente com nossos achados anteriores, todas as medidas basais de COS foram mais baixas em indivíduos que nunca fumaram, intermediárias em indivíduos que atualmente usavam ECIGs e mais altas em indivíduos que atualmente fumavam TCIGs. A exposição a uma única sessão de vaping, mas não à sessão de controle simulada, aumentou a porcentagem de células imunes CD45+ positivas para Cell ROX Green em 1,3 vezes em comparação com o histórico de tabagismo ou vaping ou indivíduos que atualmente usavam ECIGs ou TCIGs. Dada a heterogeneidade das respostas celulares, determinamos o efeito de uma única sessão de vaping no COS em subtipos de células imunes entre os grupos. Em comparação com o controle simulado, o vaping agudo aumentou a porcentagem de monócitos CD142+CD16+ e CD14dimCD16+, células T e células natural killer positivas para CellROX Green em uma média de 1,0 vezes, 1,25 vezes, 0,9 vezes, 1,05 vezes, 1,05 vezes, respectivamente, em comparação com a sessão de controle simulado em indivíduos sem histórico de tabagismo ou vaping. Tendências semelhantes e não significativas foram encontradas em neutrófilos, monócitos CD142+CD16- e células B de indivíduos sem histórico de tabagismo ou vaping. Em comparação com o controle simulado, uma única sessão de vaping não afetou outras medidas de COS em subtipos celulares de indivíduos sem histórico de tabagismo ou vaping ou indivíduos que atualmente usavam ECIGs e indivíduos que atualmente fumavam TCIGs⁽¹⁴³⁾.

Comparamos biomarcadores inflamatórios (proteína C reativa de alta sensibilidade (hs -CRP), interleucina-6 (IL-6), fibrinogênio, molécula de adesão intercelular solúvel-1 (sICAM-1)) e um marcador de estresse oxidativo (F2-isoprostano) entre 3.712 participantes adultos na Onda 1 (2013–2014) do Estudo de Avaliação de Tabaco e Saúde da População por grupos de usuários de tabaco: usuários duplos de cigarros e cigarros eletrônicos; ex-fumantes que atualmente usam apenas cigarros eletrônicos; fumantes atuais de cigarros apenas de cigarros; ex-fumantes que atualmente não usam tabaco; e nunca tabagistas. Calculamos médias geométricas (GMs) e estimamos razões médias geométricas ajustadas (GMRs). Usuários duais experimentaram maior

concentração de F2-isoprostano do que fumantes atuais apenas de cigarro (GMR 1,09 [95% CI 1,03, 1,15]). Os biomarcadores foram semelhantes entre ex-fumantes que atualmente usam cigarros eletrônicos e ex-fumantes que não usam tabaco e nunca fumaram, mas entre esses grupos a maioria dos biomarcadores foi menor do que os dos fumantes atuais apenas de cigarros. A concentração de F2-isoprostano diminuiu com o tempo desde a cessação do tabagismo entre usuários exclusivos de cigarros eletrônicos ($p = 0,03$) e ex-fumantes que atualmente não usam tabaco ($p = 0,0001$). Os usuários duais têm maior concentração de F2-isoprostano do que os fumantes. Os usuários exclusivos de cigarros eletrônicos têm concentrações de biomarcadores semelhantes às dos ex-fumantes que não usam tabaco atualmente e menores do que as dos fumantes exclusivos de cigarros⁽¹⁴⁴⁾.

O uso de cigarros eletrônicos aumentou especialmente entre adolescentes e adultos jovens. O objetivo deste estudo foi investigar a glicemia de jejum e os perfis lipídicos em usuários crônicos de cigarros combustíveis e eletrônicos. Avaliamos participantes de 21 a 45 anos ($n = 525$, idade média 31 ± 7 anos, 45% mulheres) sem doença cardiovascular estabelecida ou fatores de risco que eram usuários de cigarros combustíveis ($n = 290$), usuários de cigarro eletrônico ($n = 131$; 65 usuários únicos e 66 usuários duplos) ou nunca usuários ($n = 104$). Na primeira onda de inscrições (2014–2017), os usuários de cigarros eletrônicos relataram seus produtos como dispositivos de primeira, segunda e terceira geração (usuários de e-cig) e eram todos, em grande parte, atuais (ou seja, duplos) ou ex-usuários (únicos) de cigarros combustíveis, enquanto na segunda onda de inscrições (2019–2020), todos os usuários de cigarro eletrônico relataram uso de dispositivos baseados em cápsulas (usuários de cápsulas) e incluíram mais usuários únicos que nunca fumaram. Em análises multivariáveis ajustadas em comparação com nunca usuários, tanto os usuários únicos de e-cig quanto os usuários de cigarros combustíveis apresentaram níveis mais altos de glicose e triglicerídeos e níveis mais baixos de colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL). Os usuários duplos de e-cig mostraram triglicerídeos mais altos e colesterol de lipoproteína de densidade muito baixa e colesterol HDL mais baixo em comparação com os que nunca usaram. Em contraste, os usuários de cápsulas (tanto únicos quanto duplos) apresentaram perfis lipídicos e níveis de

glicose semelhantes aos que nunca os usaram. No geral, os usuários de cigarros eletrônicos de primeira geração exibem perfis metabólicos adversos. Em contraste, os usuários de cigarros eletrônicos baseados em cápsulas têm perfis lipídicos semelhantes aos que nunca usaram. Estudos futuros são necessários para entender os efeitos cumulativos do uso de cigarro eletrônico na saúde cardiometabólica⁽¹⁴⁵⁾.

O presente estudo fornece informações sobre as associações do uso de novos produtos de tabaco com marcadores conhecidos de saúde cardiovascular. É importante ressaltar que, quando comparados a nunca usuários, descobrimos que o uso da geração anterior de cigarros eletrônicos com e sem o uso de cigarros combustíveis está associado a níveis mais baixos de colesterol HDL e triglicerídeos mais altos. As medidas metabólicas foram semelhantes em usuários únicos de e-cig em comparação com usuários de cigarros combustíveis, sugerindo que os cigarros eletrônicos podem ter um impacto residual nos parâmetros cardiometabólicos. Nosso estudo sugere que as medidas de glicose e lipídios em jejum, importantes fatores de risco pré-clínicos para regulação metabólica prejudicada e aterosclerose, são alteradas em indivíduos que usam gerações anteriores de cigarros eletrônicos sozinhos ou em conjunto com cigarros combustíveis. Embora tenhamos descoberto que os usuários de cigarros eletrônicos baseados em cápsulas têm medidas semelhantes aos que nunca usaram, os efeitos a longo prazo do uso consistente de cigarros eletrônicos não foram avaliados. Portanto, nossos achados apoiam ainda mais a urgência em estudar os efeitos longitudinais do uso de cigarro eletrônico em indivíduos que trocam de cigarros combustíveis e, especialmente, naqueles que nunca fumaram⁽¹⁴⁵⁾.

Os resultados deste estudo sugerem que o uso de cigarros eletrônicos não afeta a metilação da saliva da mesma forma que o tabagismo. Ao contrário do tabagismo, o perfil de metilação dos cigarros eletrônicos não se replicou em amostras independentes e não foi capaz de discriminar o câncer do tecido normal. No entanto, a curta duração do uso do cigarro eletrônico pelos participantes do estudo e o tamanho da amostra podem ter dificultado a detecção de sinais. Mais estudos são necessários para detectar uma assinatura de

metilação robusta para uso prolongado de cigarro eletrônico. A medida em que a metilação relacionada ao uso de cigarros eletrônicos se traduz em efeitos crônicos e resultados de saúde relevantes também deve ser investigada⁽¹⁴⁶⁾.

Entre fumantes e não fumantes, avaliamos associações entre o uso de cigarro eletrônico e a metilação da saliva em todo o epigenoma. A metilação do DNA em 7 locais de citosina-fosfato-guanina (CpGs) foi associada ao uso de cigarro eletrônico em $p < 1 \times 10^{-5}$ e nenhum em $p < 5,91 \times 10^{-8}$. 13 CpGs foram associados ao tabagismo em $p < 1 \times 10^{-5}$ e um em $p < 5,91 \times 10^{-8}$. Os CpGs associados ao uso de cigarros eletrônicos foram amplamente distintos daqueles associados ao tabagismo. Houve forte enriquecimento de CpGs conhecidos relacionados ao tabagismo nos fumantes, mas não nos vapers. Também testamos associações entre o uso de cigarros eletrônicos e os escores de metilação conhecidos por prever o tabagismo e o envelhecimento biológico. Os escores de metilação para tabagismo e envelhecimento biológico foram semelhantes entre vapers e não fumantes. Níveis mais elevados de todas as pontuações de tabagismo e uma pontuação de envelhecimento biológico (GrimAge) foram observados em fumantes. Uma pontuação de metilação para o uso de cigarros eletrônicos mostrou predição ruim internamente (AUC 0,55, 0,41–0,69) e externamente (AUC 0,57, 0,36–0,74) em comparação com uma pontuação de tabagismo (AUCs 0,80) e foi menos capaz de discriminar carcinoma de células escamosas de pulmão de tecido normal adjacente (AUC 0,64, 0,52–0,76 versus AUC 0,73, 0,61–0,85)⁽¹⁴⁶⁾.

A transição para cigarros eletrônicos foi proposta como adjuvante à cessação do tabagismo, mas a segurança da abordagem é incerta em indivíduos com doença pulmonar existente. Este estudo mostrou que os aerossóis de um cigarro eletrônico de quarta geração induziram respostas celulares aumentadas em BECs derivados de pacientes com DPOC, submetidos a cirurgia para câncer de pulmão, com efeitos na citotoxicidade, danos ao DNA e inflamação comparáveis aos da exposição ao cigarro fumaça. Os resultados podem refletir o aumento da suscetibilidade inflamatória e oncológica do epitélio brônquico em pacientes com doença pulmonar pré-existente. Os resultados desses estudos *de exposição in vitro* demonstram que os cigarros eletrônicos podem, de fato, não ser uma

alternativa 'mais segura' para parar de fumar do que fumar cigarros para fumantes com doenças pulmonares. Mais investigações usando modelos *in vitro* e *in vivo* relevantes e métodos padronizados de geração de aerossol são necessários para permitir que médicos e autoridades de saúde pública aconselhem definitivamente se a incorporação de sistemas eletrônicos de administração de nicotina nas estratégias de cessação do tabagismo é segura para pacientes com doença pulmonar⁽¹⁴⁷⁾.

BECs de pacientes com DPOC submetidos a cirurgia para câncer de pulmão e células comparadoras (16HBE imortalizadas) foram cultivadas na interface ar-líquido (ALI). Os BECs foram expostos a aerossóis de um cigarro eletrônico JUUL (Virginia Tobacco e Menthol pods com 5% de força de nicotina) ou cigarro 3R4F de referência por 30 minutos em ALI. Citotoxicidade celular, dano ao DNA e inflamação foram medidos. Em resposta aos aerossóis de cigarro eletrônico com sabor de tabaco e mentol, os BECs de DPOC mostraram liberação comparável de LDH (citotoxicidade celular, $p = 0,59$, $p = 0,67$, respectivamente), danos ao DNA ($p = 0,41$, $p = 0,51$) e inflamação (IL-8, $p = 0,20$, $p = 0,89$ e IL-6, $p = 0,24$, $p = 0,93$), à fumaça de cigarro. As células 16HBE também mostraram respostas celulares comparáveis à fumaça do cigarro. Nas células das vias aéreas de pacientes com DPOC, os aerossóis de um cigarro eletrônico de quarta geração foram associados a uma toxicidade semelhante à fumaça do cigarro. Esses resultados têm implicações potenciais para a segurança do uso de cigarros eletrônicos em pacientes com doenças pulmonares⁽¹⁴⁷⁾.

O tabagismo prejudica a eficiência da depuração mucociliar (MCC), conforme mostrado pelo tempo de trânsito prolongado do teste de sacarina (STTT). Evitar a exposição à fumaça do tabaco de cigarros combustíveis pode restaurar a função do MCC e ex-fumantes demonstraram exibir STTT semelhante aos que nunca fumaram. O impacto no STTT da mudança do tabagismo para produtos de tabaco sem combustão, como cigarros eletrônicos (CEs) e produtos de tabaco aquecidos (HTPs), não é conhecido. Relatamos STTT de usuários exclusivos de EC e HTP. Os resultados dos testes foram comparados com aqueles obtidos em fumantes atuais, ex-fumantes e nunca fumantes. STTT foram obtidos de 39 atuais, 40 ex-fumantes, 40 nunca fumantes e de 20 usuários

de CE e 20 usuários de HTP. A comparação dos valores do STTT mostrou diferença significativa entre os cinco grupos de estudo ($p < 0,00001$) com fumantes atuais tendo uma mediana [intervalo interquartil (IQR)] STTT de 13,15 min, que foi significativamente mais longo em comparação com todos os outros grupos de estudo. Em particular, em comparação com ex-fumantes (7,26 min) e nunca fumantes (7,24 min), usuários exclusivos de CE e usuários exclusivos de HTP tiveram STTT semelhante em 7,00 e 8,00 min, respectivamente. Ex-fumantes que mudaram para o uso regular exclusivo de sistemas de administração de nicotina sem combustão (ou seja, ECs e HTPs) exibem tempo de trânsito de sacarina semelhante aos que nunca fumaram e aos ex-fumantes. Isso sugere que é improvável que as tecnologias de administração de nicotina sem combustão tenham efeitos prejudiciais na função do MCC⁽¹⁴⁸⁾.

