



Listas de contenidos disponibles en ScienceDirect

Diario de materiales peligrosos

página de inicio de la revista: www.elsevier.com/locate/jhazmat



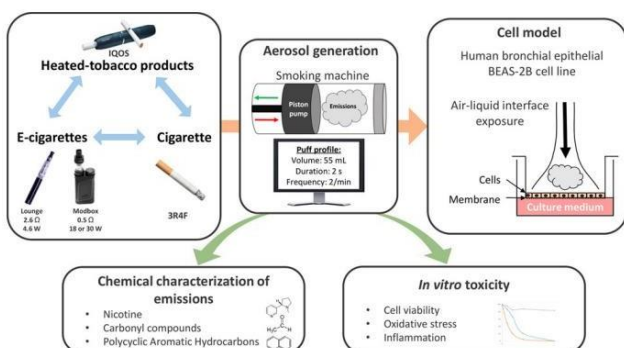
Comparación de la composición química de los aerosoles de Calentadores de tabaco, cigarrillos electrónicos y cigarrillos de tabaco tradicional y sus impactos tóxicos en las células epiteliales bronquiales humanas BEAS-2B



Romain Dusautoira, Gianni Zarcone, María Verrialeb, Guillermo Garçona, Isabelle Fronvalb, Nicolás Beauvala, Delphine Allorgea, Véronique Riffaultb, Nadine Locogeb, Jean-Marc Lo-Guidicea, Sébastien Anthérieua,*

^a Universidad Lille, CHU Lille, Institut Pasteur de Lille, ULR 4483, IMPECS - IMPact de l'Environnement Chimique sur la Santé humaine, F-59000, Lille, Francia b IMT Lille Douai, Univ. Lille, SAGE, F-59000, Lille, Francia

GRÁFICAMENTE ABSTRACTO



INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

Editora: Teresa R.

Palabras clave:
 Tabaco que no se quema
 cigarrillo electrónico
 Pulmón
 HAP
 carbonilos
 Toxicidad

RESUMEN

Los cigarrillos electrónicos (e-cigs) y, más recientemente, los productos de tabaco calentado (HTP) brindan alternativas para los fumadores, ya que generalmente se perciben como menos dañinos que los cigarrillos convencionales. Sin embargo, es crucial comparar los riesgos para la salud de estos diferentes dispositivos emergentes, a fin de determinar qué producto se debe preferir para sustituir el cigarrillo. El presente estudio tuvo como objetivo comparar la composición de las emisiones de HTP, cigarrillos electrónicos y cigarrillos convencionales, con respecto a compuestos dañinos o potencialmente dañinos seleccionados, y sus impactos tóxicos en las células BEAS-2B del epitelio bronquial humano. El HTP emitió menos hidrocarburos aromáticos policíclicos y carbonilos que el cigarrillo convencional. Sin embargo, las cantidades de estos compuestos en los aerosoles de HTP seguían siendo más altas que en los vapores de los cigarrillos electrónicos. En concordancia, el aerosol HTP mostró una citotoxicidad reducida en comparación con el humo del cigarrillo, pero mayor que los vapores de los cigarrillos electrónicos. HTP y e-cig tenían el potencial de aumentar el estrés oxidativo y la respuesta inflamatoria, de manera similar al humo del cigarrillo, pero después de exposiciones más intensas. En

Abreviaturas: ALI, interfaz aire-líquido; e-cig; cigarrillo electrónico; GSH, glutatión reducido; GSSG, glutatión oxidado; HTP, productos de tabaco calentados; MB18W, Modbox e-cig modelo establecido en 18 W; Mb30W, modelo de cigarrillo electrónico Modbox configurado en 30 W; HAP, hidrocarburos aromáticos policíclicos
 y Autor para correspondencia en: ULR4483 IMPECS, Faculté de Médecine - Pôle Recherche, 1 Place de Verdun, 59045, Lille Cedex, Francia.
 Direcciones de correo electrónico: dusautoir.romain@gmail.com (R. Dusautoir), gianni.zarcone@univ-lille.fr (G. Zarcone), marie.verriale@imt-lille-douai.fr (M. Verriale), guillaume.garcon@univ-lille.fr (G. Garçon), isabelle.fronval@imt-lille-douai.fr (I. Fronval), nicolas.beauval@chru-lille.fr (N. Beauval), delphine.allorge@univ-lille.fr (D. Allorge), veronique.riffault@imt-lille-douai.fr (V. Riffault), nadine.locoge@imt-lille-douai.fr (N. Locoge), jean-marc.lo-guidice@univ-lille.fr (J.-M. Lo-Guidice), sebastien.antherieu@univ-lille.fr (S. Anthérieu).

Además, el aumento de la potencia de los cigarrillos electrónicos afectó los niveles de ciertos compuestos tóxicos y el estrés oxidativo relacionado. Este estudio proporciona datos importantes necesarios para la evaluación de riesgos al demostrar que el HTP podría ser menos dañino que el cigarrillo de tabaco pero considerablemente más dañino que el cigarrillo electrónico.

1. Introducción

La epidemia del tabaquismo causa 8 millones de muertes cada año en todo el mundo. Responsable de casi el 30 % de las muertes relacionadas con el cáncer (especialmente el 90 % de los cánceres de pulmón) y siendo el principal factor de riesgo de las enfermedades pulmonares obstructivas crónicas, el tabaquismo es la principal causa individual de muertes prevenibles en el mundo (OMS, 2019). De las más de 7000 sustancias químicas presentes en el humo del tabaco, al menos 250 son nocivas y unas 70 pueden causar cáncer: benceno, formaldehído, acetaldehído, acrilamida, nitrosaminas, arsénico, cadmio... No existe un nivel seguro de consumo de tabaco y dejar de fumar reduce significativamente el riesgo de desarrollar enfermedades relacionadas con el tabaquismo. Aunque los beneficios para la salud son mayores para las personas que dejan de fumar a edades más tempranas, existen beneficios a cualquier edad (Babb et al., 2017). Sin embargo, dejar de fumar es una tarea difícil y desafiante debido al poder adictivo de la nicotina, que se encuentra naturalmente en el tabaco (Benowitz, 2010). La terapia de reemplazo de nicotina (principalmente disponible como parche transdérmico, aerosol nasal, inhalador, chicle y tabletas sublinguales) puede ayudar a aumentar las posibilidades de dejar de fumar de manera sostenible (Stead et al., 2012). Sin embargo, ninguno de estos dispositivos imita la sensación de satisfacción que se produce con la entrega rápida y abundante de nicotina al fumar. Nuevas alternativas a los cigarrillos regulares, como los cigarrillos electrónicos (e-cigs) y los productos de tabaco para calentar (HTP), también llamados tabacos que no se queman, han surgido en el mercado durante la última década. Los cigarrillos electrónicos y los productos de tabaco emergentes generalmente se perciben como sustitutos de bajo riesgo para los cigarrillos y han ganado popularidad rápidamente, mucho antes de que la evidencia científica suficiente permitiera determinar sus posibles efectos perjudiciales en los usuarios.

Los cigarrillos electrónicos comprenden un elemento calefactor alimentado por batería que está diseñado para vaporizar una solución ("e-líquido") hecha de propilenglicol y/o glicerina y, con frecuencia, saborizante y nicotina. Luego, el usuario inhala el vapor. Surgieron inquietudes sobre los niveles de algunos componentes nocivos que se encuentran en los aerosoles de los cigarrillos electrónicos, como los compuestos de carbonilo (incluidos el formaldehído, el acetaldehído y la acroleína) (Beauval et al., 2017, 2019; Belushkin et al., 2020) y los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP) (incluido el benzo[a]pireno) (Beauval et al., 2017; Belushkin et al., 2020), que pueden producirse por descomposición térmica de los componentes del líquido electrónico. También se informó la presencia de varios metales traza en las emisiones de cigarrillos electrónicos, probablemente liberados por los componentes del cartomizador (Beauval et al., 2017; Zhao et al., 2019). Paralelamente, algunos estudios investigaron los efectos de la exposición al vapor de cigarrillos electrónicos en células epiteliales bronquiales humanas cultivadas en la interfaz aire-líquido y encontraron que los vapores electrónicos no conducían a una citotoxicidad significativa, pero inducían estrés oxidativo y/o aumentaban la secreción de mediadores proinflamatorios (Anthérieu et al., 2017; Iskandar et al., 2016; Scheffler et al., 2015). Además, se demostró que las modificaciones transcripómicas inducidas por la exposición al vapor del cigarrillo electrónico son menores que las inducidas por el humo del tabaco (Anthérieu et al., 2017; Iskandar et al., 2016). La evolución en los dispositivos de cigarrillos electrónicos (especialmente el desarrollo de una nueva generación de cigarrillos electrónicos con dispositivos sub-ohmicos de alta potencia) puede aumentar las cantidades de compuestos dañinos y potencialmente dañinos en las emisiones (Beauval et al., 2019; Belushkin et al., 2020; Farsalinos et al., 2018c; Zhao et al., 2019).

En consecuencia, se necesita más investigación para comprender mejor los impactos del modelo de cigarrillo electrónico y la producción de energía en la toxicidad celular.

Aunque los cigarrillos electrónicos podrían ayudar a dejar de fumar (Kalkhoran et al., 2019; Nelson et al., 2015), algunos vapeadores podrían sentirse insatisfechos porque los dispositivos de cigarrillos electrónicos no usan ingredientes de tabaco reales y carecen de los llamados "dispositivos para la garganta". hit" o auténticos sabores a tabaco que ofrecen los cigarrillos. Estos elementos pueden animar a algunas personas a volver a los cigarrillos convencionales (Staal et al., 2018). Por lo tanto, las empresas tabacaleras desarrollaron nuevos productos de tabaco para seguir satisfaciendo las necesidades cambiantes de sus

consumidores Lanzaron HTP que saben más a cigarrillos convencionales y al mismo tiempo entregan nicotina a los consumidores. En particular, Philip Morris International creó el dispositivo IQOS: las barras de tabaco desechables empapadas en glicerina (llamadas barras térmicas) se insertan en un soporte en el dispositivo IQOS y se calientan con una cuchilla eléctrica (Smith et al., 2016).

Estos nuevos dispositivos son comercializados por Philip Morris International como productos que no queman el tabaco, como lo hacen los cigarrillos, sino que lo calientan a una temperatura más baja (menos de 350 °C) con el objetivo de evitar la producción de compuestos nocivos relacionados con la combustión. Para respaldar las declaraciones de propiedades saludables de IQOS, Philip Morris International publicó varios artículos revisados por pares (Malinska et al., 2018; Schaller et al., 2016a,b; Sewer et al., 2016; Smith et al., 2016; van der Toorn et al., 2015; Wong et al., 2016). Mostraron una reducción de la mayoría de los constituyentes nocivos que se encuentran en el humo del tabaco (compuestos de carbonilo, PAH, nitrosaminas...), así como una reducción de la citotoxicidad y la genotoxicidad en comparación con la exposición al humo del cigarrillo (Schaller et al., 2016a). Hoy en día, la mayoría de los datos sobre HTP son publicados por HTP o por las propias industrias del tabaco y la evaluación de la toxicidad se limita a una comparación con el humo del cigarrillo. Sin embargo, es crucial que los fumadores conozcan la toxicidad del HTP en comparación con los cigarrillos convencionales y los cigarrillos electrónicos.

El objetivo de este estudio es comparar la composición química y los efectos toxicológicos de los aerosoles de HTP (modelo iQOS), el humo del cigarrillo convencional (3R4F) y los vapores de un e-líquido que contiene nicotina vaporizado por diferentes modelos de cigarrillos electrónicos. (un modelo "Lounge" de segunda generación con bobina de 2,6 Ohmios y potencia fija de 4,6 W y un modelo "Modbox" de tercera generación con bobina de 0,5 Ohmios y configurado a 18 W (Mb18W) o 30 W (Mb30W) de potencia). Los análisis de caracterización química se centraron en la nicotina, los compuestos carbonílicos y los PAH.