Não está claro como o estresse oxidativo desencadeado pelo fumo e vaping pode alterar subconjuntos específicos de células imunes. Neste estudo, mostramos que fumar cigarros de tabaco, mas não vaporizar cigarros eletrônicos, está associado ao aumento da expressão das principais proteínas no eixo de sinalização do receptor toll-like 4 (TLR4) do inflamassoma-interleucina (IL)-6 em subtipos de monócitos e células T. O TLR4 detecta o estresse oxidativo nas células imunes, a caspase-1 é uma proteína chave da ativação do inflamassoma, e o IL-6R- α é o receptor da IL-6 que impulsiona a sinalização pró-aterogênica da IL-6. Esses achados implicam os tóxicos pró-oxidantes não nicotínicos na fumaça do cigarro de tabaco como instigadores do aumento da expressão de proteínas-chave no eixo TLR4-inflamassoma-IL-6 que contribuem para a aterogênese⁽¹⁴⁹⁾.

Em conclusão, nosso estudo é o primeiro, até onde sabemos, a relatar que os TCIGs, mas não os ECIGs, estão associados ao aumento da expressão das principais proteínas no eixo de sinalização TLR4-inflamassoma-IL-6 em subtipos de monócitos e células T. Esses dados apoiam investigações adicionais sobre o papel dos ECIGs como parte de uma estratégia de redução de danos para adultos viciados em TCIGs que não desejam ou não conseguem parar⁽¹⁴⁹⁾.

Nos primeiros 2 dias deste estudo clínico, os indivíduos usaram sua marca habitual de cigarros e depois mudaram para o uso exclusivo de ENDS ad libitum por 5 dias. Amostras de urina e plasma foram coletadas no início e 5 dias após a troca. As amostras foram analisadas usando uma plataforma metabolômica baseada em espectrometria de massa. Análises florestais aleatórias de dados metabolômicos de urina e plasma revelaram excelente precisão preditiva ($> 97\%$) de uma assinatura de 30 metabólitos que pode diferenciar fumantes de pessoas que trocam SEND em 5 dias. Nessas assinaturas, a maioria dos biomarcadores são metabólitos ou xenobióticos derivados da nicotina. Eles foram significativamente reduzidos na urina e no plasma, sugerindo uma diminuição da carga de xenobióticos nos indivíduos. Nossos resultados também mostram níveis significativamente reduzidos de metabólitos de glutationa no plasma após a troca, o que sugere níveis reduzidos de estresse oxidativo. Além disso, foram identificados níveis urinários e plasmáticos aumentados de vitaminas e antioxidantes, sugerindo maior biodisponibilidade devido à interrupção do tabagismo e à mudança para o uso de Vuse ENDS. Nossos resultados sugerem redução da exposição a tóxicos, redução do estresse oxidativo e possíveis mudanças benéficas no metabolismo das vitaminas em 5 dias em fumantes que mudam para Vuse ENDS. Mudar do tabagismo para o uso exclusivo de ENDS em ambientes de confinamento clínico resulta em redução significativa de metabólitos de nicotina e outros xenobióticos relacionados ao cigarro na urina e no plasma dos indivíduos. Metabólitos relacionados ao estresse oxidativo significativamente diminuídos e níveis urinários e plasmáticos aumentados de metabólitos vitamínicos e antioxidantes em trocadores de ENDS de curto prazo de 5 dias sugerem um ambiente fisiológico menos tóxico para os consumidores de produtos ENDS e potenciais benefícios à saúde se tais mudanças persistirem⁽¹⁵⁰⁾.

Levantamos a hipótese de que o cigarro eletrônico e o tabagismo alteram os metabólitos sistêmicos e propomos entender a assinatura metabólica específica entre usuários de cigarro eletrônico e fumantes. O plasma de controles não fumantes, fumantes de cigarro e usuários de e-cig foi coletado e os metabólitos foram identificados por UPLC-MS (espectrômetro de massa de cromatografia líquida de ultra desempenho). A degradação da nicotina foi ativada por e-cig

vaping e tabagismo com concentrações aumentadas de cotinina, N-óxido de cotinina, (S)-nicotina e (R)-6-hidroxinicotina. Além disso, encontramos concentrações significativamente diminuídas em metabólitos associados às vias do ciclo do ácido tricarboxílico (TCA) em usuários de e-cig versus fumantes de cigarro, como D-glicose, (2R,3S)-2,3-dimetilmalato, (R)-2-hidroxiglutarato, O-fosfoetanolamina, malation, D- treo -isocitrato, ácido málico e ácido 4-acetamidobutanóico. Metabólitos de esfingolipídios significativamente regulados pelo tabagismo, como D-esfingosina, ceramida, N-(octadecanoil)-esfing-4-enina, N-(9Z-octadecenoil)-esfing-4-enina e N-[(13Z) -docosenoil]-esfingosina, versus e-cig vaping. No geral, o e-cig vaping desregulou os metabólitos relacionados ao ciclo do TCA, enquanto o tabagismo alterou os metabólitos dos esfingolipídeos. Tanto o cigarro eletrônico quanto a fumaça do cigarro aumentaram os metabólitos nicotínicos. Portanto, assinaturas metabólicas específicas alteradas por e-cig vaping e tabagismo podem servir como potenciais biomarcadores sistêmicos para a patogênese precoce de doenças cardiopulmonares⁽¹⁵¹⁾.

Os participantes deste estudo forneceram informações, incluindo idade, sexo, gênero e etnia. Informações detalhadas sobre tabagismo, e-cig vaping e controle de saúde nos permitiram categorizar os grupos de condições conforme descrito anteriormente. Em resumo, estabelecemos os seguintes critérios para triagem de potenciais participantes em diferentes categorias: (1) idades entre 21 e 65 anos; (2) indivíduos de controle saudáveis são definidos como nunca tendo usado produtos de tabaco (fumaça de cigarro, fumaça de narguilé e charuto) ou qualquer produto de cigarro eletrônico; (3) usuários de e-cig definidos como nunca tendo usado nenhum produto de tabaco; (4) não há histórico de doenças crônicas em nenhum de nossos participantes; (5) não há infecções respiratórias atuais ou quaisquer drogas anti-inflamatórias/corticosteroides em uso em nenhum de nossos indivíduos; (6) participantes do sexo feminino não estão amamentando ou grávidas no momento⁽¹⁵¹⁾.

Em conclusão, vários metabólitos desregulados foram identificados em usuários de e-cig e fumantes de cigarro em comparação com controles/não fumantes saudáveis. Metabólitos desregulados de usuários de e-cig e fumantes de cigarro foram correlacionados com a degradação da nicotina. Metabólitos desregulados

relacionados ao ciclo do TCA foram encontrados apenas em usuários de e-cig e metabólitos de esfingolipídios alterados foram mostrados apenas em fumantes de cigarro; metabólitos desregulados específicos identificados em diferentes grupos servem como novos biomarcadores para vaping e tabagismo associados a doenças metabólicas. Outras medições bioquímicas de metabólitos alterados são necessárias para confirmar nossos achados em uma coorte maior⁽¹⁵¹⁾.

Os rendimentos de nicotina do tipo cigarro combustível podem ser obtidos por várias combinações de concentração de líquido de cigarro eletrônico e potência do dispositivo. Se os regulamentos limitarem a concentração de nicotina nos líquidos dos cigarros eletrônicos, os usuários podem compensar adotando dispositivos de maior potência e sendo expostos a maiores emissões de compostos carbonílicos tóxicos e cancerígenos. Regulamentar um fator de cada vez pode ter efeitos indesejados na saúde e destaca a necessidade de considerar vários fatores e resultados simultaneamente ao projetar regulamentações⁽¹⁵²⁾.

Algumas jurisdições instituíram limites para a concentração de nicotina líquida do cigarro eletrônico (ECIG), em um esforço para controlar o teor de nicotina do ECIG, e outras estão considerando seguir o exemplo. Como o rendimento de nicotina ECIG é proporcional ao produto da concentração de nicotina líquida (miligrama por mililitro) e a potência do dispositivo (watts), os regulamentos que limitam a concentração de nicotina líquida podem levar os usuários a adotar dispositivos de maior potência para obter um rendimento de nicotina desejado. Neste estudo, investigamos, sob vários limites regulatórios hipotéticos na concentração de nicotina líquida ECIG, um cenário em que um usuário de um dispositivo ECIG comum (SMOK TF-N2) busca obter em 15 tragadas as emissões de nicotina equivalentes a um cigarro combustível (ou seja, 1,8 mg). Medimos os rendimentos totais de aerossol e composto carbonílico (CC) em 15 puffs em função da potência (15–80 W), enquanto todo o resto foi mantido constante. A concentração estimada de nicotina necessária para atingir o rendimento de nicotina do tipo cigarro combustível em cada nível de potência foi então calculada com base no consumo de líquido medido⁽¹⁵²⁾.

Descobrimos que para um rendimento constante de nicotina de 1,8 mg, a redução da concentração de nicotina líquida resultou em maior quantidade de líquido aerossolizado ($p<0,01$) e maiores emissões de CC ($p<0,05$). Assim, se os usuários buscam um determinado rendimento de nicotina, os limites regulatórios na concentração de nicotina podem ter a consequência não intencional de aumentar a exposição a aerossóis e tóxicos respiratórios. Este resultado demonstra que tentar controlar o rendimento de nicotina do ECIG regulando um fator por vez pode ter efeitos indesejados na saúde e destaca a necessidade de considerar vários fatores e resultados simultaneamente ao projetar regulamentações⁽¹⁵²⁾.

Cigarros eletrônicos (e-cigarros) geralmente têm um perfil tóxico mais favorável do que os cigarros convencionais; no entanto, existe informação limitada para mulheres em idade reprodutiva (WRA). Nossa objetivo foi comparar biomarcadores de exposição a substâncias tóxicas, inflamação e estresse oxidativo entre WRA que autorrelatam uso exclusivo de cigarro eletrônico, tabagismo exclusivo ou nunca uso de tabaco (controles). Modelos de regressão linear multivariada foram usados para comparar as médias geométricas de biomarcadores urinários de exposição a tóxicos e seus metabólitos, marcadores séricos de inflamação [proteína C reativa altamente sensível, molécula de adesão intercelular solúvel (sICAM), interleucina 6, fibrinogênio] e uma medida de estresse oxidativo [prostaglandina F2a-8-isoprostano (F2PG2a)] entre WRA da pesquisa de Avaliação Populacional de Tabaco e Saúde. Os usuários de cigarros eletrônicos apresentaram níveis mais altos de chumbo, nitrosaminas específicas do tabaco, metabólitos da nicotina e alguns compostos orgânicos voláteis (VOCs) do que os controles. Com exceção do cádmio e do chumbo, os usuários de cigarros eletrônicos apresentaram níveis mais baixos dos biomarcadores tóxicos urinários analisados em comparação com os fumantes de cigarros. Os fumantes de cigarro tinham níveis mais altos de todos os biomarcadores de exposição a substâncias tóxicas do que os controles. Não houve diferenças significativas nos níveis de marcadores de inflamação e estresse oxidativo entre usuários de cigarro eletrônico e controles. Usuários e controles de cigarros eletrônicos apresentaram níveis mais baixos de sICAM e F2PG2a do que os fumantes de cigarros. WRA que usam cigarros eletrônicos

apresentaram níveis mais baixos de alguns dos biomarcadores urinários avaliados de exposição a substâncias tóxicas e biomarcadores séricos de inflamação e estresse oxidativo do que aqueles que fumam cigarros, mas chumbo mais alto, metabólitos de nicotina e alguns VOCs do que os controles, o que pode melhorar a saúde riscos⁽¹⁵³⁾.

O sabor foi bem estabelecido anteriormente como um fator chave no apelo dos cigarros eletrônicos. Aqui, contribuímos para esse corpo de trabalho mostrando que o gosto agudo não previu maior ingestão de nicotina em indivíduos que vaporizam regularmente, pois parece que eles podem titular sua ingestão de nicotina independentemente do sabor atribuído. Como esperado, descobrimos que mais aspereza/irritação reduz o gosto, enquanto maior doçura aumenta o gosto. Além disso, um sabor apreciado pode tornar os níveis mais altos de nicotina mais toleráveis, adicionando prazer diretamente. Embora diversos sabores de e-líquidos tenham sido justificados como um meio de apoiar a cessação do tabagismo, é evidente que alguns sabores podem aumentar o gosto agudo, mesmo com altos níveis de nicotina; se tais aumentos no gosto agudo se traduzem em maior iniciação de eCig e responsabilidade de abuso é atualmente desconhecido. Uma grande preocupação com a prevalência de sabores desejáveis de eCig é o apelo para indivíduos que, de outra forma, não considerariam o uso de produtos combustíveis contendo nicotina, especialmente se sabores populares atenuarem sensações aversivas, tornando assim a experiência geral do uso de eCig mais agradável em adultos jovens⁽¹⁵⁴⁾.

Homens (n = 39) com idades entre 18 e 45 anos vaporizaram em um ambiente de laboratório controlado após serem randomizados para um dos quatro e-líquidos: 6 mg nicotina/mL cereja, 18 mg/mL cereja, 6 mg/mL chocolate ou 18 mg/mL chocolate. Eles completaram vários questionários e vaporizaram ad libitum por 10 minutos. Após a primeira tragada, os participantes classificaram as sensações (doçura, amargor, frescor, aspereza/irritação) em escalas gerais de magnitude rotuladas (gLMS) e classificaram o gosto geral em uma escala hedônica generalizada. Depois que a sessão de 10 minutos terminou, os participantes fizeram outro conjunto de avaliações. Gostar foi geralmente estável durante a sessão de vaping e gostar variou substancialmente nas quatro

condições. Em todas as condições, as avaliações sensoriais previram o gosto: aspereza/irritação foi negativamente associada ao gosto pela primeira tragada, enquanto a doçura percebida foi positivamente associada ao gosto pela primeira tragada. Gosto pela primeira tragada associado ao aumento da quantidade de e-líquido vaporizado, mas não à ingestão total de nicotina. Os participantes pareceram regular sua ingestão de nicotina, independentemente da condição atribuída. Os e-líquidos com sabor afetam as classificações de gosto agudo, mas não a ingestão aguda de nicotina. Esses dados sugerem que os indivíduos que vaporizam regularmente podem regular sua ingestão de nicotina, independentemente do sabor e, ao contrário das expectativas, o gosto agudo não previu a ingestão total de nicotina. No entanto, sabores mais apreciados podem potencialmente tornar os níveis mais altos de nicotina mais toleráveis, adicionando sensações agradáveis diretamente, em vez de mascarar a percepção que reduz as sensações aversivas⁽¹⁵⁴⁾.

Este estudo investiga os efeitos prejudiciais da exposição gestacional de cigarro eletrônico e uma dieta rica em gordura (HFD) em corações neonatais. Camundongos prenhes acasalados foram alimentados com HFD e expostos a solução salina ou aerossol de cigarro eletrônico com 2,4% de nicotina desde o dia embrionário 4 (E4) até E20. Demonstramos que a exposição in utero de cigarros eletrônicos e HFD de E4 a E20 desencadeia a apoptose de cardiomiócitos (CM) na prole no dia pós-natal1 (PND1), PND3 e PND14. A indução de apoptose CM após a exposição gestacional de cigarros eletrônicos e HFD foi associada à inativação da proteína quinase ativada por AMP (AMPK), aumento do estresse oxidativo cardíaco associado à perturbação da relação cardíaca BAX/BCL-2 e ativação da caspase 3 no PND 14. A microscopia eletrônica revelou ainda que os ventrículos esquerdos de filhotes no PND14 após a exposição ao cigarro eletrônico exibiram núcleos apoptóticos, membranas nucleares convolutas, desarranjo miofibrilar e mitocôndrias aumentadas ocasionalmente mostrando sinais de cristólise, indicativos de cardiomiopatia e disfunção cardíaca. Nossos resultados mostram efeitos adversos profundos da exposição pré-natal de cigarro eletrônico mais HFD em corações neonatais que podem levar a consequências cardíacas adversas a longo prazo no adulto⁽¹⁵⁵⁾.

Nossas descobertas contradizem a crença popular de que os cigarros eletrônicos são seguros e destacam os múltiplos efeitos prejudiciais da exposição gestacional de cigarros eletrônicos e HFD nos corações fetais. Concluímos que 1) a exposição in utero de nicotina em cigarros eletrônicos mais HFD desencadeia apoptose fetal CM e causa anormalidades ultraestruturais ventriculares indicativas de cardiomiopatia em corações neonatais e 2) os efeitos prejudiciais da exposição gestacional de cigarro eletrônico e HFD na apoptose CM são associado a uma inativação de AMPK, aumento do estresse oxidativo cardíaco associado à perturbação da relação cardíaca BAX/BCL-2 e ativação da caspase 3. Supomos que a exposição pré-natal de cigarro eletrônico mais HFD provavelmente seja uma combinação muito tóxica em bebês que pode até levar a consequências cardíacas adversas a longo prazo no adulto⁽¹⁵⁵⁾.

Um subconjunto de uma amostra probabilística de adultos dos EUA das Ondas 1 e 2 do Estudo de Avaliação Populacional de Tabaco e Saúde foi selecionado para análise de bioespécimes ($n = 4.614$). Os indivíduos foram divididos em três grupos mutuamente exclusivos no início do estudo: não usuários ($n = 2.849$), usuários exclusivos de cigarro eletrônico ($n = 222$) e poliusuários de cigarro eletrônico/tabaco ($n = 1.543$). As concentrações médias geométricas de biomarcadores de linha de base de cinco classes de constituintes nocivos e potencialmente nocivos foram relatadas. Regressões lineares multivariadas foram conduzidas para examinar a relação entre os biomarcadores basais e os sintomas respiratórios subsequentes entre os grupos de usuários. Usuários exclusivos de cigarro eletrônico na linha de base (33,6 % [intervalo de confiança, CI: 26,7% a 41,4%]) e usuários de poli cigarro eletrônico/tabaco (50,8% [IC: 47,4% a 54,2%]) tiveram maior prevalência de sintomas respiratórios subsequentes do que não usuários (21,7% [19,2% a 24,4%]). Em comparação com os não usuários, os usuários de poli cigarro eletrônico/tabaco apresentaram concentrações mais altas em biomarcadores clinicamente relevantes na linha de base do que os usuários exclusivos de cigarro eletrônico. Entre os usuários de polie-cigarro/tabaco, os metabólitos basais da nicotina (TNE2, cotinina), nitrosamina específica do tabaco (NNAL), PAH (1-NAP, 3-FLU) e compostos orgânicos voláteis (N-Acetyl-S-(2 -carboxietil)-l-cisteína, N-acetyl-S-(2-cianoetil)-l-cisteína) foram significativamente maiores entre aqueles que relataram sintomas

respiratórios subsequentes do que aqueles que não relataram. Entre os usuários exclusivos de cigarro eletrônico, o NNAL basal foi significativamente maior entre aqueles que relataram sintomas respiratórios subsequentes do que aqueles que não relataram. Em indivíduos com sintomas respiratórios subsequentes, o NNAL foi 2,5 vezes maior em usuários exclusivos de cigarro eletrônico (10,7 [6,5 a 17,5]) e 63,4 vezes maior em usuários de poli cigarro eletrônico/tabaco (199,6 [176,7 a 225,4]) do que em não usuários (3,1 [2,4 a 3,9]). O uso de cigarros eletrônicos está associado a concentrações mais altas de tóxicos conhecidos relacionados ao tabaco e riscos de sintomas respiratórios subsequentes do que os não usuários. Os usuários de cigarros eletrônicos/tabaco poli apresentam maior risco do que os usuários exclusivos de cigarros eletrônicos. Este estudo longitudinal identificou associações positivas entre biomarcadores urinários basais de exposição a substâncias tóxicas relacionadas ao tabaco e riscos aumentados de sintomas respiratórios subsequentes em vários grupos de usuários de cigarros eletrônicos. O uso de cigarros eletrônicos está associado ao aumento da exposição a substâncias tóxicas conhecidas relacionadas ao tabaco, e certas exposições a substâncias tóxicas aumentam o risco de sintomas respiratórios⁽¹⁵⁶⁾.

Avaliar a microcirculação retiniana em fumantes de cigarro eletrônico (e-cigarro) usando angiografia por tomografia de coerência óptica (OCTA). Medidas de OCTA foram realizadas nos olhos esquerdos de 21 fumantes de cigarros eletrônicos e 21 controles saudáveis. As densidades dos vasos foveal superficial e profundo, perifoveal e parafoveal, retina externa e área de fluxo coriocapilar, zona avascular foveal (FAZ) e espessura macular central foram avaliadas em ambos os grupos. A área FAZ foi maior em fumantes de cigarro eletrônico do que no grupo controle, e a diferença foi estatisticamente significativa ($p = 0,003$). As densidades vasculares fóvea superficial, total superficial, fóvea profunda e total profunda foram significativamente menores no grupo de cigarro eletrônico em comparação com o grupo controle ($p = 0,011$, $p = 0,012$, $p = 0,022$ e $p = 0,041$, respectivamente). A espessura macular central foi menor nos fumantes de cigarro eletrônico, mas a diferença não foi estatisticamente significativa ($p = 0,678$). Fumar cigarros eletrônicos causa aumento da área FAZ e diminui as densidades vasculares⁽¹⁵⁷⁾.

Este estudo fornece informações importantes sobre comportamentos de usuários diários exclusivos de cigarros eletrônicos. A maioria dos usuários diários de cigarros eletrônicos eram do sexo masculino, brancos, ex-fumantes, possuíam uma média de 2 dispositivos de sistema aberto e vaporizavam uma média de 365 tragadas/dia ao longo do dia. Os homens eram mais propensos a vaporizar em uma voltagem mais alta do que as mulheres. Homens e usuários com menor escolaridade consumiram mais e-líquido/semana do que seus respectivos pares, sugerindo maior exposição a compostos tóxicos. As mulheres expressaram menos desejo de reduzir os níveis de nicotina em seus e-líquidos em comparação aos homens. Com uso diário e sem intenção de parar de fumar, os usuários de cigarro eletrônico podem estar em risco de efeitos à saúde a longo prazo devido à exposição a subprodutos de cigarros eletrônicos. Pesquisas futuras, em particular pesquisas nacionais, devem documentar as práticas dos usuários diários de cigarros eletrônicos, particularmente relacionadas à bobina, potência e nicotina usada no e-líquido, pois os níveis de compostos orgânicos e inorgânicos com efeitos toxicológicos conhecidos na saúde são dependentes desses parâmetros. Dada a heterogeneidade dos cigarros eletrônicos no mercado e a capacidade dos usuários de modificar as características do dispositivo, os estudos de pesquisa que analisam os constituintes do cigarro eletrônico e os efeitos na saúde devem incluir uma caracterização abrangente dos comportamentos de uso do cigarro eletrônico e das características do dispositivo⁽¹⁵⁸⁾.

Comparar o potencial de redução de danos do cigarro eletrônico NSPS versus cigarros combustíveis. Este ensaio clínico randomizado não cego comparou 6 semanas de uso de cigarros eletrônicos versus cigarros como de costume de 2018 a 2019 entre fumantes nas áreas de San Diego, Califórnia e Kansas City, Missouri. Os participantes incluíram fumantes de cigarros combustíveis adultos afro-americanos e latinos que fumaram pelo menos 5 cigarros/dia em pelo menos 25 dos últimos 30 dias por pelo menos 6 meses e estavam interessados em mudar para cigarros eletrônicos. Os dados foram analisados a partir de 6 semanas de uso de cigarros eletrônicos em uma variedade de sabores (5% de nicotina), juntamente com breve educação, treinamento e planejamento de

ações para mudar completamente para cigarros eletrônicos de cigarros combustíveis. O grupo de controle fumava cigarros inflamáveis como de costume. O desfecho primário foi a redução na concentração urinária de 4-(metilnitrosamino)-1-(3-piridil)-1-butanol (NNAL) na semana 6. Os desfechos secundários foram alteração na cotinina urinária, monóxido de carbono expirado (CO), sintomas respiratórios, função pulmonar, pressão arterial, consumo de cigarros combustíveis nos últimos 7 dias e taxas de troca (somente grupo de cigarro eletrônico) nas semanas 2 e 6⁽¹⁵⁹⁾.

Este estudo incluiu 186 participantes, incluindo 92 participantes afro-americanos e 94 participantes latinos. A média (DP) de idade foi de 43,3 (12,5) anos, sendo 75 (40,3%) mulheres. Os participantes fumaram uma média (DP) de 12,1 (7,2) cigarros/dia em 6,8 (0,6) dias/ semana no início do estudo. Um total de 125 participantes foram randomizados para o grupo de cigarro eletrônico e 61 foram randomizados para o grupo de controle⁽¹⁵⁹⁾.

No início do estudo, a mediana (faixa interquartil) do NNAL foi de 124 (45-197) pg/mL no grupo de cigarro eletrônico e 88 (58-197) pg/mL no grupo de controle. Na semana 6, o grupo do cigarro eletrônico teve reduções significativamente maiores no NNAL (risco relativo [RR], 0,36 [IC 95%, 0,23-0,54]; P < 0,001), CO (RR, 0,53 [IC 95%, 0,42 -0,68]; P < 0,001), sintomas respiratórios (RR, 0,63 [95% CI, 0,47-0,85]; P = 0,002) e número de cigarros fumados nos últimos 7 dias entre os que ainda fumam (RR, 0,30 [IC 95%, 0,20-0,43]; P < 0,001) do que o grupo controle e mantiveram seus níveis de cotinina (RR, 0,80 [IC 95%, 0,58-1,10]; P = 0,17). A função pulmonar e a pressão arterial diastólica e sistólica permaneceram inalteradas e não diferiram entre os grupos. Para os participantes randomizados para receber cigarros eletrônicos, 32 participantes (28,1%) estavam usando exclusivamente cigarros eletrônicos na semana 6, enquanto 66 participantes (57,9%) faziam uso duplo e 16 participantes (14%) retomaram o uso exclusivo de cigarros⁽¹⁵⁹⁾.

Este ensaio clínico randomizado descobriu que o uso de cigarros eletrônicos NSPS para substituir os cigarros levou a uma redução significativa em um carcinógeno pulmonar primário, NNAL, para fumantes afro-americanos e latinos.

Houve também reduções significativas nos cigarros fumados por dia, CO e sintomas respiratórios e nenhum aumento na exposição à nicotina. Além disso, cerca de um quarto dos participantes randomizados para cigarros eletrônicos foram capazes de interromper totalmente o uso de cigarros combustíveis na semana 6. A redução de cigarros e biomarcadores de exposição neste estudo sugere o potencial dos cigarros eletrônicos NSPS como uma estratégia de redução de danos para os membros dos 2 maiores grupos minoritários nos EUA que enfrentam disparidades de saúde significativas⁽¹⁵⁹⁾.