La toxicidad de los aerosoles se evaluó en la línea celular BEAS-2B cultivada en la interfaz aire-líquido, que es la línea celular epitelial bronquial humana más utilizada para estudios toxicológicos respiratorios.

Los efectos celulares se evaluaron midiendo la citotoxicidad, el estrés oxidativo y la respuesta inflamatoria, que son mecanismos clave que conducen a enfermedades respiratorias crónicas.

2. Material y métodos

2.1. Productos de tabaco y e-cig

El HTP utilizado en este estudio fue el modelo iQOS 2.4 fabricado por Philip Morris (Neuchâtel, Suiza), con iQOS heatsticks (caja ámbar de Philip Morris) comprados en una tabaquería local. IQOS se limpió regularmente después de cada vigésima barra de calor, según lo recomendado por el fabricante. En estos experimentos se utilizaron dos modelos de e-cig de un fabricante francés (marca NHOSS®). El primero fue el modelo "Lounge" de segunda generación, equipado con una bobina de nicromo de 2,8 Ω y una fuente de alimentación de 4,6 W. El calentamiento del serpentín fue activado por succión de aire. El segundo fue el modelo "ModBox" de tercera generación, utilizado con el clearomizador "Air Tank" equipado con una bobina kanthal de 0,5 Ω y con un flujo de aire parcialmente cerrado. El calentamiento se preactivó 1 s antes de la bocanada, según lo recomendado por el fabricante y de acuerdo con el método de bocanada estándar CRM81 de CORESTA (CORESTA, 2015).

El modelo Modbox se probó en dos configuraciones de potencia, 18 W y 30 W. Estas configuraciones corresponden a las fuentes de alimentación de rango inferior y superior recomendadas por el fabricante para las bobinas utilizadas. Se utilizó un e-líquido, con sabor a "tabaco rubio" (marca NHOSS®) y etiquetado de la siguiente manera: propilenglicol < 65 %; glicerol < 35 %; aromatizantes alimentarios; nicotina 16 mg/mL. Los cigarrillos de investigación 3R4F se compraron en la Universidad de Kentucky (Lexington, KY, EE. UU.).

2.2. Generación de aerosoles

Los aerosoles de HTP, e-cig y cigarrillo 3R4F se generaron con un Máquina de fumar Vitrocell® VC1 (Vitrocell, Waldkirch, Alemania), como descrito anteriormente (Anthérieu et al., 2017; Beauval et al., 2017, 2019). Todos los productos se probaron con el sopleo Health Canada Intense (HCI) perfil (volumen de bocanada de 55 ml, duración de bocanada de 2 s, período de bocanada de 30 s). Para Cigarrillo 3R4F, todos los orificios de ventilación se taparon con cinta adhesiva durante los experimentos para seguir las recomendaciones de este fumador (Laboratorio del Tabaco de la OMS, 2012). Bajo esta configuración, uno El cigarrillo 3R4F se consumió por completo después de 10 bocanadas y el dispositivo IQOS limitó una varilla térmica a 12 bocanadas.

2.3. Cuantificación de nicotina

La nicotina se recogió de los aerosoles en dos impactores de vidrio con boquilla fritada colocada en serie que contiene 50 y 25 mL de metanol, respectivamente, mantenidos a -40 °C. Cuantificación de nicotina en extractos de aerosol se realizó como se describió anteriormente (Beauval et al., 2017). Cada colección se replicó cuatro veces.

2.4. Identificación y cuantificación de compuestos carbonílicos

Los carbonilos se recolectaron de aerosoles en dos cartuchos de sílice. recubierto con 2,4-dinitrofenilhidrazina (DNPH) colocado en serie, como descrito anteriormente (Beauval et al., 2019). Sep-Pak DNPH-Sílice Plus Cartuchos cortos que contienen 350 o 750 mg de sorbente por cartucho (Waters, Guyancourt, Francia) se utilizaron para cigarrillos electrónicos y aerosoles iQOS o humo de cigarrillo, respectivamente. Cada colección se replicó cuatro veces. Las colecciones en blanco se realizaron utilizando la máquina de fumar que funciona sin e-cig, HTP o cigarrillo convencional conectado y fueron tenidos en cuenta para el análisis de datos. Los cartuchos de DNPH se eluyeron con 3 o 6 mL de acetonitrilo para cartuchos cortos y largos, respectivamente. Las eluciones de ambos cartuchos colocados en serie se agruparon y luego inyectado en un sistema UHPLC Thermo Scientific Dionex UltiMate 3000 con detector UV/VIS (Thermo Scientific, Waltham, MA). La UHPLC El instrumento se operó a 28 °C a un caudal constante de 0,4 ml/min, bajo un gradiente de acetonitrilo y agua durante 15 min. El análisis fue realizado con Acclaim Carbonyl C18 RSCL 150 mm x 2,1 mm x 5 μm (Thermo Fisher Scientific). La adquisición se realizó a una longitud de onda de 360 nm. El monitoreo del instrumento y la adquisición de datos se realizaron utilizando Sistema de adquisición de datos Chromeleon 7.0 para LC (Thermo Scientific,

tabla 1

Concentraciones de carbonilo (en ng/puff) en cigarrillos electrónicos (Lounge, Mb18W o Mb30W), HTP y aerosoles de cigarrillos 3R4F. Los datos representan la media ± SD de cuatro independientes mediciones. "y": indetectable como < a LOD.

	Salón	Mb18W	Mb30W	HTP	3R4F
Formaldehído	6,0 ± 0,7	25,8 ± 2,8	64,5 ± 23,7	156,9 ± 9,4	255,5 ± 60,8
acetaldehído	32,9 ± 5,4	63,0 ± 10,3	160,9 ± 46,4	26.687,7 ± 657,8	16.6345,0 ± 59.540,1
Propanono	3,9 ± 2,7	13,8 ± 3,0	28,5 ± 8,1	3.132,3 ± 149,1	36.075,8 ± 7.896,5
Propanal	2,1 ± 0,7	8,4 ± 2,4	23,2 ± 5,6	1.400,1 ± 205,8	6.924,8 ± 1.688,2
Metilvinilcetona	0,2 ± 0,1	6,4 ± 4,2	6,4 ± 2,1	443,1 ± 42,1	1.341,1 ± 219,3
crotonaldehído	2,4 ± 0,1	16,1 ± 3,3	38,8 ± 8,1	139,9 ± 10,2	1.697,4 ± 794,5
Metililcetona	0,8 ± 1,6	34,7 ± 23,6	23,5 ± 9,5	625,6 ± 26,9	9.005,1 ± 1.097,8
Metilpropenal	y = y	y = y	y = y	334,8 ± 20,6	842,4 ± 350,7
Butanal	0,1 ± 0,1	2,0 ± 0,1	2,4 ± 0,1	985,9 ± 94,7	3.653,9 ± 1.055,0
Benzaldehído	0,5 ± 0,1	2,5 ± 0,3	3,2 ± 0,1	58,9 ± 2,8	63,6 ± 59,3
isopental	0,7 ± 0,1	7,9 ± 1,1	11,5 ± 0,6	391,3 ± 37,6	2.084,9 ± 5.990,0
Pentanal	0,5 ± 1,1	1,0 ± 0,2	0,4 ± 0,1	25,2 ± 1,4	172,0 ± 50,5
Glioxal o-	0,6 ± 0,4	0,6 ± 0,0	0,7 ± 0,0	40,7 ± 9,2	308,2 ± 92,0
Tolualdehído m-	0,7 ± 0,1	2,9 ± 0,5	2,8 ± 0,5	6,3 ± 0,4	29,0 ± 2,8
Tolualdehído p-	y = y	1,0 ± 0,6	1,1 ± 0,8	y = y	y = y
Tolualdehído	1,7 ± 0,4	0,9 ± 0,6	0,6 ± 0,7	115,0 ± 26,4	291,8 ± 195,8
Metilglioxal	25,2 ± 3,1	12,2 ± 1,1	44,1 ± 10,9	490,1 ± 69,8	982,0 ± 249,0
hexanal	0,5 ± 0,1	1,5 ± 0,1	1,8 ± 0,1	22,1 ± 11,8	10,4 ± 12,1
2,5-dimetilbenzaldehído	y = y	0,6 ± 0,1	0,7 ± 0,1	y = y	y = y
Compuestos carbonílicos totales	79 ± 10	201 ± 48	415 ± 63	35.056 ± 825	230.083 ± 70.153

Waltham, MA). El método permite la detección y cuantificación de diecinueve compuestos (Tabla 1) con límites de cuantificación (LOQ) oscilando entre 6 y 15 ng/mL. La acroleína no se midió en este estudio. debido a la inadecuación de utilizar el cartucho de adsorbente sólido recubierto con DNPH para su recolección (Ho et al., 2011).

El número de bocanadas para cada colección se determinó en experimentos preliminares para evitar la saturación de los cartuchos. Finalmente, para los análisis de e-cig, HTP y 3R4F, 20, 4 y 1 inhalaciones fueron respectivamente encontrado para ser el mejor compromiso con la eficiencia satisfactoria sin saturación del cartucho (datos no mostrados). Además, con respecto al e-cig, medimos las emisiones de carbonilo en las veinte últimas caladas. de una sesión de exposición de una hora (100-120 bocanadas). Para comparar los diferentes muestras de aerosol, los niveles de carbonilos se expresaron en masa de cada compuesto por bocanada.

2.5. Identificación y cuantificación de HAP

Los PAH se recolectaron de aerosoles simultáneamente con nicotina colección en los mismos impingers, como se describió anteriormente (Beauval et al., 2017). Cada colección se replicó cuatro veces. Las colecciones en blanco se realizaron utilizando la máquina de fumar que funciona sin e cig, HTP o cigarrillo convencional conectado y se tomaron en cuenta para el análisis de datos. Las muestras metanólicas se concentraron primero bajo un flujo suave de nitrógeno en un baño de agua a 45 °C hasta un volumen final de 1 mL para la posterior extracción de PAHs mediante disolvente acelerado extracción con acetonitrilo. Esta extracción fue seguida por una segunda paso de concentración bajo un flujo suave de nitrógeno en un baño de agua a 60 °C a un volumen final de 1 mL. Luego, los productos restantes se filtraron con un filtro de membrana de jeringa antes de la inyección en el cromatográfico sistema. Los análisis se realizaron en HPLC Alliance 2695 (Waters Corporation, MA) junto con un detector de fluorescencia de múltiples longitudes de onda. La separación cromatográfica se logró en un Nu cleosil 100-5 C18 PAH EC 250/2 (Macherey Nagel, Hoerd, Francia). El método permite la detección y cuantificación de veintitrés compuestos (Tabla 2) con LOQ que oscilan entre 1 y 39 pg/mL.

2.6. Cultivo celular y exposición celular a aerosoles

Los experimentos in vitro se realizaron utilizando bronquios humanos. línea celular epitelial BEAS-2B obtenida del American Type Culture Colección (ATCC® CRL9609™). Las células se cultivaron en medio LHC-9 (Life Technologies, Courtabœuf, Francia) y sembrado en CellBIND 75 cm²

Tabla 2

Concentraciones de PAH (en pg/puff) en cigarrillos electrónicos (Lounge, Mb18W o Mb30W), HTP y aerosoles de cigarrillos 3R4F. Los datos representan la media \pm SD de cuatro independientes mediciones. "y": indetectable como < a LOD.