O uso de cigarros eletrônicos está aumentando, apesar de vários relatórios ligando os cigarros eletrônicos a resultados adversos à saúde. Estudos recentes sugeriram que alterações na sinalização lipídica podem ser um mecanismo pelo qual os cigarros eletrônicos contribuem para a função pulmonar. O acetato de vitamina E, por exemplo, é uma forma sintética de vitamina E transportada por meio de lipídios, associada a lesões pulmonares associadas ao cigarro eletrônico. Os lipídios são absolutamente críticos para a fisiologia pulmonar normal e as perturbações em várias vias lipídicas têm sido associadas a doenças respiratórias. É concebível que o uso de cigarro eletrônico, mesmo em coortes aparentemente saudáveis, esteja associado a alterações nas vias lipídicas? ⁽¹⁶⁰⁾.

Para investigar alterações quantitativas no lipídoma plasmáticos associadas ao uso de cigarro eletrônico em pessoas saudáveis, obtivemos amostras de plasma de 119 participantes masculinos e femininos que eram: (1) fumantes crônicos de cigarro (TC) (> 12 meses de uso autorrelatado de CT), (2) usuários crônicos de cigarro eletrônico (CE) (> 12 meses de uso autorrelatado de CE) ou (3) não usuários. Medimos espécies lipídicas quantitativas em diferentes subclasses lipídicas de amostras de plasma usando o Sciex Lipidizador⁽¹⁶⁰⁾.

Descobrimos que homens e mulheres usuários de tabaco e cigarro eletrônico tinham assinaturas lipídicas distintas em várias espécies lipídicas, embora a grande maioria dos lipídios permanecesse inalterada quando comparada a não usuários. Curiosamente, descobrimos que mulheres, mas não homens, usuários de cigarro eletrônico tinham níveis mais baixos de plasmalogênios, glicerofosfolipídios críticos secretados pelos alvéolos e necessários para a

função normal do surfactante. Em resumo, nosso estudo não revela mudanças marcantes associadas ao uso de cigarro eletrônico, mas observamos mudanças específicas do sexo em lipídios conhecidos por serem críticos para a função pulmonar⁽¹⁶⁰⁾.

O presente estudo demonstra que a exposição aguda ao e-cig induz estresse oxidativo nos pulmões sem alterações perceptíveis na estrutura pulmonar ou na resposta inflamatória pulmonar. Um ensaio de proteômica redox elucidou as alterações específicas do local na oxidação de tiol de proteína induzida pela exposição aguda ao e-cig. A análise estatística revelou que os níveis de oxidação de 350 peptídeos contendo cisteína foram significativamente alterados pela exposição ao e-cig, induzindo perturbações no controle de qualidade da proteína, adesão celular, sistema imunológico e homeostase redox. Nosso estudo destaca o importante papel do controle redox na resposta pulmonar à exposição ao e-cig e também demonstra a utilidade da proteômica redox como uma ferramenta para elucidar os mecanismos moleculares subjacentes a essa resposta⁽¹⁶¹⁾.

Estudos recentes sugerem que os aerossóis de e-cig provocam estresse oxidativo; no entanto, os detalhes dos mecanismos moleculares subjacentes permanecem obscuros. Aqui, usamos um ensaio de proteômica redox de oxidação total de tiol para identificar assinaturas de modificações de tiol de proteína específicas do local em pulmões de ratos Sprague-Dawley após exposições *in vivo* a aerossóis de e-cig. A avaliação histológica de pulmões de ratos expostos agudamente a aerossóis de e-cig revelou perturbações leves na estrutura pulmonar. A análise do fluido do lavado broncoalveolar (BAL) não demonstrou alteração significativa na contagem ou no diferencial de células. Por outro lado, a glutatona pulmonar total diminuiu significativamente em ratos expostos ao aerossol de e-cig em comparação com os controles de ar. A proteômica redox quantificou os níveis de oxidação total para 6.682 sítios de cisteína representando 2.865 proteínas. A oxidação do tiol da proteína e as alterações pela exposição ao e-cig induziram perturbações no controle da qualidade da proteína, respostas inflamatórias e homeostase redox. As perturbações do controle de qualidade proteica foram confirmadas com a

semiquantificação da poliubiquitinação pulmonar total e da atividade do proteassoma 20S. Nosso estudo destaca a importância do controle redox na resposta pulmonar à exposição ao e-cig e a utilidade da proteômica redox baseada em tiol como uma ferramenta para elucidar os mecanismos moleculares subjacentes a essa resposta⁽¹⁶¹⁾.

SÍNTESE DA EVIDÊNCIA

1. Qual a toxicidade das substâncias contidas nos refis líquidos e de tabaco aquecido, utilizados nos Dispositivos Eletrônicos para Fumar (DEF)?

A toxicidade nos refis e no tabaco aquecido está presente envolvendo as seguintes substâncias e derivados: solventes, propilenoglicol, glicerol e E-líquidos. Qualidade da evidência: baixa. **INALTERADA**

2. Qual a toxicidade das substâncias emitidas por estes diversos refis?

Entre os aspectos que envolvem a toxicidade pelos aerossóis de DEFs estão: os aldeídos, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs), metais, nitrosaminas específicas do tabaco (TSNAs) e compostos orgânicos voláteis (VOCs)], o pH, o tamanho das partículas, espécies que reagem ao oxigênio (ROS), dano ao DNA e alterações epigenéticas. Além disso, os mesmos componentes dos refis (solventes, nicotina ou aromatizantes) também geram substâncias tóxicas nos aerossóis. Qualidade da evidência: baixa. **INALTERADA**

3. Qual a toxicidade da nicotina, especialmente das novas formas (sais de nicotina), utilizadas nos DEFs?

A toxicidade da nicotina presente nos DEFs depende da concentração de nicotina nas emissões do cigarro eletrônico, e características dos DEFs que permitem alterar a concentração de nicotina disponível no aerossol também afetam a atitude abusiva frente aos cigarros eletrônicos. O sal de nicotina garante a entrega de altas doses de nicotina em uma forma de pH baixo, que é menos agressiva em comparação com a nicotina de pH mais alto encontrada na maioria das outras marcas de cigarros eletrônicos, apoiando

assim uma inalação mais profunda pelos consumidores, e consequente potencialização dos efeitos tóxicos. Qualidade da evidência: baixa.

INALTERADA

4. Qual a toxicidade das substâncias ou plantas ilícitas, que podem ser utilizadas por meio dos DEF?

A principal substância ilícita utilizada é o Tetraidrocanabinol (THC) e o Canabidiol (CBD), associados usualmente aos terpenos e vitamina E, que entre outras ações tóxicas produzem injúria pulmonar. Qualidade da evidência: baixa.

INALTERADA

5. É possível afirmar que o consumo destes produtos é seguro do ponto de vista toxicológico?

Há evidências da presença de toxicidade (in vitro, in vivo, em animais e em humanos) com o uso de DEFs, seja identificando elementos tóxicos em sua composição, ou na emissão do aerossol, como carbonilas, compostos orgânicos voláteis (VOCs), metais, hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (PAHs), nitrosaminas específicas do tabaco (TSNAs), sabores, solventes, e outros. E a presença dessas diversas substâncias, sabidamente tóxicas à saúde, em um conteúdo aspirado ou em seus constituintes, por si só caracterizariam a ausência de segurança desses dispositivos. Qualidade da evidência: baixa. **INALTERADA**

6. Estes produtos, à luz do conhecimento atual, poderiam substituir os produtos de tabaco convencionais, sem oferecer riscos adicionais, do ponto de vista toxicológico, aos usuários de tabaco?

Se os DEFs estivessem restritos aos modelos de primeira geração, a razão benefício/risco provavelmente seria positiva. Mas as inovações e os atrativos dos DEFs de última geração, abertos à customização, também inovaram em riscos toxicológicos que não havia nos cigarros convencionais, tornando a razão benefício/risco negativa; A razão benefício/risco é ainda mais negativa com o uso dos DEFs de última geração devido à dependência que migra dos cigarros convencionais para os cigarros eletrônicos e/ou dispositivos de vaporização, seja pela possibilidade de aumento no uso da nicotina, ou pela presença de sabores que aumentam o prazer, ou pela mesma possibilidade do uso da Cannabis e

outras drogas em suas várias formas de apresentação, que naturalmente aumentam a toxicidade. Qualidade da evidência: baixa. **INALTERADA**

REFERÊNCIAS

- 1 Wang G, Liu W, Song W. Toxicity assessment of electronic cigarettes. *Inhal Toxicol.* 2019 Jun;31(7):259-273. doi: 10.1080/08958378.2019.1671558. Epub 2019 Sep 26. PMID: 31556766.
- 2 Ward AM, Yaman R, Ebbert JO. Electronic nicotine delivery system design and aerosol toxicants: A systematic review. *PLoS One.* 2020 Jun 4;15(6): e0234189. doi: 10.1371/journal.pone.0234189. PMID: 32497139.
- 3 Public Health Consequences of E-Cigarettes. National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine 2018. Washington, DC: The National Academies Press. Disponível em URL: <https://doi.org/10.17226/24952>.
- 4 U.S. Food & Drug Administration (FDA). Disponível em URL: <https://www.fda.gov>.
- 5 Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Disponível em URL: <https://www.cdc.gov>.
- 6 World Health Organization (WHO). Disponível em URL: <https://www.who.int>.
- 7 European Medicine Agency (EMEA). Disponível em URL: <https://www.ema.europa.eu/en>.
- 8 Public Health Agency of Canada (Canada.ca). Disponível em URL: <https://www.canada.ca/en/public-health.html>.
- 9 Australian Government Department of Health. Disponível em URL: <https://www.health.gov.au>.

10 Public Health England. Disponível em URL:
<https://www.gov.uk/government/organisations/public-health-england>.

11 National Health System (NHS) UK. Disponível em URL: <https://www.nhs.uk>.

12 AMSTAR tool. Disponível em URL: <https://amstar.ca/Amstar-2.php>.

13 Risk of bias tools. Disponível em URL: <https://www.riskofbias.info>.

14 Joanna Briggs critical appraisal tools. Disponível em URL:
<https://joannabriggs.org/critical-appraisal-tools>.

15 GRADEpro GDT: GRADEpro Guideline Development Tool [Software]. McMaster University, 2020 (developed by Evidence Prime, Inc.). Available from gradepro.org.

16 Gray N, Halstead M, Valentin-Blasini L, Watson C, Pappas RS. Toxic Metals in Liquid and Aerosol from Pod-Type Electronic Cigarettes. *J Anal Toxicol*. 2022 Feb 14;46(1):69-75. doi: 10.1093/jat/bkaa185. PMID: 33270129; PMCID: PMC9531718.

17 Ruggiero JL, Voller LM, Shaik JA, Hylwa S. Formaldehyde in Electronic Cigarette Liquid (Aerosolized Liquid). *Dermatitis*. 2022 Sep-Oct 01;33(5):332-336. doi: 10.1097/DER.0000000000000771. Epub 2022 Jun 11. PMID: 34115663.

18 Barhdadi S, Mertens B, Van Bossuyt M, Van De Maele J, Anthonissen R, Canfyn M, et al. Identification of flavouring substances of genotoxic concern present in e-cigarette refills. *Food Chem Toxicol*. 2021 Jan;147:111864. doi: 10.1016/j.fct.2020.111864. Epub 2020 Nov 18. PMID: 33217530.

19 Wei B, O'Connor RJ, Goniewicz ML, Hyland A. Emerging Chemicals of Health Concern in Electronic Nicotine Delivery Systems. *Chem Res Toxicol*. 2020 Oct

19;33(10):2637-2646. doi: 10.1021/acs.chemrestox.0c00281. Epub 2020 Sep 17. PMID: 32880169; PMCID: PMC7582622.

20 Traboulsi H, Cherian M, Abou Rjeili M, Preterti M, Bourbeau J, Smith BM, et al. Inhalation Toxicology of Vaping Products and Implications for Pulmonary Health. *Int J Mol Sci.* 2020 May 15;21(10):3495. doi: 10.3390/ijms21103495. PMID: 32429092.

21 E-cigarette use among youth and young adults: a report of the Surgeon General. United States. Public Health Service. Office of the Surgeon General, issuing body. | National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion (U.S.). Office on Smoking and Health, issuing body. Description: Atlanta, GA: U.S. Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention, National Center for Chronic Disease Prevention and Health Promotion, Office on Smoking and Health, 2016. | Includes bibliographical references.

22 Talih S, Salman R, Soule E, El-Hage R, Karam E, Karaoghlanian N, et al. Electrical features, liquid composition and toxicant emissions from 'pod-mod'-like disposable electronic cigarettes. *Tob Control.* 2022 Sep;31(5):667-670. doi: 10.1136/tobaccocontrol-2020-056362. Epub 2021 May 12. PMID: 33980722; PMCID: PMC8586044.

23 Kovach AL, Carter RR, Thornburg JW, Wiethe R, Fennell TR, Wiley JL. Thermal Degradants Identified from the Vaping of Vitamin E Acetate. *J Anal Toxicol.* 2022 Aug 13;46(7):750-756. doi: 10.1093/jat/bkab109. PMID: 34666345; PMCID: PMC9375236.

24 Orzabal MR, Naik VD, Lee J, Hillhouse AE, Brashear WA, Threadgill DW, et al. Impact of E-cig aerosol vaping on fetal and neonatal respiratory development and function. *Transl Res.* 2022 Aug; 246:102-114. doi: 10.1016/j.trsl.2022.03.009. Epub 2022 Mar 26. PMID: 35351623; PMCID: PMC9197928.

25 Getiye Y, Peterson MR, Phillips BD, Carrillo D, Bisha B, He G. E-cigarette exposure with or without heating the e-liquid induces differential remodeling in the lungs and right heart of mice. *J Mol Cell Cardiol.* 2022 Jul; 168:83-95. doi: 10.1016/j.jmcc.2022.04.014. Epub 2022 Apr 27. PMID: 35489388.

26 Rao P, Han DD, Tan K, Mohammadi L, Derakhshandeh R, Navabzadeh M, et al. Comparable Impairment of Vascular Endothelial Function by a Wide Range of Electronic Nicotine Delivery Devices. *Nicotine Tob Res.* 2022 Jun 15;24(7):1055-1062. doi: 10.1093/ntr/ntac019. PMID: 35100430; PMCID: PMC9199952.

27 Been T, Traboulsi H, Paoli S, Alakhtar B, Mann KK, Eidelman DH, et al. Differential impact of JUUL flavors on pulmonary immune modulation and oxidative stress responses in male and female mice. *Arch Toxicol.* 2022 Jun;96(6):1783-1798. doi: 10.1007/s00204-022-03269-3. Epub 2022 Mar 7. PMID: 35254488.

28 van Bavel N, Lai P, Loebenberg R, Prenner EJ. Vaping additives negatively impact the stability and lateral film organization of lung surfactant model systems. *Nanomedicine (Lond).* 2022 May;17(12):827-843. doi: 10.2217/nnm-2021-0398. Epub 2022 Apr 19. PMID: 35437998.

29 Moshensky A, Brand CS, Alhaddad H, Shin J, Masso-Silva JA, Advani I, et al. Effects of mango and mint pod-based e-cigarette aerosol inhalation on inflammatory states of the brain, lung, heart, and colon in mice. *eLife.* 2022 Apr 12;11:e67621. doi: 10.7554/eLife.67621. PMID: 35411847; PMCID: PMC9005188.

30 Chen T, Wu M, Dong Y, Kong B, Cai Y, Hei C, et al. Effect of e-cigarette refill liquid on follicular development and estrogen secretion in rats. *Tob Induc Dis.* 2022 Apr 8;20:36. doi: 10.18332/tid/146958. PMID: 35529323; PMCID: PMC8988604.

31 Rayner RE, Makena P, Liu G, Prasad GL, Cormet-Boyaka E. Differential gene expression of 3D primary human airway cultures exposed to cigarette smoke and

electronic nicotine delivery system (ENDS) preparations. *BMC Med Genomics.* 2022 Apr 3;15(1):76. doi: 10.1186/s12920-022-01215-x. PMID: 35369880; PMCID: PMC8978419.

32 Cahill KM, Gartia MR, Sahu S, Bergeron SR, Heffernan LM, Paulsen DB, et al. In utero exposure to electronic-cigarette aerosols decreases lung fibrillar collagen content, increases Newtonian resistance and induces sex-specific molecular signatures in neonatal mice. *Toxicol Res.* 2021 Sep;38(2):205-224. doi: 10.1007/s43188-021-00103-3. PMID: 35415078; PMCID: PMC8960495.

33 El-Mahdy MA, Ewees MG, Eid MS, Mahgoub EM, Khaleel SA, Zweier JL. Electronic cigarette exposure causes vascular endothelial dysfunction due to NADPH oxidase activation and eNOS uncoupling. *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* 2022 Apr 1;322(4):H549-H567. doi: 10.1152/ajpheart.00460.2021. Epub 2022 Jan 28. PMID: 35089811; PMCID: PMC8917923.

34 Narimani M, Adams J, da Silva G. Toxic Chemical Formation during Vaping of Ethyl Ester Flavor Additives: A Chemical Kinetic Modeling Study. *Chem Res Toxicol.* 2022 Mar 21;35(3):522-528. doi: 10.1021/acs.chemrestox.1c00437. Epub 2022 Mar 8. PMID: 35258279.

35 Flores RJ, Alshbool FZ, Giner P, O'Dell LE, Mendez IA. Exposure to Nicotine Vapor Produced by an Electronic Nicotine Delivery System Causes Short-Term Increases in Impulsive Choice in Adult Male Rats. *Nicotine Tob Res.* 2022 Feb 14;24(3):358-365. doi: 10.1093/ntr/ntab141. PMID: 34232312; PMCID: PMC8842403.

36 Platel A, Dusautoir R, Kervoaze G, Dourdin G, Gateau E, Talahari S, et al. Comparison of the in vivo genotoxicity of electronic and conventional cigarettes aerosols after subacute, subchronic and chronic exposures. *J Hazard Mater.* 2022 Feb 5;423(Pt B):127246. doi: 10.1016/j.jhazmat.2021.127246. Epub 2021 Sep 20. PMID: 34844363.

37 Chen JY, Canchola A, Lin YH. Carbonyl Composition and Electrophilicity in Vaping Emissions of Flavored and Unflavored E-Liquids. *Toxics*. 2021 Dec 9;9(12):345. doi: 10.3390/toxics9120345. PMID: 34941780; PMCID: PMC8705255.

38 Abaricia JO, Whitehead AJ, Kandalam S, Shah AH, Hotchkiss KM, Morandini L, et al. E-cigarette Aerosol Mixtures Inhibit Biomaterial-Induced Osseointegrative Cell Phenotypes. *Materialia (Oxf)*. 2021 Dec;20:101241. doi: 10.1016/j.mtla.2021.101241. Epub 2021 Oct 8. PMID: 34778733; PMCID: PMC8589285.

39 Chen H, Li G, Chan YL, Zhang HE, Gorrell MD, Pollock CA, et al. Differential Effects of 'Vaping' on Lipid and Glucose Profiles and Liver Metabolic Markers in Obese Versus Non-obese Mice. *Front Physiol*. 2021 Nov 4;12:755124. doi: 10.3389/fphys.2021.755124. PMID: 34803738; PMCID: PMC8599937.

40 Al-Sawalha NA, Bdeir R, Sohaib A, Saad M, Inghaimesh T, Khabour OF, et al. Effect of E-cigarettes aerosol exposure during lactation in rats: Hormonal and biochemical aspects. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2021 Nov;88:103759. doi: 10.1016/j.etap.2021.103759. Epub 2021 Oct 23. PMID: 34695539; PMCID: PMC8957699.

41 Re DB, Hilpert M, Saglimbeni B, Strait M, Ilievski V, Coady M, et al. Exposure to e-cigarette aerosol over two month induces accumulation of neurotoxic metals and alteration of essential metals in mouse brain. *Environ Res*. 2021 Nov; 202:111557. doi: 10.1016/j.envres.2021.111557. Epub 2021 Jul 8. PMID: 34245728; PMCID: PMC8578258.

42 Jaleel Z, Blasberg E, Troiano C, Montanaro P, Mazzilli S, Gertje HP, et al. Association of vaping with decreased vascular endothelial growth factor expression and decreased microvessel density in cutaneous wound healing tissue in rats. *Wound Repair Regen*. 2021 Nov;29(6):1024-1034. doi: 10.1111/wrr.12945. Epub 2021 Jun 15. PMID: 34129265.

43 Lallai V, Chen YC, Roybal MM, Kotha ER, Fowler JP, Staben A, et al. Nicotine e-cigarette vapor inhalation and self-administration in a rodent model: Sex- and nicotine delivery-specific effects on metabolism and behavior. *Addict Biol.* 2021 Nov;26(6):e13024. doi: 10.1111/adb.13024. Epub 2021 Feb 23. PMID: 33624410; PMCID: PMC8380743.

44 Wang F, Hadzic S, Roxlau ET, Fuehler B, Janise-Libawski A, Wimmer T, et al. Retinal tissue develops an inflammatory reaction to tobacco smoke and electronic cigarette vapor in mice. *J Mol Med (Berl).* 2021 Oct;99(10):1459-1469. doi: 10.1007/s00109-021-02108-9. Epub 2021 Jul 15. PMID: 34264377; PMCID: PMC8455497.

45 Kennedy P, Saloky K, Yadavalli A, Barlow E, Aynardi M, Garner M, et al. Nicotine Exposure Via Electronic Cigarettes Significantly Impedes Biomechanical Healing Properties of Tendon Healing in a Rat Model. *Arthroscopy.* 2021 Oct;37(10):3170-3176. doi: 10.1016/j.arthro.2021.03.071. Epub 2021 Apr 30. PMID: 33940121.

46 Yugeswaran S, Muthumalage T, Rahman I. Comparative Reactive Oxygen Species (ROS) Content among Various Flavored Disposable Vape Bars, including Cool (Iced) Flavored Bars. *Toxics.* 2021 Sep 25;9(10):235. doi: 10.3390/toxics9100235. PMID: 34678931; PMCID: PMC8538728.

47 McAdam K, Waters G, Moldoveanu S, Margham J, Cunningham A, Vas C, et al. Diacetyl and Other Ketones in e-Cigarette Aerosols: Some Important Sources and Contributing Factors. *Front Chem.* 2021 Sep 23; 9:742538. doi: 10.3389/fchem.2021.742538. PMID: 34631664; PMCID: PMC8495241.

48 Zhu M, Echeveste Sanchez M, Douglass EA, Jahad JV, Hanback TD, Guhr Lee TN, et al. Electronic Nicotine Vapor Exposure Produces Differential Changes in Central Amygdala Neuronal Activity, Thermoregulation and Locomotor Behavior in Male Mice. *eNeuro.* 2021 Aug 11;8(4):ENEURO.0189-21.2021. doi: 10.1523/ENEURO.0189-21.2021. PMID: 34321216; PMCID: PMC8362686.

49 Suryadinata RV, Wirjatmadi B. The Molecular Pathways of Lung Damage by E-Cigarettes in Male Wistar Rats. Sultan Qaboos Univ Med J. 2021 Aug;21(3):436-441. doi: 10.18295/squmj.4.2021.003. Epub 2021 Aug 29. PMID: 34522410; PMCID: PMC8407909.

50 Han H, Peng G, Meister M, Yao H, Yang JJ, Zou MH, et al. Electronic Cigarette Exposure Enhances Lung Inflammatory and Fibrotic Responses in COPD Mice. Front Pharmacol. 2021 Jul 28; 12:726586. doi: 10.3389/fphar.2021.726586. PMID: 34393802; PMCID: PMC8355703.

51 Moshensky A, Du M, Shin J, Advani I, Gunge D, Mathew D, et al. Vaping-induced metabolomic signatures in the circulation of mice are driven by device type, e-liquid, exposure duration and sex. ERJ Open Res. 2021 Jul 12;7(3):00229-2021. doi: 10.1183/23120541.00229-2021. PMID: 34262972; PMCID: PMC8273396.

52 Hayeck N, Zoghzoghi C, Karam E, Salman R, Karaoghanian N, Shihadeh A, et al. Carrier Solvents of Electronic Nicotine Delivery Systems Alter Pulmonary Surfactant. Chem Res Toxicol. 2021 Jun 21;34(6):1572-1577. doi: 10.1021/acs.chemrestox.0c00528. Epub 2021 May 4. PMID: 33945261; PMCID: PMC8220501.

53 Alzoubi KH, Batran RM, Al-Sawalha NA, Khabour OF, Karaoghanian N, Shihadeh A, et al. The effect of electronic cigarettes exposure on learning and memory functions: behavioral and molecular analysis. Inhal Toxicol. 2021 May-Jul;33(6-8):234-243. doi: 10.1080/08958378.2021.1954732. Epub 2021 Jul 27. PMID: 34311661; PMCID: PMC9270881.

54 Sun YW, Chen KM, Atkins H, Aliaga C, Gordon T, Guttenplan JB, et al. Effects of E-Cigarette Aerosols with Varying Levels of Nicotine on Biomarkers of Oxidative Stress and Inflammation in Mice. Chem Res Toxicol. 2021 Apr 19;34(4):1161-1168. doi: 10.1021/acs.chemrestox.1c00033. Epub 2021 Mar 24. PMID: 33761748.

55 Jaegers NR, Hu W, Weber TJ, Hu JZ. Low-temperature (< 200 °C) degradation of electronic nicotine delivery system liquids generates toxic aldehydes. *Sci Rep.* 2021 Apr 8;11(1):7800. doi: 10.1038/s41598-021-87044-x. PMID: 33833273; PMCID: PMC8032854.

56 Chang X, Abedini J, Bell S, Lee KM. Exploring in vitro to in vivo extrapolation for exposure and health impacts of e-cigarette flavor mixtures. *Toxicol In Vitro.* 2021 Apr; 72:105090. doi: 10.1016/j.tiv.2021.105090. Epub 2021 Jan 10. PMID: 33440189.

57 Sharma A, Lee J, Fonseca AG, Moshensky A, Kothari T, Sayed IM, et al. E-cigarettes compromise the gut barrier and trigger inflammation. *iScience.* 2021 Jan 6;24(2):102035. doi: 10.1016/j.isci.2021.102035. PMID: 33537654; PMCID: PMC7841355.

58 Li J, Huynh L, Cornwell WD, Tang MS, Simborio H, Huang J, et al. Electronic Cigarettes Induce Mitochondrial DNA Damage and Trigger TLR9 (Toll-Like Receptor 9)-Mediated Atherosclerosis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2021 Feb;41(2):839-853. doi: 10.1161/ATVBAHA.120.315556. Epub 2020 Dec 31. PMID: 33380174; PMCID: PMC8608030.