	Salón	Mb18W	Mb30W	HTP	3R4F
Naftalina	61,5 \pm 9,5	75,9 \pm 5,6	92,2 \pm 6,2	71,2 \pm 38,8	3.598,6 \pm 735,4
acenafteno	0,2 \pm 0,1	2,6 \pm 1,1	5,0 \pm 1,4	12,5 \pm 13,6	1.318,2 \pm 397,5
fluoreno	6,7 \pm 3,3	6,7 \pm 1,5	5,0 \pm 1,3	26,0 \pm 22,4	1.976,7 \pm 387,6
fenantreno	7,2 \pm 0,7	25,2 \pm 8,2	22,8 \pm 3,5	55,9 \pm 34,7	2.829,4 \pm 533,3
antraceno	0,6 \pm 0,1	1,7 \pm 0,4	2,8 \pm 3,7	4,7 \pm 2,3	1.356,2 \pm 266,7
fluoranteno	9,2 \pm 1,4	20,1 \pm 11,8	11,5 \pm 11,8	131,0 \pm 79,0	1.463,5 \pm 288,7
pireno	17,9 \pm 4,3	30,9 \pm 9,2	30,9 \pm 10,9	153,0 \pm 98,6	1.752,4 \pm 304,4
Benzo(c)fenantreno	1,9 \pm 0,6	4,5 \pm 2,1	3,1 \pm 4,4	10,2 \pm 6,9	1,5 \pm 0,6
Benzo(a)antraceno	0,2 \pm 0,0	2,6 \pm 0,8	3,2 \pm 4,0	43,8 \pm 23,3	542,5 \pm 150,1
criseno	0,4 \pm 0,3	1,6 \pm 0,2	2,5 \pm 4,0	26,3 \pm 13,8	471,7 \pm 72,5
5-metilcriseno	1,5 \pm 0,4	1,0 \pm 0,7	0,6 \pm 0,4	1,7 \pm 1,0	1.130,5 \pm 293,9
Benzo(e)pireno	1,9 \pm 0,2	6,1 \pm 2,5	5,3 \pm 3,6	22,9 \pm 17,1	1.343,9 \pm 303,1
Benzo(b)fluoranteno	0,3 \pm 0,1	1,2 \pm 0,2	4,2 \pm 7,1	18,9 \pm 8,9	358,9 \pm 125,6
Benzo(k)fluoranteno	0,2 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1	1,4 \pm 2,2	18,4 \pm 11,1	99,6 \pm 28,1
Benzo(a)pireno	0,6 \pm 0,2	0,6 \pm 0,2	1,1 \pm 0,3	25,6 \pm 13,8	457,6 \pm 114,5
Dibenzo(a,l)pireno	0,1 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,1 \pm 0,0	0,3 \pm 0,1	0,6 \pm 0,2
Dibenzo(a,h)antraceno	0,0 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,2 \pm 0,3	0,8 \pm 0,4	38,4 \pm 11,8
Benzo(g,h,i)perileno	1,5 \pm 0,7	0,9 \pm 0,2	4,8 \pm 3,1	16,6 \pm 8,9	276,2 \pm 55,9
Indeno(1,2,3-c,d)pireno	0,3 \pm 0,1	0,2 \pm 0,0	1,5 \pm 2,0	6,6 \pm 5,6	214,0 \pm 81,4
Dibenzo(a,e)pireno	0,1 \pm 0,0	0,0 \pm 0,0	0,2 \pm 0,3	0,5 \pm 0,3	92,4 \pm 43,5
Antantreno	0,3 \pm 0,1	0,2 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1	11,7 \pm 6,7	233,9 \pm 52,6
Coronene	0,3 \pm 0,1	0,5 \pm 0,1	2,8 \pm 1,0	5,5 \pm 1,8	25,6 \pm 5,4
Ciclopenta(c,d)pireno	y = y	y = y	y = y	y = y	y = y
HAP totales	113 \pm 16	183 \pm 29	202 \pm 57	664 \pm 389	19.582 \pm 400

frascos de cultivo de tejidos (Corning, Ámsterdam, Países Bajos) a 37 °C en un incubadora humidificada con 5 % de CO₂ en el aire y 85 % de humedad relativa. El pase de células se realizó cuando las células alcanzaron una confluencia del 80-90 %. Después del subcultivo, las células se transfirieron a una interfaz aire-líquido (ALI) sistema. Las células se sembraron (18 000 células/cm²) en transwell clear insertos de cultivo (4,67 cm²) con un tamaño de poro de 0,4 μ m (Sigma Aldrich, Saint Quentin Fallavier, Francia) recubiertos previamente con 0,03 mg/mL de colágeno tipo I solución (Life Technologies). Las células BEAS-2B se mantuvieron en primer lugar sumergido, entonces ALI se estableció mediante la eliminación de medio de la superficie apical, exponiendo sólo la superficie basal al medio. Las células eran luego transferido a un módulo de exposición (módulo Vitrocell 6/4 CF) y expuesto a diferentes dosis (definidas en número de bocanadas) del producto sin diluir HTP, e-cig o aerosol de cigarro generado por el sistema Vitrocell®. Las células de control eran células no expuestas, que se dejaron en la incubadora. Cada exposición se replicó en tres cultivos celulares independientes.

2.7. Viabilidad celular

Las células BEAS-2B se expusieron a diferentes números de bocanadas sin diluir aerosoles (40, 80 y 120 inhalaciones para e-cig; 2, 12, 40, 80 y 120 inhalaciones para HTP y 1, 2, 4 y 10 bocanadas para cigarrillo 3R4F) y la viabilidad celular fue medido 24 h después de la exposición a través de Cell Titer-Glo Luminescent Cell Kit de ensayo de viabilidad (Promega, Charbonnières, Francia), como se describe previamente (Anthérieu et al., 2017). Se determinó ATP intracelular como porcentajes relacionados con el contenido de ATP en las células de control establecidos arbitrariamente a un valor del 100%.

2.8. Ensayo de contenido de glutatión

Se utilizó el ensayo GSH/GSSG-Glo™ (Promega) siguiendo el directrices del fabricante para la determinación del glutatión total y glutatión oxidado (GSSG). Finalmente, se calcularon las relaciones GSSG/GSH y los resultados se expresan como veces de cambio en relación con GSSG/Proporción de GSH en células de control establecida arbitrariamente en un valor de 1.

2.9. Análisis de expresión génica

El ARN total de las células BEAS-2B se extrajo con el RNeasy plus mini kit (Qiagen, Courtaboeuf, Francia) siguiendo las indicaciones del fabricante

instrucciones. La expresión de los genes diana se midió mediante métodos cuantitativos. PCR en tiempo real del ARNm de transcripción inversa correspondiente. Un mcg de El ARN total se transcribió inversamente en ADNc utilizando el High Capacity Kit de transcripción inversa de ADNc (Applied biosystems, CA, EE. UU.). qPCR se realizaron con el termociclador StepOnePlus (Applied Biosystems), usando TaqMan Fast advanced Master Mix (Applied Biosystems) y los siguientes ensayos TaqMan: Hs99999901_s1, 18S; Hs01054797_g1, CYP1A1; Hs00164383_m1 CYP1B1; Hs01110250_m1, HMOX1; Hs01045993_g1, NQO1. Las curvas de amplificación se leyeron con el software StepOne V2.1 utilizando el umbral de ciclo comparativo método. La cuantificación relativa de los niveles de ARNm en estado estacionario se normalizó contra el ARN 18S. Los resultados se expresan como cambio de pliegue en relación con los niveles en las celdas de control establecidos arbitrariamente en un valor de 1.

2.10. Medición de mediadores de inflamación secretados

Se midieron las concentraciones de diez mediadores de la inflamación secretados. asegurado en los medios basolaterales de las células BEAS-2B: factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF), oncogén regulado por crecimiento γ (GRO- γ), interleucina 1 β (IL-1 β), interleucina 6 (IL-6), interleucina 8 (IL 8), interleucina 13 (IL-13), proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP 1), proteína inflamatoria de macrófagos 1-alfa (MIP-1 γ), regulada en activación, células T normales expresadas y secretadas (RANTES) e interferón gamma (INF- γ). El ensayo se ha realizado en base a las recomendaciones de Milliplex MAP Human Cytokine/Chemokine Kit de panel de perlas magnéticas (Merck Millipore, Molsheim, Francia) utilizando el Tecnología Luminex® xMAP® (Luminex Corp., Austin, TX). La capacidad de las células BEAS-2B para secretar varios mediadores de la inflamación probado previamente mediante el tratamiento de células con lipopolisacárido (Anthérieu et al., 2017).

2.11. análisis estadístico

Los datos fueron representados por la media \pm SD de cuatro independientes mediciones. Los análisis estadísticos se realizaron utilizando la prueba no paramétrica de Mann-Whitney. Los datos se consideraron significativamente diferentes cuando $p < 0,05$.

3. Resultados y discusión

3.1. Caracterización química de aerosoles

3.1.1. contenido de nicotina

Se espera que el potencial de los HTP y los cigarrillos electrónicos para sustituir el tabaquismo dependa al menos del nivel de nicotina suministrado en sus aerosoles y posteriormente inhalado por el usuario (Farsalinos et al., 2018a). Por lo tanto, los niveles de nicotina presentes en los aerosoles de HTP se determinaron y compararon con los del humo y los vapores de los cigarrillos de tabaco de diferentes modelos de cigarrillos electrónicos utilizados con un líquido electrónico que contenía 16 mg/mL de nicotina. Los niveles de nicotina entregados a los aerosoles se presentan en la Fig. 1. HTP entregó aproximadamente un 30 % menos de nicotina a su aerosol (63 $\mu\text{g}/\text{puff}$) que el cigarrillo 3R4F (95 $\mu\text{g}/\text{puff}$) bajo el perfil de inhalación de HCl, como se describe en otros (Belushkin et al., 2020; Farsalinos et al., 2018a; Li et al., 2019; Schaller et al., 2016a). Para las emisiones de cigarrillos electrónicos, el modelo Lounge de segunda generación proporcionó cantidades de nicotina mucho menores (8 $\mu\text{g}/\text{puff}$) que los dos productos de tabaco probados, mientras que el modelo Modbox de tercera generación entregó 60 $\mu\text{g}/\text{puff}$ con una configuración de 18 W y 137 $\mu\text{g}/\text{puff}$ con una configuración de 18 W. Configuración de 30 W. Ya se ha demostrado que aumentar el suministro de energía de los cigarrillos electrónicos aumenta el nivel de nicotina en el vapor, principalmente debido a una vaporización más eficiente del líquido electrónico (Talih et al., 2015).

En resumen, la entrega de nicotina es muy variable (de 8 a 137 μg de nicotina/bocanada) dependiendo del dispositivo en condiciones de uso comparables (bajo régimen de inhalación de HCl). Este parámetro es importante, mientras que se espera un fenómeno de autotitulación de nicotina con fumadores que desean cambiar de cigarrillo a alternativas de suministro de nicotina, como e-cig o HTP (Farsalinos et al., 2018d; Woodward y Tunstall-Pedoe, 1993). Para compensar y obtener una cantidad de nicotina similar de HTP o e-cig que del cigarrillo de tabaco, podrían adoptar un "régimen de bocanadas" más intenso y/o consumir más bocanadas con HTP o e-cig. En consecuencia, las concentraciones de nicotina en las emisiones se utilizarán para estimar una exposición "normalizada" a otros compuestos dañinos y potencialmente dañinos.

3.1.2. Contenidos de carbonilo y PAH

Los carbonilos y los PAH son parte de los principales compuestos liberados por la combustión del tabaco y muchos de ellos contribuyen significativamente a la actividad cancerígena del humo del tabaco (IARC, 2004). De hecho, los compuestos de carbonilo, formaldehído y acetaldehído, están clasificados respectivamente como cancerígenos (Grupo 1) y posiblemente cancerígenos (Grupo 2B) para los humanos por la Agencia Internacional para la Investigación del Cáncer (IARC, 2016). Entre los PAH, el benzo[a]pireno se clasifica en el Grupo 1 y el dibenzo[a,h]antraceno en el Grupo 2A como probablemente cancerígenos para los humanos. En el marco de la reducción de daños del tabaco, parece interesante medir y comparar los niveles de estos compuestos dañinos y potencialmente dañinos en las emisiones de HTP y e-cig.