59 Alasmari F, Crotty Alexander LE, Hammad AM, Horton A, Alhaddad H, Schiefer IT, et al. E-cigarette aerosols containing nicotine modulate nicotinic acetylcholine receptors and astroglial glutamate transporters in mesocorticolimbic brain regions of chronically exposed mice. *Chem Biol Interact.* 2021 Jan 5;333:109308. doi: 10.1016/j.cbi.2020.109308. Epub 2020 Nov 23. PMID: 33242460; PMCID: PMC7752837.

60 Ma T, Wang X, Li L, Sun B, Zhu Y, Xia T. Electronic cigarette aerosols induce oxidative stress-dependent cell death and NF-κB mediated acute lung inflammation in mice. *Arch Toxicol.* 2021 Jan;95(1):195-205. Doi: 10.1007/s00204-020-02920-1. Epub 2020 Nov 7. PMID: 33159582; PMCID: PMC7855759.

61 Zeng Z, Chen W, Moshensky A, Shakir Z, Khan R, Crotty Alexander LE, et al. Cigarette Smoke and Nicotine-Containing Electronic-Cigarette Vapor Downregulate Lung WWOX Expression, Which Is Associated with Increased Severity of Murine Acute Respiratory Distress Syndrome. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2021 Jan;64(1):89-99. doi: 10.1165/rcmb.2020-0145OC. PMID: 33058734; PMCID: PMC7780991.

62 Williams M, Ventura J, Loza A, Wang Y, Talbot P. Chemical Elements in Electronic Cigarette Solvents and Aerosols Inhibit Mitochondrial Reductases and Induce Oxidative Stress. *Nicotine Tob Res.* 2020 Dec 15;22(Suppl 1):S14-S24. doi: 10.1093/ntr/ntaa193. PMID: 33320250; PMCID: PMC7737483.

63 Bozhilova S, Baxter A, Bishop E, Breheny D, Thorne D, Hodges P, et al. Optimization of aqueous aerosol extract (AqE) generation from e-cigarettes and tobacco heating products for in vitro cytotoxicity testing. *Toxicol Lett.* 2020 Dec 15;335:51-63. doi: 10.1016/j.toxlet.2020.10.005. Epub 2020 Oct 19. PMID: 33091563.

64 Wang Q, Sundar IK, Blum JL, Ratner JR, Lucas JH, Chuang TD, et al. Prenatal Exposure to Electronic-Cigarette Aerosols Leads to Sex-Dependent Pulmonary Extracellular-Matrix Remodeling and Myogenesis in Offspring Mice. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2020 Dec;63(6):794-805. doi: 10.1165/rcmb.2020-0036OC. PMID: 32853043; PMCID: PMC7790147.

65 Taha HR, Al-Sawalha NA, Alzoubi KH, Khabour OF. Effect of E-Cigarette aerosol exposure on airway inflammation in a murine model of asthma. *Inhal Toxicol.* 2020 Nov-Dec;32(13-14):503-511. doi: 10.1080/08958378.2020.1856238. Epub 2020 Dec 9. PMID: 33297792.

66 Pinkston R, Zaman H, Hossain E, Penn AL, Noël A. Cell-specific toxicity of short-term JUUL aerosol exposure to human bronchial epithelial cells and murine macrophages exposed at the air-liquid interface. *Respir Res.* 2020 Oct 17;21(1):269. doi: 10.1186/s12931-020-01539-1. PMID: 33069224; PMCID: PMC7568376.

67 Talih S, Salman R, El-Hage R, Karaoghanian N, El-Hellani A, Saliba N, et al. Effect of free-base and protonated nicotine on nicotine yield from electronic cigarettes with varying power and liquid vehicle. *Sci Rep.* 2020 Oct 1;10(1):16263. doi: 10.1038/s41598-020-73385-6. PMID: 33004992; PMCID: PMC7530983.

68 Hasan KM, Friedman TC, Parveen M, Espinoza-Derout J, Bautista F, Razipour et al. Electronic cigarettes cause alteration in cardiac structure and function in diet-induced obese mice. *PLoS One.* 2020 Oct 1;15(10):e0239671. doi: 10.1371/journal.pone.0239671. PMID: 33002059; PMCID: PMC7529198.

69 Lechasseur A, Huppé CA, Talbot M, Routhier J, Aubin S, Beaulieu MJ, et al. Exposure to nicotine-free and flavor-free e-cigarette vapors modifies the pulmonary response to tobacco cigarette smoke in female mice. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2020 Oct 1;319(4):L717-L727. doi: 10.1152/ajplung.00037.2020. Epub 2020 Aug 26. PMID: 32845704.

70 El-Hage R, El-Hellani A, Salman R, Talih S, Shihadeh A, Saliba NA. Vaped Humectants in E-Cigarettes Are a Source of Phenols. *Chem Res Toxicol.* 2020 Sep 21;33(9):2374-2380. doi: 10.1021/acs.chemrestox.0c00132. Epub 2020 Aug 13. PMID: 32786548; PMCID: PMC9355288.

71 Zelinkova Z, Wenzl T. Influence of battery power setting on carbonyl emissions from electronic cigarettes. *Tob Induc Dis.* 2020 Sep 14;18:77. doi: 10.18332/tid/126406. PMID: 33013273; PMCID: PMC7528267.

72 Narimani M, da Silva G. Does 'Dry Hit' vaping of vitamin E acetate contribute to EVALI? Simulating toxic ketene formation during e-cigarette use. *PLoS One.* 2020 Sep 3;15(9):e0238140. doi: 10.1371/journal.pone.0238140. PMID: 32881943; PMCID: PMC7470376.

73 Li G, Chan YL, Wang B, Saad S, Oliver BG, Chen H. Replacing smoking with vaping during pregnancy: Impacts on metabolic health in mice. *Reprod Toxicol.*

2020 Sep;96:293-299. doi: 10.1016/j.reprotox.2020.07.012. Epub 2020 Aug 1. PMID: 32750443.

74 Li G, Chan YL, Wang B, Saad S, George J, Oliver BG, Chen H. E-cigarettes damage the liver and alter nutrient metabolism in pregnant mice and their offspring. *Ann N Y Acad Sci.* 2020 Sep;1475(1):64-77. doi: 10.1111/nyas.14411. Epub 2020 Jun 17. PMID: 32557680.

75 Szafran BN, Pinkston R, Perveen Z, Ross MK, Morgan T, Paulsen DB, et al. Electronic-Cigarette Vehicles and Flavoring Affect Lung Function and Immune Responses in a Murine Model. *Int J Mol Sci.* 2020 Aug 21;21(17):6022. doi: 10.3390/ijms21176022. PMID: 32825651; PMCID: PMC7504509.

76 Kankanamage RNT, Ghosh AB, Jiang D, Gkika K, Keyes T, Achola LA, et al. Metabolites of Tobacco- and E-Cigarette-Related Nitrosamines Can Drive Cu²⁺-Mediated DNA Oxidation. *Chem Res Toxicol.* 2020 Aug 17;33(8):2072-2086. doi: 10.1021/acs.chemrestox.0c00027. Epub 2020 Aug 4. PMID: 32672941; PMCID: PMC7510339.

77 Wieczorek R, Phillips G, Czekala L, Trelles Sticken E, O'Connell G, Simms L, et al. A comparative in vitro toxicity assessment of electronic vaping product e-liquids and aerosols with tobacco cigarette smoke. *Toxicol In Vitro.* 2020 Aug;66:104866. doi: 10.1016/j.tiv.2020.104866. Epub 2020 Apr 27. PMID: 32353510.

78 Heldt NA, Seliga A, Winfield M, Gajghate S, Reichenbach N, Yu X, et al. Electronic cigarette exposure disrupts blood-brain barrier integrity and promotes neuroinflammation. *Brain Behav Immun.* 2020 Aug;88:363-380. doi: 10.1016/j.bbi.2020.03.034. Epub 2020 Mar 31. PMID: 32243899; PMCID: PMC7899242.

80 Song SY, Na HG, Kwak SY, Choi YS, Bae CH, Kim YD. Changes in Mucin Production in Human Airway Epithelial Cells After Exposure to Electronic Cigarette Vapor With or Without Nicotine. *Clin Exp Otorhinolaryngol.* 2021

Aug;14(3):303-311. doi: 10.21053/ceo.2020.01907. Epub 2020 Dec 18. PMID: 33355840; PMCID: PMC8373839.

81 19. Chadi N, Schroeder R, Jensen JW, Levy S. Association Between Electronic Cigarette Use and Marijuana Use Among Adolescents and Young Adults: A Systematic Review and Meta-analysis. *JAMA Pediatr.* 2019 Aug 12;173(10): e192574. doi: 10.1001/jamapediatrics.2019.2574. Epub ahead of print. PMID: 31403684.

82 20. Adapa S, Gayam V, Konala VM, Annangi S, Raju MP, Bezwada V, et al. Cannabis Vaping-Induced Acute Pulmonary Toxicity: Case Series and Review of Literature. *J Investig Med High Impact Case Rep.* 2020 Jan-Dec;8:2324709620947267. doi: 10.1177/2324709620947267. PMID: 32755249.

83 (78) Hussain S, Breit KR, Thomas JD. Os efeitos da exposição pré-natal à nicotina e THC E-cigarro no desenvolvimento motor em ratos. *Psicofarmacologia (Berl).* 2022 maio;239(5):1579-1591. Doi: 10.1007/s00213-022-06095-8. Epub 2022, 26 de março. PMID: 35338387.

84 (79) Breit KR, Rodriguez CG, Hussain S, Thomas KJ, Zeigler M, Gerasimidis I, et al. Um Modelo de Exposição Combinada à Nicotina e Tetraidrocannabinol < i >via</ i > Cigarros Eletrônicos em Ratas Grávidas. *Front Neurosci.* 16 de março de 2022 ;16:866722 . doi: 10.3389/fnins.2022.866722. PMID: 35368251; PMCID: PMC8966542.

85 (80) Lynch J, Lorenz L, Brueggemeyer JL, Lanzarotta A, Falconer TM, Wilson RA. Simultaneous Temperature Measurements and Aerosol Collection During Vaping for the Analysis of Δ^{9} -Tetrahydrocannabinol and Vitamin E Acetate Mixtures in Ceramic Coil Style Cartridges. *Front Chem.* 2021 Aug 9;9:734793. doi: 10.3389/fchem.2021.734793. PMID: 34434923; PMCID: PMC8381023.

86 Sinha I, Goel R, Bitzer ZT, Trushin N, Liao J, Sinha R. Evaluating electronic cigarette cytotoxicity and inflammatory responses in vitro. *Tob Induc Dis.* 2022

May 10; 20:45. doi: 10.18332/tid/147200. PMID: 35611070; PMCID: PMC9081552.

87 Liu Z, Zhang Y, Youn JY, Zhang Y, Makino A, Yuan JX, et al. Flavored and Nicotine-Containing E-Cigarettes Induce Impaired Angiogenesis and Diabetic Wound Healing via Increased Endothelial Oxidative Stress and Reduced NO Bioavailability. *Antioxidants (Basel)*. 2022 May 5;11(5):904. doi: 10.3390/antiox11050904. PMID: 35624768; PMCID: PMC9137638.

88 Caruso M, Distefano A, Emma R, Zuccarello P, Copat C, Ferrante M, et al. In vitro cytotoxicity profile of e-cigarette liquid samples on primary human bronchial epithelial cells. *Drug Test Anal*. 2022 Apr 17. doi: 10.1002/dta.3275. Epub ahead of print. PMID: 35434934.

89 Podguski S, Kaur G, Muthumalage T, McGraw MD, Rahman I. Noninvasive systemic biomarkers of e-cigarette or vaping use-associated lung injury: a pilot study. *ERJ Open Res*. 2022 Apr 4;8(2):00639-2021. doi: 10.1183/23120541.00639-2021. PMID: 35386827; PMCID: PMC8977595.

90 Wall A, Roslin S, Borg B, McDermott S, Walele T, Nahde T, et al. E-Cigarette Aerosol Deposition and Disposition of [¹¹C]Nicotine Using Positron Emission Tomography: A Comparison of Nicotine Uptake in Lungs and Brain Using Two Different Nicotine Formulations. *Pharmaceuticals (Basel)*. 2022 Mar 17;15(3):367. doi: 10.3390/ph15030367. PMID: 35337164; PMCID: PMC8950566.

91 Yogeswaran S, Rahman I. Differences in Acellular Reactive Oxygen Species (ROS) Generation by E-Cigarettes Containing Synthetic Nicotine and Tobacco-Derived Nicotine. *Toxics*. 2022 Mar 11;10(3):134. doi: 10.3390/toxics10030134. PMID: 35324759; PMCID: PMC8951519.

92 Rayner RE, Wellmerling J, Makena P, Zhao J, Prasad GL, Cormet-Boyaka. Transcriptomic Response of Primary Human Bronchial Cells to Repeated Exposures of Cigarette and ENDS Preparations. *Cell Biochem Biophys*. 2022

Mar;80(1):217-228. doi: 10.1007/s12013-021-01042-4. Epub 2021 Nov 12. PMID: 34767151.

93 Martinez JD, Easwaran M, Ramirez D, Erickson-DiRenzo E. Effects of Electronic (E)-cigarette Vapor and Cigarette Smoke in Cultured Vocal Fold Fibroblasts. *Laryngoscope*. 2022 Feb 25. doi: 10.1002/lary.30073. Epub ahead of print. PMID: 35213064.

94 Davis ES, Ghosh A, Coakley RD, Wrennall JA, Lubamba BA, Rowell TR, et al. Chronic E-Cigarette Exposure Alters Human Alveolar Macrophage Morphology and Gene Expression. *Nicotine Tob Res*. 2022 Feb 14;24(3):395-399. doi: 10.1093/ntr/ntab186. PMID: 34519792; PMCID: PMC8842413.

95 LeBouf RF, Ranpara A, Ham J, Aldridge M, Fernandez E, Williams K, et al. Chemical Emissions From Heated Vitamin E Acetate-Insights to Respiratory Risks From Electronic Cigarette Liquid Oil Diluents Used in the Aerosolization of Δ^9 -THC-Containing Products. *Front Public Health*. 2022 Jan 21;9:765168. Doi: 10.3389/fpubh.2021.765168. PMID: 35127617; PMCID: PMC8814346.

96 Su L, Zhao M, Ma F, An Z, Yue Q, Zhao C, et al. A comparative assessment of e-cigarette aerosol extracts and tobacco cigarette smoke extracts on *<in vitro>* endothelial cell inflammation response. *Hum Exp Toxicol*. 2022 Jan-Dec;41:9603271221088996. doi: 10.1177/09603271221088996. PMID: 35382644.

97 Caruso M, Emma R, Distefano A, Rust S, Poulas K, Zadjali F, et al. Electronic nicotine delivery systems exhibit reduced bronchial epithelial cells toxicity compared to cigarette: the Replica Project. *Sci Rep*. 2021 Dec 17;11(1):24182. doi: 10.1038/s41598-021-03310-y. PMID: 34921164; PMCID: PMC8683499.

98 Le HHT, Liu CW, Denaro P 3rd, Jousma J, Shao NY, Rahman I, et al. Genome- wide differential expression profiling of lncRNAs and mRNAs in human induced pluripotent stem cell-derived endothelial cells exposed to e-cigarette

extract. *Stem Cell Res Ther.* 2021 Dec 4;12(1):593. doi: 10.1186/s13287-021-02654-6. PMID: 34863290; PMCID: PMC8643021.

99 Khachatoorian C, Luo W, McWhirter KJ, Pankow JF, Talbot P. E-cigarette fluids and aerosol residues cause oxidative stress and an inflammatory response in human keratinocytes and 3D skin models. *Toxicol In Vitro.* 2021 Dec; 77:105234. Doi: 10.1016/j.tiv.2021.105234. Epub 2021 Aug 17. PMID: 34416289; PMCID: PMC8627378.

100 Goenka S, Simon SR. Effects of E-Cigarette Refill Liquid Flavorings with and without Nicotine on Human Retinal Pigment Epithelial Cells: A Preliminary Study. *Int J Environ Res Public Health.* 2021 Nov 6;18(21):11655. doi: 10.3390/ijerph182111655. PMID: 34770169; PMCID: PMC8582700.

101 Walayat A, Li Y, Zhang Y, Fu Y, Liu B, Shao XM, et al. Fetal e-cigarette exposure programs a neonatal brain hypoxic-ischemic sensitive phenotype via altering DNA methylation patterns and autophagy signaling pathway. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2021 Nov 1;321(5): R791-R801. doi: 10.1152/ajpregu.00207.2021. Epub 2021 Sep 15. PMID: 34524928; PMCID: PMC8616627.

102 Morris AM, Leonard SS, Fowles JR, Boots TE, Mnatsakanova A, Attfield KR. Effects of E-Cigarette Flavoring Chemicals on Human Macrophages and Bronchial Epithelial Cells. *Int J Environ Res Public Health.* 2021 Oct 22;18(21):11107. doi: 10.3390/ijerph182111107. PMID: 34769627; PMCID: PMC8583527.

103 Wang L, Wang Y, Chen J, Yang XM, Jiang XT, Liu P, et al. Comparison of biological and transcriptomic effects of conventional cigarette and electronic cigarette smoke exposure at toxicological dose in BEAS-2B cells. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2021 Oct 1;222:112472. doi: 10.1016/j.ecoenv.2021.112472. Epub 2021 Jul 3. PMID: 34229167.

104 Park HR, Vallarino J, O'Sullivan M, Wirth C, Panganiban RA, Webb G, et al. Electronic cigarette smoke reduces ribosomal protein gene expression to impair protein synthesis in primary human airway epithelial cells. *Sci Rep.* 2021 Sep 1;11(1):17517. doi: 10.1038/s41598-021-97013-z. PMID: 34471210; PMCID: PMC8410828.

105 Tsai JC, Saad OA, Magesh S, Xu J, Lee AC, Li WT, et al. Tobacco Smoke and Electronic Cigarette Vapor Alter Enhancer RNA Expression That Can Regulate the Pathogenesis of Lung Squamous Cell Carcinoma. *Cancers (Basel).* 2021 Aug 23;13(16):4225. doi: 10.3390/cancers13164225. PMID: 34439379; PMCID: PMC8391195.

106 Zhang R, Jones MM, Parker D, Dornseife RE, Wymer N, Onyenwoke RU, et al. Acute vaping exacerbates microbial pneumonia due to calcium (Ca²⁺) dysregulation. *PLoS One.* 2021 Aug 12;16(8): e0256166. doi: 10.1371/journal.pone.0256166. PMID: 34383849; PMCID: PMC8360547.

107 Landmesser A, Scherer M, Scherer G, Sarkar M, Edmiston JS, Niessner R, et al. Assessment of the potential vaping-related exposure to carbonyls and epoxides using stable isotope-labeled precursors in the e-liquid. *Arch Toxicol.* 2021 Aug;95(8):2667-2676. doi: 10.1007/s00204-021-03097-x. Epub 2021 Jun 22. PMID: 34159432; PMCID: PMC8298337.

108 White AV, Wambui DW, Pokhrel LR. Risk assessment of inhaled diacetyl from electronic cigarette use among teens and adults. *Sci Total Environ.* 2021 Jun 10;772:145486. doi: 10.1016/j.scitotenv.2021.145486. Epub 2021 Jan 30. PMID: 33770882.

109 Williams MA, Reddy G, Quinn MJ, Millikan Bell A. Toxicological assessment of electronic cigarette vaping: an emerging threat to force health, readiness and resilience in the U.S. Army. *Drug Chem Toxicol.* 2022 Sep;45(5):2049-2085. doi: 10.1080/01480545.2021.1905657. Epub 2021 Apr 27. PMID: 33906535.

110 Hamad SH, Brinkman MC, Tsai YH, Mellouk N, Cross K, Jaspers I, et al. Pilot Study to Detect Genes Involved in DNA Damage and Cancer in Humans: Potential Biomarkers of Exposure to E-Cigarette Aerosols. *Genes (Basel)*. 2021 Mar 22;12(3):448. Doi: 10.3390/genes12030448. PMID: 33809907; PMCID: PMC8004185.

111 Rickard BP, Ho H, Tiley JB, Jaspers I, Brouwer KLR. E-Cigarette Flavoring Chemicals Induce Cytotoxicity in HepG2 Cells. *ACS Omega*. 2021 Mar 2;6(10):6708-6713. Doi: 10.1021/acsomega.0c05639. PMID: 33748584; PMCID: PMC7970492.

112 Kim T, Kim Y, Kang J. Association of electronic cigarette exposure with serum uric acid level and hyperuricemia: 2016-2017 Korea National Health and Nutritional Examination Survey. *PLoS One*. 2021 Mar 1;16(3):e0247868. Doi: 10.1371/journal.pone.0247868. PMID: 33647052; PMCID: PMC7920355.

113 Rüther T, Kahnert K, Mader M, Rabenstein A, Falkai P, Fischer E, et al. Reduction of bronchial response to mannitol after partial switch from conventional tobacco to electronic cigarette consumption. *Respir Med*. 2021 Mar;178:106324. Doi: 10.1016/j.rmed.2021.106324. Epub 2021 Feb 1. PMID: 33571924.

114 De Martin S, Gabbia D, Bogialli S, Biasioli F, Boschetti A, Gstir R, et al. Refill liquids for electronic cigarettes display peculiar toxicity on human endothelial cells. *Toxicol Rep*. 2021 Feb 26;8:456-462. doi: 10.1016/j.toxrep.2021.02.021. PMID: 33717998; PMCID: PMC7933715.

115 Zhang R, Jones MM, Dornside RE, Wu T, Sivaraman V, Tarran R, et al. JUUL e-liquid exposure elicits cytoplasmic Ca^{2+} responses and leads to cytotoxicity in cultured airway epithelial cells. *Toxicol Lett*. 2021 Feb 1;337:46-56. doi: 10.1016/j.toxlet.2020.11.017. Epub 2020 Nov 27. PMID: 33253780; PMCID: PMC7772262.

116 Giralt A, Iskandar AR, Martin F, Moschini E, Serchi T, Kondylis A, et al. Comparison of the biological impact of aerosol of e-vapor device with MESH®

technology and cigarette smoke on human bronchial and alveolar cultures. *Toxicol Lett.* 2021 Feb 1;337:98-110. Doi: 10.1016/j.toxlet.2020.11.006. Epub 2020 Nov 18. PMID: 33220401.

117 Tellez CS, Juri DE, Phillips LM, Do K, Yingling CM, Thomas CL, et al. Cytotoxicity and Genotoxicity of E-Cigarette Generated Aerosols Containing Diverse Flavoring Products and Nicotine in Oral Epithelial Cell Lines. *Toxicol Sci.* 2021 Jan 28;179(2):220-228. Doi: 10.1093/toxsci/kfaa174. PMID: 33226417; PMCID: PMC7846129.

118 Dusautoir R, Zarcone G, Verriele M, Garçon G, Fronval I, Beauval N, et al. Comparison of the chemical composition of aerosols from heated tobacco products, electronic cigarettes and tobacco cigarettes and their toxic impacts on the human bronchial epithelial BEAS-2B cells. *J Hazard Mater.* 2021 Jan 5;401:123417. Doi: 10.1016/j.jhazmat.2020.123417. Epub 2020 Jul 7. PMID: 32763707.

119 Jabba SV, Diaz AN, Erythropel HC, Zimmerman JB, Jordt SE. Chemical Adducts of Reactive Flavor Aldehydes Formed in E-Cigarette Liquids Are Cytotoxic and Inhibit Mitochondrial Function in Respiratory Epithelial Cells. *Nicotine Tob Res.* 2020 Dec 15;22(Suppl 1):S25-S34. Doi: 10.1093/ntr/ntaa185. PMID: 33320255; PMCID: PMC8224836.

120 Correia-Álvarez E, Keating JE, Glish G, Tarran R, Sassano MF. Reactive Oxygen Species, Mitochondrial Membrane Potential, and Cellular Membrane Potential Are Predictors of E-Liquid Induced Cellular Toxicity. *Nicotine Tob Res.* 2020 Dec 15;22(Suppl 1):S4-S13. doi: 10.1093/ntr/ntaa177. PMID: 33320253; PMCID: PMC8493666.

121 Kaur G, Singh K, Maremada KP, Li D, Chand HS, Rahman I. Differential plasma exosomal long non-coding RNAs expression profiles and their emerging role in E-cigarette users, cigarette, waterpipe, and dual smokers. *PLoS One.* 2020 Dec 8;15(12):e0243065. Doi: 10.1371/journal.pone.0243065. PMID: 33290406; PMCID: PMC7723270.

122 Woodall M, Jacob J, Kalsi KK, Schroeder V, Davis E, Kenyon B, et al. E-cigarette constituents propylene glycol and vegetable glycerin decrease glucose uptake and its metabolism in airway epithelial cells in vitro. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol.* 2020 Dec 1;319(6):L957-L967. doi: 10.1152/ajplung.00123.2020. Epub 2020 Sep 30. PMID: 32996783; PMCID: PMC7792687.

123 Pearce K, Gray N, Gaur P, Jeon J, Suarez A, Shannahan J, et al. Toxicological analysis of aerosols derived from three electronic nicotine delivery systems using normal human bronchial epithelial cells. *Toxicol In Vitro.* 2020 Dec;69:104997. Doi: 10.1016/j.tiv.2020.104997. Epub 2020 Sep 5. PMID: 32896591; PMCID: PMC7877193.

124 Ganguly K, Nordström A, Thimraj TA, Rahman M, Ramström M, Sompa SI, et al. Addressing the challenges of E-cigarette safety profiling by assessment of pulmonary toxicological response in bronchial and alveolar mucosa models. *Sci Rep.* 2020 Nov 24;10(1):20460. doi: 10.1038/s41598-020-77452-w. PMID: 33235237; PMCID: PMC7686373.

125 Nair V, Tran M, Behar RZ, Zhai S, Cui X, Phandthong R, et al. Menthol in electronic cigarettes: A contributor to respiratory disease? *Toxicol Appl Pharmacol.* 2020 Nov 15;407:115238. Doi: 10.1016/j.taap.2020.115238. Epub 2020 Sep 17. PMID: 32950532; PMCID: PMC8167901.

126 Marshall K, Liu Z, Olfert IM, Gao W. Chronic electronic cigarette use elicits molecular changes related to pulmonary pathogenesis. *Toxicol Appl Pharmacol.* 2020 Nov 1;406:115224. Doi: 10.1016/j.taap.2020.115224. Epub 2020 Sep 3. PMID: 32890605; PMCID: PMC7554218.

127 Rouabchia M, Piché M, Corriveau MN, Chakir J. Effect of e-cigarettes on nasal epithelial cell growth, Ki67 expression, and pro-inflammatory cytokine secretion. *Am J Otolaryngol.* 2020 Nov-Dec;41(6):102686. doi: 10.1016/j.amjoto.2020.102686. Epub 2020 Aug 18. PMID: 32866847.