Primero se analizó la emisión de diecinueve compuestos de carbonilo en los aerosoles de HTP, cigarrillos 3R4F y cigarrillos electrónicos y los resultados (expresados en masa de cada compuesto por inhalación) se informan en la Tabla 1. Se cuantificaron quince compuestos en niveles entre 2 y 15 veces mayor en el humo del cigarrillo que en los aerosoles HTP. El hexanal fue el único compuesto medido a un nivel más alto en la emisión de HTP (22,1 ng/puff) que en el humo del tabaco 3R4F (10,4 ng/puff), y el HTP y el cigarrillo generaron benzaldehído en cantidades casi equivalentes. Por el contrario, todos los compuestos de carbonilo se midieron en cantidades muy bajas en los vapores de las diferentes condiciones de los cigarrillos electrónicos probados en comparación con los productos de tabaco, excepto el m-tolualdehído y el 2,5 dimetilbenzaldehído, que solo se detectaron en los aerosoles del dispositivo Modbox, tanto en configuraciones de baja como de alta potencia. La figura 2-A representa la suma de los compuestos de carbonilo totales medidos en las emisiones de cigarrillos electrónicos, HTP y 3R4F. Se producen muchos menos compuestos de carbonilo en una bocanada de HTP (35 μg / bocanada) que en una bocanada de humo de cigarrillo (230 μg / bocanada). De hecho, el HTP emitió un 84,7 % menos de compuestos carbonílicos que el cigarrillo 3R4F (Fig. 2B).

Niveles de compuestos carbonílicos medidos en vapores de diferentes cigarrillos electrónicos

los modelos eran incluso al menos un 98,5 % más débiles que en los aerosoles HTP. La comparación de datos entre diferentes dispositivos de cigarrillos electrónicos mostró que Lounge y Mb18W emitieron respectivamente un 82,3 % y un 51,4 % menos de compuestos de carbonilo que Mb30W (0,4 $\mu\text{g}/\text{puff}$) (Fig. 2A y B).

Estos diferentes productos de tabaco y cigarrillos electrónicos produjeron carbonilos en niveles muy diferentes en las emisiones, probablemente porque generan aerosoles a través de diferentes procesos y de diversos materiales (reellenos de tabaco o e-líquido). Durante el tabaquismo, los carbonilos se producen principalmente por la pirólisis de los carbohidratos contenidos en el tabaco (Seeman et al., 2002) a alta temperatura (hasta 900 °C). El proceso de aerosolización de HTP opera a temperaturas inferiores a 350 °C con el uso de barras térmicas que contienen hojas de tabaco empapadas en propilenglicol. Estos dispositivos a menudo se denominan productos de tabaco de "calor, no quemar", con una reducción de la exposición del usuario a sustancias químicas cancerígenas que generalmente se producen por la combustión del tabaco (Schaller et al., 2016a). Efectivamente observamos una reducción de alrededor del 90 % en las emisiones de carbonilo de acuerdo con datos del fabricante IQOS (Schaller et al., 2016a,b) y dos estudios independientes (Farsalinos et al., 2018b; Li et al., 2019).

Sin embargo, todavía se midieron varios carbonilos dañinos en el aerosol HTP, como el acetaldehído y el formaldehído, que son compuestos cancerígenos. La presencia de altos niveles de acetaldehído es la marca de la pirólisis y la degradación termogénica del tabaco (Auer et al., 2017). Por el contrario, la principal fuente de carbonilos en las emisiones de cigarrillos electrónicos es la degradación térmica del glicerol y el propilenglicol contenidos en el líquido electrónico (Uchiyama et al., 2020). Algunos carbonilos fueron cuantificables en los diferentes vapores de los cigarrillos electrónicos probados, pero varias veces mucho más bajos que en las emisiones de ambos productos de tabaco probados (Tabla 1). Además, existe una relación entre la potencia operativa o el modelo de e-cig y las concentraciones de compuestos carbonílicos detectadas en los aerosoles de e-cig. Se ha informado que la potencia del cigarrillo electrónico y, por lo tanto, en última instancia, el calor generado en el serpentín de evaporación afectan la cantidad de carbonilos formados (Geiss et al., 2016; Kosmider et al., 2014; Talih et al., 2016). Algunos estudios informaron cantidades más altas de carbonilo en las emisiones de cigarrillos electrónicos (Goniewicz et al., 2014; Hutzler et al., 2014; Sleiman et al., 2016; Talih et al., 2015). Sin embargo, estos hallazgos han sido cuestionados ya que podrían ser la consecuencia del uso de condiciones poco realistas o extremas (intervalo entre bocanadas bajo o alta potencia generando altas temperaturas, fenómeno de bocanada seca) (Farsalinos et al., 2015, 2017). De hecho, e cig puede liberar altos niveles de aldehídos si el e-líquido se sobrecalienta, pero el sobrecalentamiento genera un sabor aversivo que aseguraría evitar tales emisiones. Para garantizar condiciones experimentales realistas, dos usuarios habituales de cigarrillos electrónicos probaron los cigarrillos electrónicos utilizados en nuestro estudio para la generación de bocanadas secas, utilizando la duración de la bocanada y los ajustes de potencia probados con la máquina para fumar. Los usuarios no confirmaron sensación de bocanada seca y suficiente producción de vapor. Además, la temperatura del aerosol generado también se consideró como un indicador de la experiencia experimental.

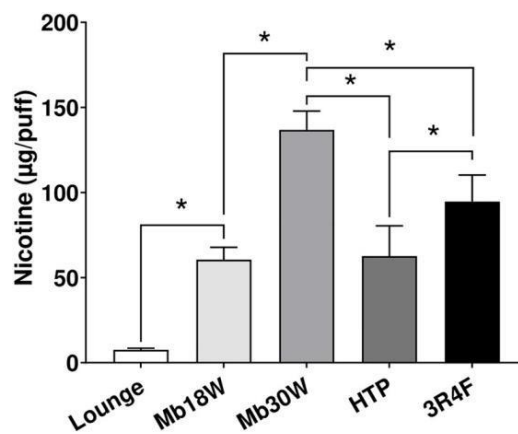


Figura 1. Niveles de nicotina (en $\mu\text{g}/\text{puff}$) en aerosoles de cigarrillos electrónicos (Lounge, Mb18W o Mb30W), HTP y 3R4F. Los datos representan la media \pm DE de cuatro mediciones independientes. * $p < 0,05$.

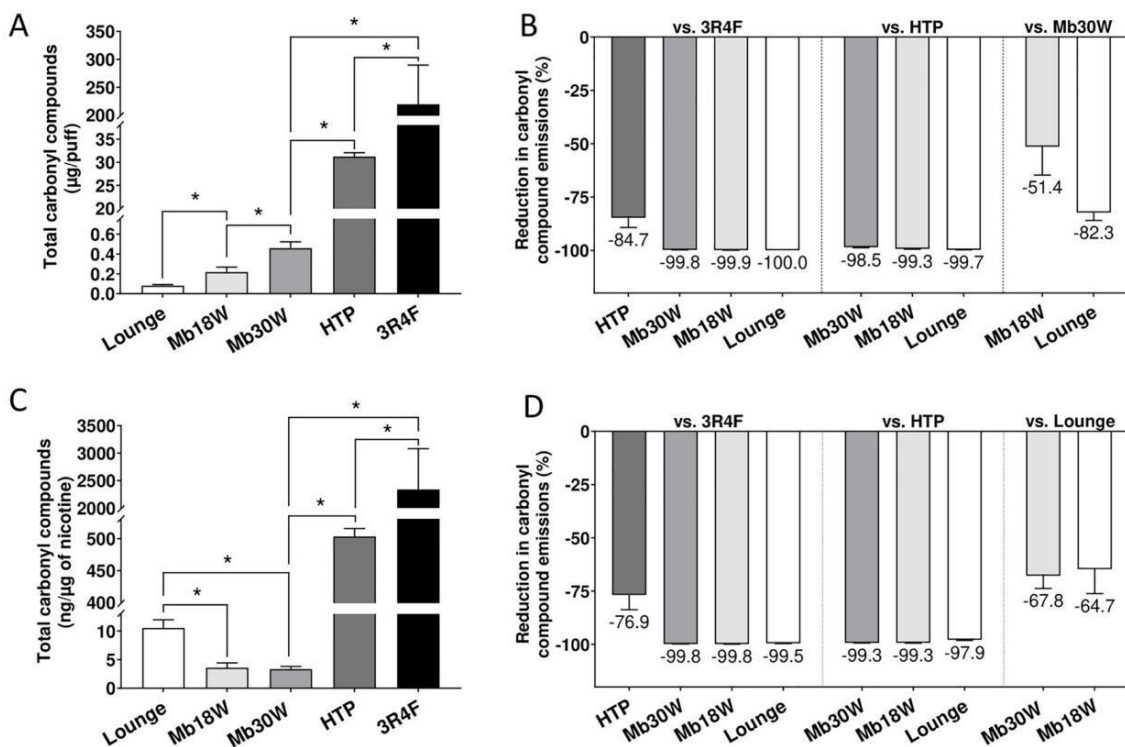


Fig. 2. Contenido total de compuestos carbonílicos en los aerosoles de cigarrillos electrónicos (Lounge, Mb18W o Mb30W), HTP y 3R4F. Los datos representan la media \pm SD de cuatro mediciones independientes ($p < 0,05$) y se expresan en $\mu\text{g}/\text{puff}$ (A) o en $\text{ng}/\mu\text{g}$ de nicotina (C). La reducción correspondiente (%) en las emisiones de compuestos de carbonilo totales (B y D, respectivamente) se comparó con la del cigarrillo 3R4F, HTP o e-cig.

relevancia y realismo. La temperatura de los aerosoles generados por cada dispositivo no superó los $60\text{ }^\circ\text{C}$ durante todos los períodos de recolección (Suplemento Fig. 1), siguiendo las recomendaciones de la organización y estandarización nacional francesa (AFNOR, 2016). En general, nuestro

Por lo tanto, los datos demuestran que, a temperaturas normales de vapeo, el contenido de carbonilo en las emisiones de cigarrillos electrónicos representa solo una pequeña fracción de los niveles inhalados por los usuarios de productos de tabaco.

Paralelamente, la emisión de veintitrés HAP en los aerosoles de

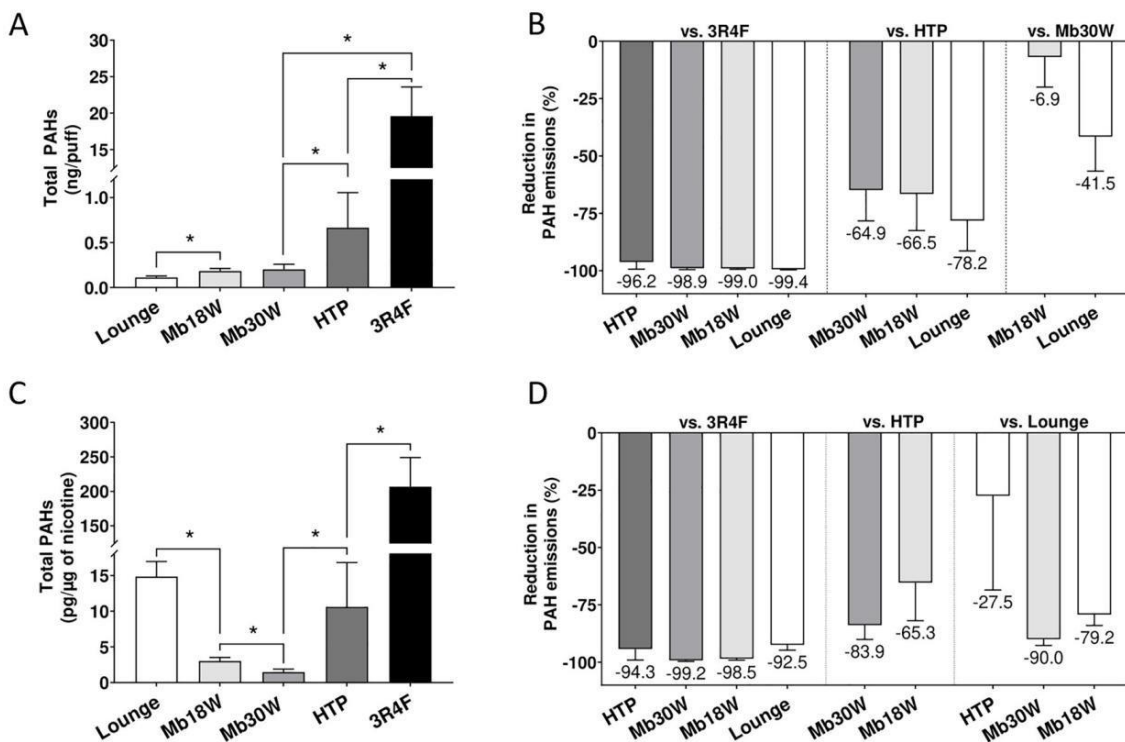


Fig. 3. Contenido total de HAP en aerosoles de cigarrillos electrónicos (Lounge, Mb18W o Mb30W), HTP y 3R4F. Los datos representan la media \pm SD de cuatro mediciones independientes ($p < 0,05$) y se expresan en ng/puff (A) o en $\text{pg}/\mu\text{g}$ de nicotina (C). La reducción correspondiente (%) en las emisiones de PAH totales (B y D, respectivamente) se comparó con la del cigarrillo 3R4F, HTP o e-cig.