128 Leigh NJ, Goniewicz ML. Acute Effect of Electronic Cigarette-Generated Aerosol From Flavored CBD-Containing Refill Solutions on Human Bronchial Epithelial Cells. *Front Physiol.* 2020 Oct 21;11:592321. Doi: 10.3389/fphys.2020.592321. PMID: 33192607; PMCID: PMC7609837.

129 Kerasioti E, Veskoukis AS, Skaperda Z, Zacharias A, Poulas K, Lazopoulos G, et al. The flavoring and not the nicotine content is a decisive factor for the effects of refill liquids of electronic cigarette on the redox status of endothelial cells. *Toxicol Rep.* 2020 Sep 1;7:1095-1102. Doi: 10.1016/j.toxrep.2020.08.029. PMID: 32953462; PMCID: PMC7484539.

130 Serpa GL, Renton ND, Lee N, Crane MJ, Jamieson AM. Electronic Nicotine Delivery System Aerosol-induced Cell Death and Dysfunction in Macrophages and Lung Epithelial Cells. *Am J Respir Cell Mol Biol.* 2020 Sep;63(3):306-316. doi: 10.1165/rcmb.2019-0200OC. PMID: 32469619; PMCID: PMC7462344.

131 Ramanathan G, Craver-Hoover B, Arechavala RJ, Herman DA, Chen JH, Lai HY, et al. E-Cigarette Exposure Decreases Bone Marrow Hematopoietic Progenitor Cells. *Cancers (Basel).* 2020 Aug 14;12(8):2292. Doi: 10.3390/cancers12082292. PMID: 32824092; PMCID: PMC7464997.

132 Basma H, Tatineni S, Dhar K, Qiu F, Rennard S, Lowes BD. Electronic cigarette extract induced toxic effect in iPS-derived cardiomyocytes. *BMC Cardiovasc Disord.* 2020 Aug 5;20(1):357. doi: 10.1186/s12872-020-01629-4. PMID: 32758132; PMCID: PMC7409492.

133 Lim DH, Son YS, Kim YH, Kukkar D, Kim KH. Volatile organic compounds released in the mainstream smoke of flavor capsule cigarettes. *Environ Res.* 2022 Jun; 209: 112866. doi: 10.1016/j.envres.2022.112866. Epub 2022 Feb 5. PMID: 35134376.

134 Marrocco A, Singh D, Christiani DC, Demokritou P. E-Cigarette (E-Cig) Liquid Composition and Operational Voltage Define the In Vitro Toxicity of

Δ8Tetrahydrocannabinol/Vitamin E Acetate (Δ8THC/VEA) E-Cig Aerosols. Toxicol Sci. 2022 May 26;187(2):279-297. doi: 10.1093/toxsci/kfac047. PMID: 35478015; PMCID: PMC9154258.

135 Esposito F, Squillante J, Nolasco A, Montuori P, Macrì PG, Cirillo T. Acrylamide levels in smoke from conventional cigarettes and heated tobacco products and exposure assessment in habitual smokers. Environ Res. 2022 May 15;208:112659. doi: 10.1016/j.envres.2021.112659. Epub 2022 Jan 3. PMID: 34990604.

136 Canchola A, Ahmed CMS, Chen K, Chen JY, Lin YH. Formation of Redox-Active Duroquinone from Vaping of Vitamin E Acetate Contributes to Oxidative Lung Injury. Chem Res Toxicol. 2022 Feb 21;35(2):254-264. doi: 10.1021/acs.chemrestox.1c00309. Epub 2022 Jan 25. PMID: 35077135; PMCID: PMC8860880.

137 Lorkiewicz P, Keith R, Lynch J, Jin L, Theis W, Krivokhizhina T, et al. Solventes de cigarro eletrônico, JUUL E-Liquids e biomarcadores de exposição: evidências in vivo para acroleína e glicidol em aerossóis derivados de E-Cig. Chem Res Toxicol. 2022 21 de fevereiro;35(2):283-292. doi: 10.1021/acs.chemrestox.1c00328. Epub 2022 19 de janeiro. PMID: 35044764; PMCID: PMC8864610.

138 Kelesidis T, Zhang Y, Tran E, Sosa G, Middlekauff HR. Instigators of COVID-19 in Immune Cells Are Increased in Tobacco Cigarette Smokers and Electronic Cigarette Vapers Compared With Nonsmokers. Nicotine Tob Res. 2022 Feb 14;24(3):413-415. doi: 10.1093/ntr/ntab168. PMID: 34410424; PMCID: PMC8513409.

139 Dai H, Benowitz NL, Achutan C, Farazi PA, Degarege A, Khan AS. Exposure to Toxicants Associated With Use and Transitions Between Cigarettes, e-Cigarettes, and No Tobacco. JAMA Netw Open. 2022 Feb 1;5(2):e2147891. doi: 10.1001/jamanetworkopen.2021.47891. PMID: 35142830; PMCID: PMC8832174.

140 Wilson C, Tellez Freitas CM, Awan KH, Ajdaharian J, Geiler J, Thirucenthilvelan P. Adverse effects of E-cigarettes on head, neck, and oralcells: A systematic review. *J Oral Pathol Med.* 2022 Feb;51(2):113-125. doi: 10.1111/jop.13273. PMID: 35048431.

141 Andersen A, Reimer R, Dawes K, Becker A, Hutchens N, Miller S, et al. DNA methylation differentiates smoking from vaping and non-combustible tobacco use. *Epigenetics.* 2022 Jan- Feb;17(2):178-190. doi: 10.1080/15592294.2021.1890875. Epub 2021 Feb 25. PMID: 33588690; PMCID: PMC8865289.

142 Lu F, Yu M, Chen C, Liu L, Zhao P, Shen B, Sun R. The Emission of VOCs and CO from Heated Tobacco Products, Electronic Cigarettes, and Conventional Cigarettes, and Their Health Risk. *Toxics.* 2021 Dec 28;10(1):8. doi: 10.3390/toxics10010008. PMID: 35051050; PMCID: PMC8781168.

143 Kelesidis T, Tran E, Nguyen R, Zhang Y, Sosa G, Middlekauff HR. Association of 1 Vaping Session With Cellular Oxidative Stress in Otherwise Healthy Young People With No History of Smoking or Vaping: A Randomized Clinical Crossover Trial. *JAMA Pediatr.* 2021 Nov 1;175(11):1174-1176. doi: 10.1001/jamapediatrics.2021.2351. PMID: 34369981; PMCID: PMC8353577.

144 Christensen CH, Chang JT, Rostron BL, Hammad HT, van Bemmel DM, Del Valle-Pinero AY, et al. Biomarkers of Inflammation and Oxidative Stress among Adult Former Smoker, Current E-Cigarette Users-Results from Wave 1 PATH Study. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2021 Oct;30(10):1947-1955. doi: 10.1158/1055-9965.EPI-21-0140. Epub 2021 Jul 21. PMID: 34289969; PMCID: PMC8500540.

145 Majid S, Keith RJ, Fetterman JL, Weisbrod RM, Nystoriak J, Wilson T, et al. Lipid profiles in users of combustible and electronic cigarettes. *Vasc Med.* 2021 Oct;26(5):483-488. doi: 10.1177/1358863X211009313. Epub 2021 May 20. PMID: 34013801.

146 Richmond RC, Sillero-Rejon C, Khouja JN, Prince C, Board A, Sharp G, et al. Investigating the DNA methylation profile of e-cigarette use. *Clin Epigenetics*. 2021 Sep 28;13(1):183. Doi: 10.1186/s13148-021-01174-7. PMID: 34583751; PMCID: PMC8479883.

147 O'Farrell HE, Brown R, Brown Z, Milijevic B, Ristovski ZD, Bowman RV, et al. E-cigarettes induce toxicity comparable to tobacco cigarettes in airway epithelium from patients with COPD. *Toxicol In Vitro*. 2021 Sep; 75:105204. Doi: 10.1016/j.tiv.2021.105204. Epub 2021 Jun 26. PMID: 34186184.

148 Polosa R, Emma R, Cibella F, Caruso M, Conte G, Benfatto F, et al. Impact of exclusive e-cigarettes and heated tobacco products use on muco-ciliary clearance. *Ther Adv Chronic Dis*. 2021 Aug 12; 12: 20406223211035267. doi: 10.1177/20406223211035267. PMID: 34422253; PMCID: PMC8371723.

149 Kelesidis T, Zhang Y, Tran E, Sosa G, Middlekauff HR. Increased Expression of Proatherogenic Proteins in Immune Cell Subtypes in Tobacco Cigarette Smokers But Not in Electronic Cigarette Vapers. *Can J Cardiol*. 2021 Aug;37(8):1175-1180. doi: 10.1016/j.cjca.2021.05.006. Epub 2021 May 21. PMID: 34023441; PMCID: PMC9014478.

150 Liu G, Lin CJ, Yates CR, Prasad GL. Metabolomic Analysis Identified Reduced Levels of Xenobiotics, Oxidative Stress, and Improved Vitamin Metabolism in Smokers Switched to Vuse Electronic Nicotine Delivery System. *Nicotine Tob Res*. 2021 Jun 8;23(7):1133-1142. doi: 10.1093/ntr/ntaa225. PMID: 33165576; PMCID: PMC8274285.

151 Wang Q, Ji X, Rahman I. Dysregulated Metabolites Serve as Novel Biomarkers for Metabolic Diseases Caused by E-Cigarette Vaping and Cigarette Smoking. *Metabolites*. 2021 May 29;11(6):345. doi: 10.3390/metabo11060345. PMID: 34072305; PMCID: PMC8229291.

152 Talih S, Salman R, El-Hage R, Karam E, Karaoghanian N, El-Hellani A, et al. Might limiting liquid nicotine concentration result in more toxic electronic cigarette aerosols? *Tob Control.* 2021 May;30(3):348-350. doi: 10.1136/tobaccocontrol-2019-055523. Epub 2020 Jun 10. PMID: 32522818; PMCID: PMC9281877.

153 Perez MF, Mead EL, Atuegwu NC, Mortensen EM, Goniewicz M, Oncken C. Biomarkers of Toxicant Exposure and Inflammation Among Women of Reproductive Age Who Use Electronic or Conventional Cigarettes. *J Womens Health (Larchmt).* 2021 Apr;30(4):539-550. doi: 10.1089/jwh.2019.8075. Epub 2021 Feb 2. PMID: 33534627; PMCID: PMC8064962.

154 Baker AN, Bakke AJ, Branstetter SA, Hayes JE. Harsh and Sweet Sensations Predict Acute Liking of Electronic Cigarettes, but Flavor Does Not Affect Acute Nicotine Intake: A Pilot Laboratory Study in Men. *Nicotine Tob Res.* 2021 Mar 19;23(4):687-693. doi: 10.1093/ntr/ntaa209. PMID: 33047127.

155 Hasan KM, Munoz A, Tumoyan H, Parveen M, Espinoza-Derout J, Shao XM, et al. Adverse effects of fetal exposure of electronic-cigarettes and high-fat diet on male neonatal hearts. *Exp Mol Pathol.* 2021 Feb;118:104573. doi: 10.1016/j.yexmp.2020.104573. Epub 2020 Nov 17. PMID: 33212125; PMCID: PMC8501912.

156 Dai H, Khan AS. A Longitudinal Study of Exposure to Tobacco-Related Toxicants and Subsequent Respiratory Symptoms Among U.S. Adults with Varying E-cigarette Use Status. *Nicotine Tob Res.* 2020 Dec 15;22(Suppl 1):S61-S69. doi: 10.1093/ntr/ntaa180. PMID: 33320254; PMCID: PMC8628872.

157 Kalayci M, Cetinkaya E, Suren E, Yigit K, Duman F, Erol MK. The effect of electronic cigarette smoking on retinal microcirculation: Enlargement of the foveal avascular zone. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2020 Dec;32:102068. doi: 10.1016/j.pdpdt.2020.102068. Epub 2020 Oct 23. PMID: 33333709.

158 Aherrera A, Aravindakshan A, Jarmul S, Olmedo P, Chen R, Cohen JE, et al. E-cigarette use behaviors and device characteristics of daily exclusive e-cigarette users in Maryland: Implications for product toxicity. *Tob Induc Dis.* 2020 Nov 10;18:93. doi: 10.18332/tid/128319. PMID: 33209101; PMCID: PMC7668279.

159 Pulvers K, Nollen NL, Rice M, Schmid CH, Qu K, Benowitz NL, et al. Effect of Pod e-Cigarettes vs Cigarettes on Carcinogen Exposure Among African American and Latinx Smokers: A Randomized Clinical Trial. *JAMA Netw Open.* 2020 Nov 2;3(11):e2026324. Doi: 10.1001/jamanetworkopen.2020.26324. PMID: 33206193; PMCID: PMC7675102.

160 Middlekauff HR, William KJ, Su B, Haptonstall K, Araujo JA, Wu X, et al. Changes in lipid composition associated with electronic cigarette use. *J Transl Med.* 2020 Oct 7;18(1):379. Doi: 10.1186/s12967-020-02557-9. PMID: 33028369; PMCID: PMC7542424.

161 Wang J, Zhang T, Johnston CJ, Kim SY, Gaffrey MJ, Chalupa D, et al. Protein thiol oxidation in the rat lung following e-cigarette exposure. *Redox Biol.* 2020 Oct;37:101758. doi: 10.1016/j.redox.2020.101758. Epub 2020 Oct 10. PMID: 33080441; PMCID: PMC7575796.

Diagrama de fluxo – Dispositivos eletrônicos para fumar (Toxicidade)

Estudos recuperados, selecionados, incluídos e excluídos