Se analizó HTP, cigarrillos 3R4F y cigarrillos electrónicos y los resultados se expresan en pg/puff se informan en la [Tabla 2](#). Se observó un patrón similar al observado para los compuestos de carbonilo para casi todos los PAH emitidos: las concentraciones de veintidós compuestos fueron notablemente más bajas en las emisiones de HTP que en el humo del cigarrillo 3R4F (de 2 a 676 veces dependiendo del compuesto), y fueron aún menores en los vapores de e-cig. Se informó que solo el benzo(c)fenantreno es más alto en las emisiones de HTP, en comparación con todos los demás aerosoles. La suma de los PAH totales medidos se calculó para

cada aerosol ([Fig. 3A](#)) y la tasa de reducción se indica en la [Fig. 3B](#): HTP (0,7 ng/puff) emitió un 96,2 % menos de PAH que el cigarrillo 3R4F (19,6 ng/puff), pero el e-cig emitió un 64,9–78,2 % menos HAP que HTP. La comparación de modelos de cigarrillos electrónicos no mostró diferencias significativas en el contenido de PAH entre Mb18W y Mb30W, y alrededor de un 40 % menos de PAH totales en el modelo Lounge que en el modelo Modbox. Estos resultados respaldan que el proceso de pirólisis está limitado con los cigarrillos electrónicos. El e-líquido utilizado para vapear generalmente no contiene ingredientes de tabaco que contengan precursores de PAH.

Además, la temperatura requerida para producir un aerosol de e-cig a partir de un e-líquido depende de la proporción de propilenglicol y glicerol.

Esta temperatura oscila entre 188,6 °C y 292 °C, pero el agua y el alcohol utilizados como aditivos, disminuyen este punto de ebullición ([Duell et al., 2018](#)). En comparación, IQOS funciona a temperaturas entre 330 °C y 349 °C ([Davis et al., 2019](#)). Las emisiones de PAH liberadas por HTP fueron más bajas que las de los cigarrillos combustibles, pero aún contenían elementos nocivos de la degradación térmica que también se encuentran en el humo del cigarrillo ([Li et al., 2019](#); [Rodgman et al., 2000](#)), incluido el cancerígeno benzo[a]pireno.

Las cuantificaciones de compuestos de carbonilo y PAH se presentaron primero en masa de compuestos analizados por inhalación para comparar dispositivos entre sí. Sin embargo, los usuarios no consumen necesariamente la misma cantidad de bocanadas cuando usan HTP, e-cig o cigarrillos convencionales. Parecen autorregular su consumo (número, frecuencia y volumen de bocanadas, en particular) de acuerdo con la cantidad de nicotina que necesitan ([Farsalinos et al., 2018c](#)). Para tener en cuenta esta autotitulación de nicotina, parece relevante informar también todas las cantidades de compuestos nocivos y potencialmente nocivos por producción de nicotina. Los datos detallados de los niveles de carbonilo y PAH, normalizados por el nivel de nicotina emitida en los aerosoles, se informan en las Tablas S1 y S2 (materiales complementarios), respectivamente. La comparación de los compuestos carbonílicos totales después de la normalización de la nicotina ([Fig. 2C y D](#)) mostró, de acuerdo con las conclusiones anteriores, que el HTP emitió un 76,9 % menos de compuestos carbonílicos

(497 ng/ýg de nicotina) que el cigarrillo combustible (2308 ng/ýg de nicotina), pero niveles al menos un 97,9 % más altos que los vapores del e-cig (< 10 ng/ýg de nicotina). Sin embargo, al comparar los modelos de cigarrillos electrónicos, Lounge emitió más compuestos de carbonilo que el modelo Modbox y no se informó una diferencia significativa entre Mb18W y Mb30W. La comparación de los PAH totales después de la normalización de la nicotina ([Fig. 3C y D](#)) también mostró una reducción sustancial (94,3 %) en el contenido de PAH de las emisiones de HTP (11 pg/ýg de nicotina) en comparación con el humo del cigarrillo (207 pg/ýg de nicotina). El patrón del contenido de PAH entre los diferentes modelos de cigarrillos electrónicos fue diferente después de la normalización de la nicotina: el modelo Lounge emitió más PAH (15 pg/ýg de nicotina) que el modelo Modbox (79,2–90 %) e incluso un 27,5 % más que HTP. Estos resultados mostraron que la forma de expresar los datos (emisiones por bocanada vs emisiones por rendimiento de nicotina) puede influir en su interpretación. Hoy en día, no existe una forma estandarizada de expresar la cantidad de compuestos emitidos en los aerosoles. De hecho, los datos se pueden expresar en cantidad por calada ([Beauval et al., 2019](#)), por ml de calada ([Beauval et al., 2017](#)), por cigarrillo o por barra térmica IQOS ([Li et al., 2019](#)), por masa de nicotina ([Farsalinos et al., 2018b](#)), por consumo de líquido para e-cig ([Beauval et al., 2017](#)), lo que dificulta las comparaciones entre estudios y dificulta las interpretaciones. Además, aún no está claro en qué medida los procedimientos de generación, recolección y análisis de vapor podrían afectar los resultados de la caracterización química. Los protocolos armonizados para determinar la composición química de las emisiones y expresar los resultados son cruciales para establecer y comparar los perfiles de riesgo de cada producto de tabaco emergente en términos de composición química y exposición del usuario.

3.2. Toxicidad in vitro

La aparente reducción de algunos componentes nocivos en las emisiones de HTP y e-cig en comparación con los cigarrillos de tabaco no se puede extrapolar directamente a una reducción proporcional del daño para los fumadores. Hoy en día, se necesita investigación sobre los impactos toxicológicos de estos productos en las células epiteliales de las vías respiratorias humanas en comparación con los cigarrillos de tabaco. El uso de aerosoles sin diluir se describe como un método más sensible a compare las respuestas de los aerosoles producidos a partir de productos emergentes, como HTP y e-cig ([Bishop et al., 2019](#)). Por lo tanto, se expusieron células BEAS-2B epiteliales bronquiales humanas cultivadas en ALI a emisiones no diluidas de HTP, e-cig y cigarrillos 3R4F y se evaluaron los efectos de esas emisiones sobre la citotoxicidad, el estrés oxidativo y la

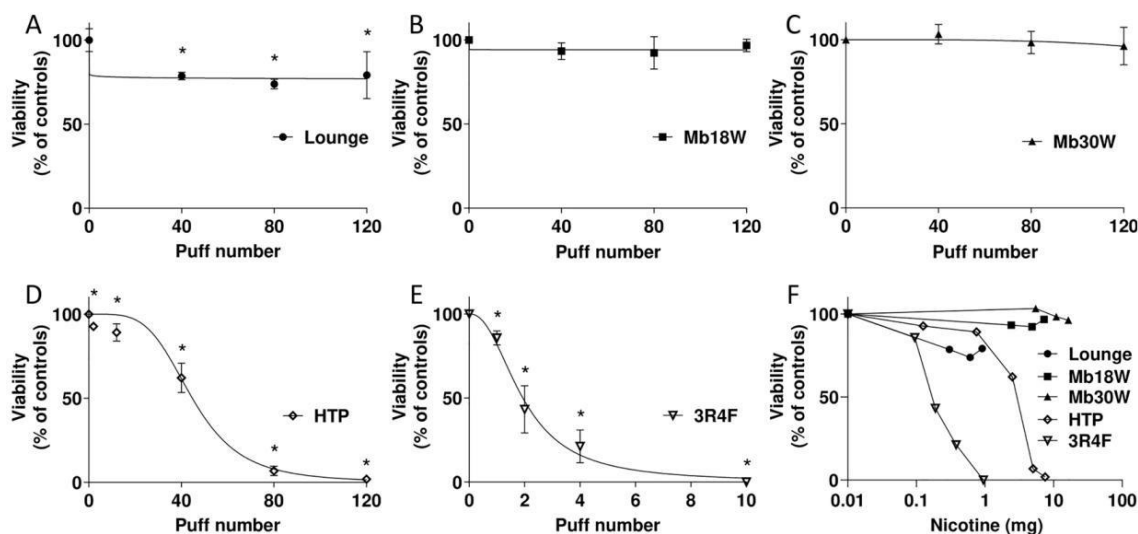


Fig. 4. Viabilidad celular después de la exposición de células BEAS-2B a diferentes cantidades de bocanadas de cigarrillos electrónicos [Lounge (A), Mb18W (B) o Mb30W (C)], HTP (D) y cigarrillo 3R4F (E). La viabilidad se evaluó midiendo el contenido de ATP intracelular en las células 24 h después de la exposición. Los resultados se expresan como porcentajes relativos al contenido de ATP en las células de control fijados arbitrariamente en un valor del 100 %. Los datos representan la media \pm SD de tres réplicas de cultivo independientes. * $p < 0,05$ en comparación con las células de control. (F) Viabilidad celular expresada en función del contenido de nicotina (mg) en aerosoles de cada dispositivo. El contenido de nicotina está determinado por la concentración de nicotina por bocanada (según el dispositivo) multiplicada por el número de bocanadas.

respuesta inflamatoria, que son mecanismos clave que conducen a

enfermedades de las vías respiratorias.

3.2.1. Viabilidad celular

La viabilidad celular se evaluó 24 h después de la exposición al aerosol midiendo contenido de ATP intracelular, que es directamente proporcional al número de células vivas. Los datos que se muestran en la Fig. 4(A-E) muestran que los vapores de los cigarrillos electrónicos no tuvo niveles significativos (modelo Modbox) o bajos (modelo Lounge: > 75 % viabilidad) efectos citotóxicos hasta una exposición de 120 bocanadas. En comparación, Las emisiones de HTP causaron cambios de ATP intracelular a partir de 12 bocanadas (89 % viabilidad) a una fuerte reducción de la viabilidad celular que alcanzó el 2 % después 120 bocanadas. El humo del cigarrillo demostró también una dosis-respuesta completa curva, pero su citotoxicidad apareció en menos bocanadas (< 10 bocanadas). En Para comparar mejor los diferentes dispositivos, la dosis efectiva de Se calculó el aerosol que da como resultado una reducción del 50 % de la viabilidad celular (ED50, expresada aquí en número de bocanadas). Aunque los vaporizadores de cigarrillos electrónicos no indujeron suficiente mortalidad celular para calcular un ED50 (cualquiera que sea la potencia o el modelo de e-cig probado), ED50 fue de 45 bocanadas para HTP aerosol y 2 bocanadas para humo de cigarrillo 3R4F. Obispo et al. han expuesto un epitelio de las vías respiratorias humanas reconstituido en 3D a un cigarrillo sin diluir humo y aerosol de cigarrillos electrónicos (Bishop et al., 2019). Ellos financian ED50 igual a 4 caladas y 60 caladas bajo el régimen HCl para exposiciones de cigarrillos y cigarrillos electrónicos, respectivamente. Sin embargo, usaron voluntariamente condiciones extremas para la exposición a los cigarrillos electrónicos con una ventilación de flujo de aire cerrada para lograr el peor de los casos para producción de carbonilo y, en consecuencia, mayor citotoxicidad. En un estudio anterior con aerosoles diluidos (Anthérieu et al., 2017), hemos probó el modelo Lounge con diferentes e-liquidos (con o sin nicotina, con sabor o sin sabor) y demostró que ninguno de los citotoxicidad inducida por aerosoles en la línea celular BEAS-2B hasta una exposición de 576 bocanadas. Hoy en día, pocos estudios in vitro han comparado la citotoxicidad relativa de los aerosoles de HTP tanto con el humo del cigarrillo como con los vapores de los cigarrillos electrónicos. y la mayoría de estos ensayos se han realizado utilizando cultivos sumergidos expuestos a extractos en aerosol (Ito et al., 2019; Munakata et al., 2018; Sohal et al., 2019). Las exposiciones ALI proporcionan un enfoque más pertinente para

realizar estudios toxicológicos relacionados con la inhalación de cigarrillos electrónicos emergentes o nuevos productos de tabaco (Johnson et al., 2009). Nuestros resultados actuales están en concordancia con un estudio realizado en bronquios humanos cultivados con ALI células epiteliales H292, lo que demuestra que HTP muestra una citotoxicidad reducida en relación con los cigarrillos combustibles, pero una citotoxicidad más alta que los cigarrillos electrónicos (Leigh et al., 2018). No existe un método estandarizado para comparar los toxicidad in vitro entre productos de tabaco emergentes, cigarrillos electrónicos y tabaco cigarrillo. Algunos autores utilizaron el mismo tiempo de exposición o la misma calada número entre los diferentes aerosoles, mientras que algunos utilizaron comparables exposición a la nicotina (Wang et al., 2019). Por lo tanto, también reportamos celular viabilidad en función de la nicotina emitida (Fig. 4F). Los resultados fueron equivalente con o sin normalización de nicotina: una mayor citotoxicidad para cigarrillos de tabaco (ED50 = 0,2 mg de nicotina) que para HTP (ED50 = 2,8 mg de nicotina) y baja citotoxicidad para e-cig. Estas las diferencias en los efectos citotóxicos probablemente se deban a concentraciones más bajas de sustancias químicas potencialmente dañinas en HTP y especialmente en e-cig aerosoles. Sobre la base de estos datos de citotoxicidad, se eligieron dosis subtóxicas (> 75 % de viabilidad celular) o tóxicas para los análisis posteriores que evaluaron estrés oxidativo e inflamación: 40 y 120 caladas por e-cig; 2, 12 y 40 inhalaciones para HTP; 1 y 2 caladas para cigarrillo 3R4F.

3.2.2. Estrés oxidativo

La generación de estrés oxidativo se evaluó primero midiendo el contenido intracelular de glutatión oxidado (GSSG) y reducido (GSH). GSH se considera uno de los carroñeros más importantes de especies reactivas de oxígeno (ROS), y se puede utilizar la relación GSSG/GSH como marcador de estrés oxidativo. Anteriormente hemos descrito que el la generación de estrés oxidativo fue transitoria y no se encontraron cambios en los niveles de glutatión en las células BEAS-2B 3 h después de terminar el cigarrillo exposición al humo (Anthérieu et al., 2017). En consecuencia, hemos medido los contenidos de GSH y GSSG inmediatamente (0 h) después de la exposición celular. (Figura 5). En estas condiciones experimentales, HTP indujo una significativa aumento de la relación GSSG/GSH en comparación con las células de control (2.7 y 4.5 cambios de pliegue después de 12 y 40 bocanadas, respectivamente). Cigarrillo 3R4F también

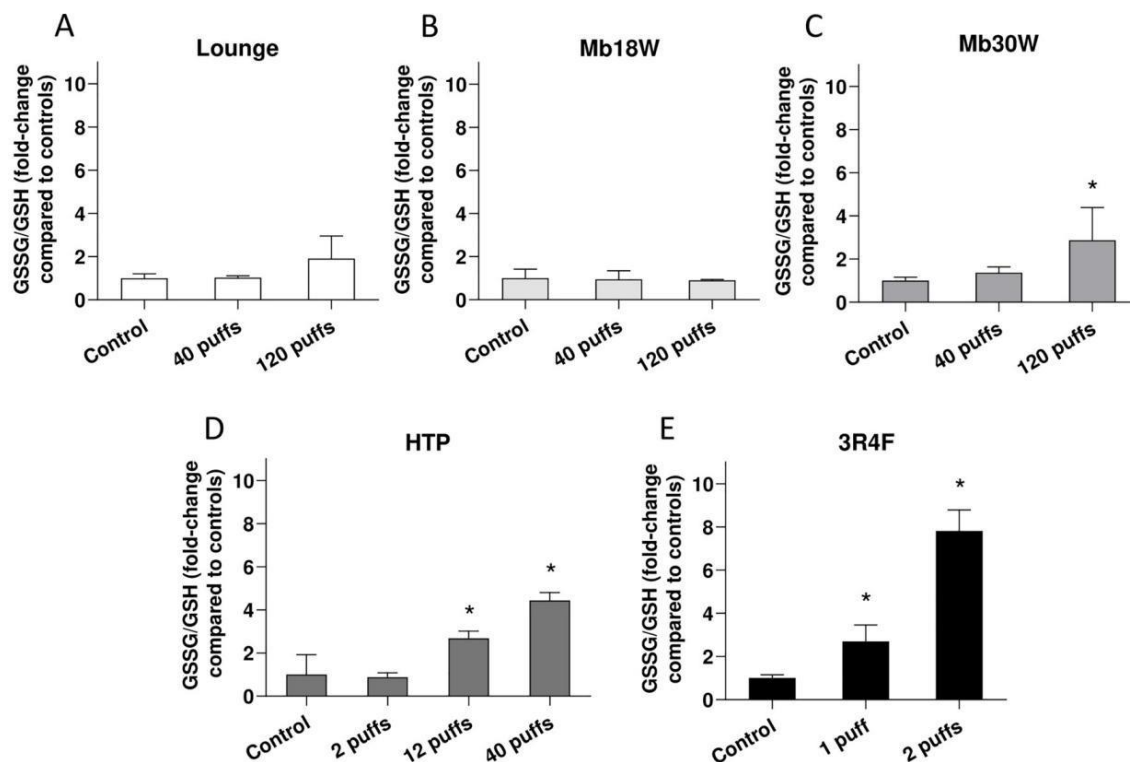


Fig. 5. Proporción de glutatión (GSSG/GSH) en células BEAS-2B después de la exposición a cigarrillos electrónicos [Lounge (A), Mb18W (B) o Mb30W (C)], HTP (D) y cigarrillos 3R4F (E) en aerosol. Los contenidos de GSSG y GSH se midieron inmediatamente después de la exposición celular. Los resultados se expresan como cambio de veces en relación con la relación GSSG/GSH en las células de control establecido arbitrariamente en un valor de 1. Los datos representan la media \pm SD de tres réplicas de cultivo independientes. * $p < 0,05$ en comparación con las células de control.

indujo un aumento de la relación GSSG/GSH pero ya después de solo 1 bocanada (cambio de 2,7 veces) y se observó un cambio de 7,8 veces después de una exposición a 2 bocanadas. Para las exposiciones de cigarrillos electrónicos, la respuesta antioxidante se evidenció solo después de una exposición más prolongada de 120 bocanadas con Mb30W (cambio de 2,9 veces), aunque no se observó un cambio significativo en la relación GSSG/GSH con Mb18W y Lounge.

Los mecanismos de defensa celular frente a sustancias tóxicas también incluyen la regulación transcripcional de genes implicados en los procesos de detoxificación y la respuesta antioxidante. Así, se cuantificó la expresión de genes seleccionados implicados en el metabolismo xenobiótico (citocromo P450 1A1, CYP1A1; citocromo P450 1B1, CYP1B1) y la respuesta antioxidante (hem oxigenasa 1, HMOX1; NADPH quinona deshidrogenasa 1, NQO1) 4 o 24 h después de la exposición a 120 bocanadas de vapores de e-cig, 12 bocanadas de aerosol HTP o 1 bocanada de humo de cigarrillo 3R4F (fig. 6). Para todos los productos y en ambos tiempos, se observó un aumento de la expresión de CYP1A1 y CYP1B1, con una mayor inducción de CYP1A1 que de CYP1B1. Se sabe que los PAH contenidos en el humo del cigarrillo inducen la expresión de CYP1A1/1B1 a través de la vía del receptor de hidrocarburo arilo (AhR) y, posteriormente, afectan el metabolismo de los carcinógenos del tabaco (Sacks et al., 2011). La expresión de CYP1A1/1B1 también se induce en los pulmones de fumadores (Kim et al., 2004). Los aerosoles de cigarrillos electrónicos también pueden inducir CYP1A1 y CYP1B1 y mejorar el metabolismo de algunos HAP (p. ej., benzo[a]pireno) en productos genotóxicos mediante la activación de AhR (Sun et al., 2019). Además, la expresión de los genes diana aguas abajo del factor 2 relacionado con el eritroide nuclear 2 (Nrf2), NQO1 y HMOX1, se reguló al alza 4 h después de la exposición al modelo Lounge.

vapores y en ambos puntos de tiempo para todas las demás emisiones. La regulación al alza de los niveles de NQO1 y HMOX1 4 h después de la exposición aumentó con la potencia del cigarrillo electrónico, alcanzando un cambio de 3,3 o 95 veces, respectivamente, para Mb30W. Algunos compuestos del humo, incluidos carbonilos, PAH, quinonas, naftoquinonas y bencenodiolos, se identificaron como activadores de la vía Nrf2/elemento de respuesta antioxidante (ARE) y la inducción de HMOX1 en respuesta al estrés oxidativo (Chan et al., 2013; Sekine et al., 2016; Zhang et al., 2019). Algunos de estos diferentes componentes del humo del cigarrillo también se encontraron en aerosoles de HTP o e-cig, lo que puede explicar la regulación positiva de NQO1 y HMOX1 en las células BEAS-2B, independientemente de los productos. Casi todas estas modulaciones transcripcionales fueron mayores después de 4 horas de exposición que después de 24 horas y corresponden a mecanismos adaptativos tempranos establecidos por las células BEAS-2B en respuesta a un estrés celular después de la exposición al aerosol. Es importante señalar que estos mecanismos transcripcionales fueron globalmente similares para todos los dispositivos probados, lo que demuestra que todos los productos tienen el potencial de inducir la desintoxicación y una respuesta antioxidante. Sin embargo, estas respuestas moleculares y celulares se observaron para niveles de exposición muy diferentes (desde 120 bocanadas para e-cig, 12 bocanadas para HTP y solo 1 bocanada para cigarrillo de tabaco). Además, una exposición de 120 bocanadas en una hora es representativa de una sesión de exposición intensa, en comparación con los datos de estudios topográficos con usuarios de cigarrillos electrónicos (Jones et al., 2020; Lee et al., 2018).

Estos resultados están en concordancia con otros estudios que demuestran que la generación de ROS se observa en las emisiones de HTP tras un uso más intensivo que con el humo del cigarrillo (Munakata et al., 2018). Las ERO se generarían principalmente por la exposición a sustancias químicas derivadas de

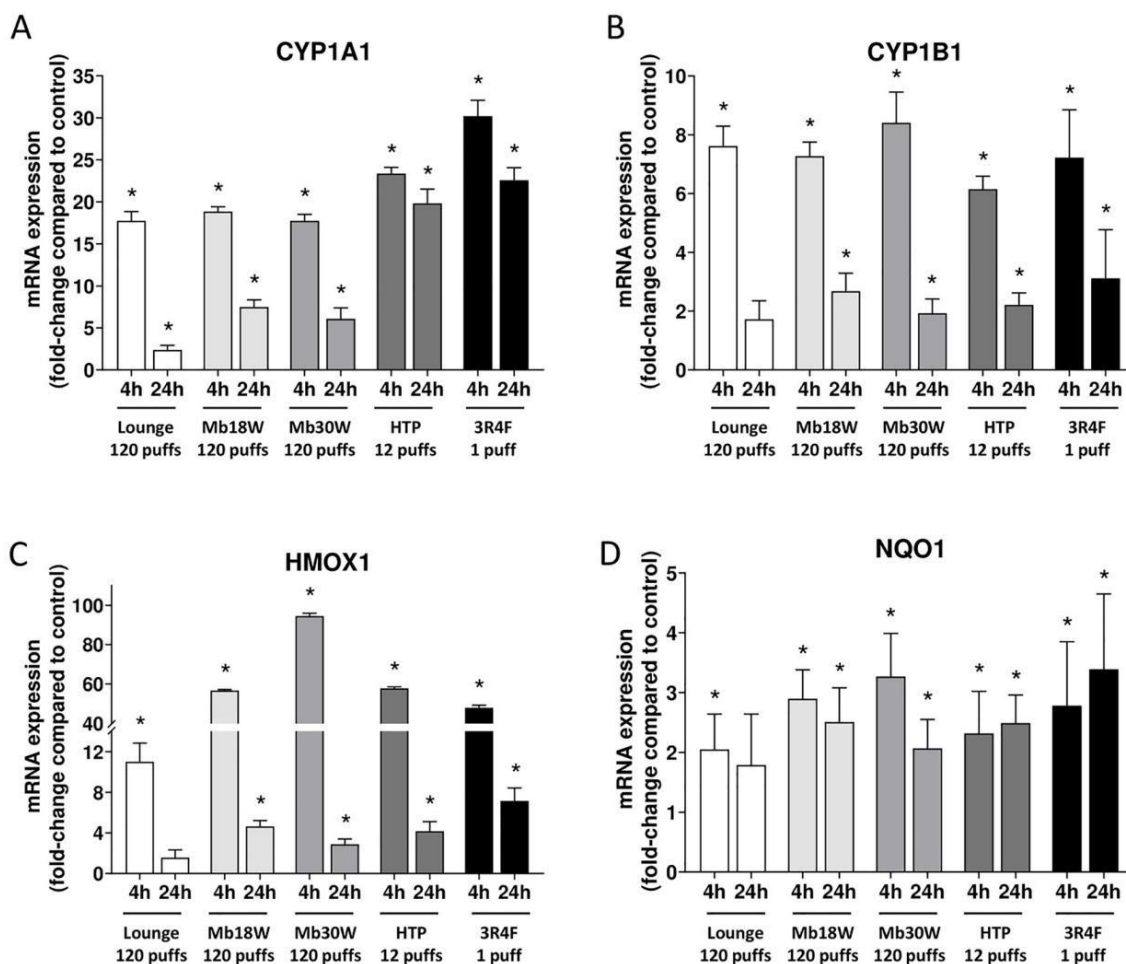


Fig. 6. Expresión de mRNAs que codifican genes relacionados con el metabolismo [CYP1A1 (A), CYP1B1 (B)] y estrés oxidativo [HMOX1 (C), NQO1 (D)] en células BEAS-2B. La expresión génica se analizó 4 h o 24 h después de la exposición a 120 caladas de e-cig (Lounge, Mb18W o Mb30W), 12 caladas de HTP o 1 calada de cigarrillo 3R4F. Los datos representan la media \pm SD de tres réplicas de cultivo independientes. Los resultados se expresan como veces de cambio en relación con las células de control, fijados arbitrariamente en un valor de 1. Los datos representan la media \pm SD de tres réplicas de cultivo independientes. * $p < 0,05$ en comparación con las células de control.

procesos de combustión (Kopa y Pawliczak, 2020) y, por lo tanto, puede estar directamente relacionado con las cantidades relativas de carbonilos y PAH medida en HTP y emisiones de humo de cigarrillo (Figs. 2 y 3). los aumento en la cantidad de compuestos carbonílicos producidos cuando Modbox se usó en un ajuste de alta potencia podría explicar, al menos en parte, la mayor inducción de producción de ROS que contribuiría a alterar el Equilibrio oxidativo/antioxidativo. De hecho, un mayor poder conduce a un mayor temperatura del filamento, que mejora el proceso de vaporización del e-líquido, la pirólisis y las reacciones en cadena con la producción de hidróxido y radicales libres superóxido (Haddad et al., 2019; Son et al., 2019; Zhao et al., 2018). Sin embargo, Son et al. informó que la dosis de Los radicales por bocanada asociados con el vapeo de cigarrillos electrónicos fueron de 10 a 1000 veces más bajos que la dosis reportada generada por fumar cigarrillos (Son et al., 2019).

4.1.1. Respuesta inflamatoria

La respuesta inflamatoria de las células BEAS-2B se evaluó midiendo la secreción de diez citocinas y quimiocinas 24 h después de la exposición a dosis subtóxicas definidas de HTP, humo de cigarrillo 3R4F o cigarrillo electrónico. Solo se encontraron cuatro mediadores en niveles cuantificables (IL-6, IL-8, GRO γ y MCP-1) después de la exposición. GM-CSF, IL-13, IL-1 β , MIP-1 γ , RANTES y TNF- γ no se detectaron en medio de cultivo celular de células BEAS 2B expuestas a aerosoles, a pesar de la capacidad de estas células para secretar estos mediadores después del tratamiento con lipopolisacárido (Anthérieu et al., 2017). Los resultados para los cuatro mediadores detectados se expresaron en cambio de pliegue en relación con las células de control (Tabla 3). Un aumento significativo de secreción de IL-6 se observó en el medio de cultivo de células expuestas a Mb18W (para 120 bocanadas) y Mb30W (tanto para 40 como para 120 bocanadas), mientras que no se evidenció ningún cambio significativo para la secreción de IL-8. Ya se había descrito aumento de IL-6 y/o IL-8 en diferentes células modelos después de la exposición a cigarrillos electrónicos (Merecz-Sadowska et al., 2020), y más notablemente en el plasma de los usuarios de cigarrillos electrónicos (Singh et al., 2019), lo que demuestra que los vapores de los cigarrillos electrónicos podrían inducir una respuesta proinflamatoria. Para HTP, se observó una respuesta bifásica para IL-6 e IL-8 con una mayor aumento en la secreción después de 12 inhalaciones (cambio de 3 y 3,3 veces, respectivamente) que después de 40 inhalaciones (cambio de 1,3 veces). Un bifásico comparable la respuesta en la secreción de IL-8 se describió previamente en células BEAS-2B expuestas al aerosol HTP o al humo del tabaco y también se observó una tendencia similar observado para GM-CSF (Munakata et al., 2018), que fue indetectable en nuestro estudio. Estas diferencias en los resultados podrían explicarse por la diferentes protocolos de exposición celular. De hecho, Munakata et al. expuesto células BEAS-2B sumergidas en extractos de aerosol, mientras que las células cultivadas con ALI estuvieron expuestas directamente a los aerosoles en nuestro estudio. Finalmente, la secreción de MCP-1 y GRO- γ se redujeron significativamente para las exposiciones más largas a aerosol HTP, humo de cigarrillo 3R4F y vapor Mb30W (Tabla 3). A También se demostró la regulación a la baja de GRO- γ y MCP-1 después de exposición al humo del cigarrillo en células endoteliales humanas (Allam et al., 2013). GRO- γ juega un papel importante en la quimiotaxis de los neutrófilos al sitio de la inflamación y MCP-1 es un potente quimioatractor para monocitos y macrófagos. Este reclutamiento y posterior activación de monocitos en los tejidos inflamados juega un papel central en la determinación de los resultados de las respuestas inmunitarias de los tejidos. De este modo, alteración de la secreción de GRO- γ y MCP-1 después de la exposición al aerosol podría afectar las respuestas inmunitarias y protectoras de los tejidos.

Estas diferentes modulaciones en los mediadores inflamatorios pueden explicarse parcialmente por los niveles de carbonilo y PAH medidos en las diferentes emisiones. De hecho, algunos carbonilos que se encuentran en aerosoles o humo (como la acroleína, el acetaldehído y el formaldehído) se conocen como fuertes irritantes que pueden causar inflamación (Lino-dos-Santos-Franco et al., 2011; Escudós et al., 2017). El benzo[a]pireno también se conoce como inductor de la secreción de citocinas proinflamatorias (Chen et al., 2012). Otros componentes de los aerosoles o el humo podrían desempeñar un papel importante en la respuesta inflamatoria. Los metales son capaces de causar inducción de citocinas inflamatorias (Lerner et al., 2015). Además, el propilenglicol y el glicerol producen un higróscopico/hiperosmolar aerosol que podría depositarse en la superficie de las células pulmonares y desencadenar

inflamación (Chaumont et al., 2019).

Los carbonilos y los PAH representan solo una parte de la mezcla compleja que constituyen el humo del cigarrillo o los aerosoles HTP y e-cig. Por tanto, estos contaminantes intervienen en la respuesta celular pero todos los cambios observados en las células BEAS-2B (citotoxicidad, estrés oxidativo, inflamación) no pueden explicarse únicamente por las emisiones de PAH y carbonilo. Una multitud de otros compuestos nocivos que comprenden otros compuestos orgánicos volátiles, metales, nitrosaminas, etc. (Li et al., 2019; Schaller et al., 2016a,b; Zhao et al., 2019) debe tenerse en cuenta caracterizar mejor el perfil tóxico de estos nuevos productos de tabaco y cigarrillos electrónicos en comparación con los cigarrillos de tabaco.

4. Conclusión

En el marco de la reducción de daños del tabaco, en el que los fumadores idealmente deberían poder elegir libremente entre una variedad de alternativas para fumar, productos de tabaco emergentes (como HTP) y cigarrillos electrónicos. parecen tener el potencial de una nueva oferta prometedora. Sin embargo lo es fundamental para los fumadores conocer y comparar los riesgos para la salud de estos diferentes dispositivos emergentes para determinar qué producto debe ser preferido para dejar de fumar. Nuestro estudio ofrece comparativas datos sobre la composición química de HTP, e-cig y cigarrillos de tabaco emisiones y sus impactos toxicológicos en el epitelio bronquial humano células. Primero informamos que HTP entrega un poco menos de nicotina y emite cantidades mucho más bajas de compuestos de carbonilo y HAP que el tabaco cigarrillo. Sin embargo, las emisiones de HTP todavía contienen compuestos cancerígenos (p. ej., formaldehído, acetaldehído y benzo[a]pireno) y la las cantidades de carbonilos y HAP en los aerosoles HTP son más altas que en los cigarrillos electrónicos vapores De acuerdo con los niveles de compuestos tóxicos en cada aerosol, el aerosol HTP exhibe una citotoxicidad reducida en comparación con el humo del cigarrillo, pero más alta que los vapores de los cigarrillos electrónicos. HTP y e-cig tienen el potencial de aumentar el estrés oxidativo y la respuesta inflamatoria, en un manera muy similar a la del humo del cigarrillo, pero sólo después de un más exposición intensiva. Además, nuestros datos respaldan que el uso de cigarrillos electrónicos a mayor los ajustes de potencia emiten compuestos carbonílicos y PAH más altos y, en consecuencia, generan más estrés oxidativo. Finalmente, este estudio contribuye a una mejor comprensión de las propiedades de emisión de HTP y e-cig y sus impactos toxicológicos relacionados y proporciona datos importantes necesarios con fines de evaluación de riesgos, al demostrar que HTP podría ser menos nocivo que el cigarrillo de tabaco pero considerablemente más nocivo que e cig. Deben realizarse más estudios a largo plazo en modelos animales para confirmar estos hallazgos in vitro y permitir la evaluación de enfermedades crónicas

Tabla 3

Perfil de mediadores inflamatorios (IL-6, IL-8, MCP-1 y GRO γ) secretados por Células BEAS-2B 24 h después de la exposición a las emisiones de e-cigs (Lounge, Mb18W o Mb30W), cigarrillo HTP o 3R4F. Los datos representan la media \pm SD de tres réplicas de cultivo dependientes. Los resultados se expresan como cambio de pliegue en relación con celdas de control, establecidas arbitrariamente en un valor de 1. Los datos en negrita son significativamente diferentes de los controles ($p < 0,05$).

	IL-6	IL-8	MCP-1	GRO- γ
Salón				
40 bocanadas	2,1 \pm 0,6	0,8 \pm 0,3	0,7 \pm 0,2	0,7 \pm 0,1
120 bocanadas	2,2 \pm 1,0	0,6 \pm 0,1	0,6 \pm 0,2	0,6 \pm 0,1
Mb18W				
40 bocanadas	2,5 \pm 1,1	1,1 \pm 0,6	1,0 \pm 0,1	1,0 \pm 0,2
120 bocanadas	2,3 \pm 0,6	1,0 \pm 0,3	0,8 \pm 0,1	0,8 \pm 0,1
Mb30W				
40 bocanadas	3,3 \pm 0,4	0,9 \pm 0,1	0,8 \pm 0,1	0,7 \pm 0,2
120 bocanadas	2,4 \pm 0,1	0,6 \pm 0,1	0,6 \pm 0,1	0,4 \pm 0,1
HTP				
2 inhalaciones	0,4 \pm 0,0	1,0 \pm 0,0	0,6 \pm 0,0	0,9 \pm 0,1
12 inhalaciones	3,0 \pm 3,0	3,3 \pm 0,4	0,6 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1
40 inhalaciones	1,3 \pm 1,0	1,3 \pm 1,5	0,2 \pm 0,1	0,2 \pm 0,1
3R4F				
1 bocanada	1,4 \pm 0,5	1,4 \pm 0,3	1,0 \pm 0,1	0,7 \pm 0,1
2 bocanadas	1,5 \pm 0,5	1,8 \pm 0,8	0,2 \pm 0,1	0,2 \pm 0,1

exposiciones a productos de tabaco emergentes. Además de los impactos tóxicos de estos productos, la comparación de su adicción es otro elemento clave a tener en cuenta en la estrategia de reducción de daños del tabaco.

Fondos

Este trabajo fue apoyado por el Instituto Francés del Cáncer (INCa) y el Instituto Francés de Investigación en Salud Pública (IResP): Contratos n°INCa_11505 y n°INCa_13648.

Declaración de contribución de autoría CRediT

Romain Dusautoir: Investigación, Conceptualización, Visualización, Redacción - revisión y edición. Gianni Zarcone: Investigación, Conceptualización. Marie Verrièle: Conceptualización, Redacción - revisión y edición. Guillaume Garçon: Conceptualización, Adquisición de fondos, Redacción - revisión y edición. Isabelle Fronval: Investigación, Metodología. Nicolas Beauval: Investigación, Redacción - revisión y edición. Delphine Allorge: Escritura - revisión y edición. Véronique Riffault: Escritura - revisión y edición. Nadine Locoge: Conceptualización, Redacción - revisión y edición. Jean-Marc Lo-Guidice: Supervisión, Conceptualización, Adquisición de fondos, Redacción - revisión y edición. Sébastien Anthérieu: Supervisión, Conceptualización, Adquisición de fondos, Redacción - borrador original.

Declaración de interés en competencia

Los autores declaran no tener ningún conflicto de interés con respecto a industrias bacco, HTP o e-cig.

Apéndice A. Datos complementarios

Puede encontrar material complementario relacionado con este artículo, en la versión en línea, en [doi:https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123417](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123417).

Referencias

- AFNOR, 2016. Asociación Francesa de Normalización. Cigarrillos Norme XP D90-300-3 electrónicas y e-liquidos.
- Allam, E., Delacruz, K., Ghoneima, A., Sun, J., Windsor, L.J., 2013. Efectos del tabaco en la expresión de citoquinas de las células endoteliales humanas. *Enfermedades orales* 19 (7), 660–665. <https://doi.org/10.1111/odi.12050>.
- Anthérieu, S., Garat, A., Beauval, N., Soyey, M., Allorge, D., Garçon, G., Lo-Guidice, J.-M., 2017. Comparación de los efectos celulares y transcriptómicos entre vapor de cigarrillo y humo de cigarrillo en células epiteliales bronquiales humanas. *Toxicol. In Vitro* 45 (Pt 3), 417–425. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2016.12.015>.
- Auer, R., Concha-Lozano, N., Jacot-Sadowski, I., Cornuz, J., Berthet, A., 2017. Calentar-no quemar cigarrillos de tabaco: fumar con cualquier otro nombre. *Pasante JAMA. Medicina*. 177 (7), 1050–1052. <https://doi.org/10.1001/jamainternmed.2017.1419>.
- Babb, S., Malarcher, A., Schauer, G., Asman, K., Jamal, A., 2017. Dejar de fumar entre adultos: Estados Unidos, 2000–2015. *MMWR Morb. Mortal. Semanal. Rep.* 65 (52), 1457–1464. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm6552a1>.
- Beauval, N., Anthérieu, S., Soyey, M., Gengler, N., Grova, N., Howsam, M., Hardy, EM, Fischer, M., Appenzeller, BMR, Goossens, JF, Allorge, D., Garçon, G., Lo-Guidice, JM, Garat, A., 2017. Evaluación química de cigarrillos electrónicos: análisis multicomponente de recargas líquidas y sus correspondientes aerosoles. *J. Anal. Toxicol.* 41 (8), 670–678. <https://doi.org/10.1093/jat/bkx054>.
- Beauval, N., Verrièle, M., Garat, A., Fronval, I., Dusautoir, R., Anthérieu, S., Garçon, G., Lo-Guidice, J.-M., Allorge, D., Locoge, N., 2019. Influencia de las condiciones de inhalación en la composición de carbonilo de los aerosoles de cigarrillos electrónicos. *En t. J. hig. Reinar. Salud* 222 (1), 136–146. <https://doi.org/10.1016/j.jjheh.2018.08.015>.
- Belushkin, M., Tafin Djoko, D., Esposito, M., Korneliou, A., Jeannet, C., Lazerini, M., Jaccard, G., 2020. Niveles de componentes dañinos y potencialmente dañinos seleccionados en cigarrillos electrónicos comerciales. *química Res. Toxicol.* 33 (2), 657–668. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.9b00470>.
- Benowitz, NL., 2010. Adicción a la nicotina. *N. engl. J. Med.* 362 (24), 2295. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0909890>. Sociedad Médica de Massachussets.
- Bishop, E., Haswell, L., Adamson, J., Costigan, S., Thorne, D., Gaca, M., 2019. Una ap enfoque para probar el aerosol de cigarrillos electrónicos sin diluir in vitro utilizando epitelio de las vías respiratorias humanas reconstituido en 3D. *Toxicol. In Vitro* 54, 391–401. <https://doi.org/10.1016/j.tiv.2018.01.010>.
- Chan, JKW, Charrier, JG, Kodani, SD, Vogel, CF, Kado, SY, Anderson, DS, Anastasio, C., Van Winkle, LS., 2013. Llama ultrafina generada por combustión el hollín genera especies reactivas de oxígeno y activa los antioxidantes Nrf2 de manera diferente en los pulmones de ratas neonatales y adultas. *Parte. Fibra Toxicol.* 10, 34. <https://doi.org/10.1186/1743-8977-10-34>.
- Chaumont, M., van de Borne, P., Bernard, A., Van Muylem, A., Deprez, G., Ullmo, J., Starczewska, E., Briki, R., de Hemptinne, Q., Zaher, W., Debbas, N., 2019. El vapeo de cigarrillos electrónicos de cuarta generación induce inflamación pulmonar transitoria y alteraciones del intercambio de gases: resultados de dos ensayos clínicos aleatorizados. *Soy. J. Physiol. - Célula Pulmonar. mol. Fisiol.* 316 (5), L705–L719. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00492.2018>.
- Chen, W., Xu, X., Bai, L., Padilla, MT, Gott, KM, Leng, S., Tellez, CS, Wilder, JA, Belinsky, SA, Scott, BR, Lin, Y., 2012. La irradiación gamma en dosis bajas inhibe la secreción de IL-6 de los fibroblastos pulmonares humanos que promueve la transformación de las células epiteliales bronquiales por el carcinógeno del humo del cigarrillo. <https://doi.org/10.1093/carcin/bgs159>.
- CORESTA, 2015. Informe técnico del grupo de trabajo sobre cigarrillos electrónicos, Cigarrillo electrónico 2014 Estudio de Parámetros de Aerosoles.
- Davis, B., Williams, M., Talbot, P., 2019. IQOS: evidencia de pirólisis y liberación de un tóxico del plástico. *Tob. Control* 28 (1), 34–41. <https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2017-054104>.
- Duell, AK, Pankow, JF, Gillette, SM, Peyton, DH., 2018. Puntos de ebullición del pro sistema de pyleneoglicol + glicerol a 1 atmósfera de presión: 188,6–292 °C sin y con adición de agua o nicotina. *química Ing. común* 205 (12), 1691–1700. <https://doi.org/10.1080/00986445.2018.1468758>.
- Farsalinos, KE, Voudris, V., Poulas, K., 2015. Los cigarrillos electrónicos generan altos niveles de aldehídos solo en condiciones de "bocanada seca". *Adicción* 110 (8), 1352–1356. <https://doi.org/10.1111/add.12942>.
- Farsalinos, KE, Voudris, V., Spyrou, A., Poulas, K., 2017. Los cigarrillos electrónicos emiten niveles de formaldehído solo en condiciones que son adversas para los usuarios: un estudio de replicación en condiciones de uso realistas verificadas. *Química alimentaria Toxicol.* 109, 90–94. <https://doi.org/10.1016/j.jfct.2017.08.044>.
- Farsalinos, KE, Yannovits, N., Sarri, T., Voudris, V., Poulas, K., 2018a. Suministro de nicotina al aerosol de un producto de tabaco que no se quema: comparación con un cigarrillo de tabaco y cigarrillos electrónicos. *Nicotina Tob. Res.* 20 (8), 1004–1009. <https://doi.org/10.1093/ntr/ntx138>.
- Farsalinos, KE, Yannovits, N., Sarri, T., Voudris, V., Poulas, K., Leischow, SJ., 2018b. Emisiones de carbonilo de un nuevo producto de tabaco calentado (IQOS): comparación con un cigarrillo electrónico y un cigarrillo de tabaco. *Adicción* 113 (11), 2099–2106. <https://doi.org/10.1111/add.14365>.
- Farsalinos, KE, Yannovits, N., Sarri, T., Voudris, V., Poulas, K., Leischow, SJ., 2018c. Emisiones de carbonilo de un nuevo producto de tabaco calentado (IQOS): comparación con un cigarrillo electrónico y un cigarrillo de tabaco. *Adicción* 113 (11), 2099–2106. <https://doi.org/10.1111/add.14365>.
- Farsalinos, K., Poulas, K., Voudris, V., 2018d. Cambios en la topografía de inhalación y el consumo de nicotina según la configuración de potencia de los cigarrillos electrónicos. *Nicotina Tob. Res.* 20 (8), 993–997. <https://doi.org/10.1093/ntr/ntx219>.
- Geiss, O., Bianchi, I., Barrero-Moreno, J., 2016. Correlación de los rendimientos de carbonilo volátil emitidos por los cigarrillos electrónicos con la temperatura de la bobina de calentamiento y la calidad sensorial percibida de los vapores generados. *En t. J. hig. Reinar. Salud* 219 (3), 268–277. <https://doi.org/10.1016/j.jjheh.2016.01.004>.
- Goniewicz, ML, Knysak, J., Gawron, M., Kosmider, L., Sobczak, A., Kurek, J., Prokopowicz, A., Jablonska-Czapla, M., Rosik-Dulewska, C., Havel, C., Jacob, P., Benowitz, N., 2014. Niveles de sustancias cancerígenas y tóxicas seleccionadas en el vapor de los cigarrillos electrónicos. *Tob. Control* 23 (2), 133–139. <https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2012-050859>.
- Haddad, C., Salman, R., El-Hellani, A., Talih, S., Shihadeh, A., Saliba, NA., 2019. Emisiones de especies reactivas de oxígeno de cigarrillos electrónicos por encima y por debajo de ohmios. *J. Anal. Toxicol.* 43 (1), 45–50. <https://doi.org/10.1093/jat/bky065>.
- Ho, SSH, Ho, KF, Liu, WD, Lee, SC, Dai, WT, Cao, JJ, IP, HSS., 2011. Inadecuación del uso del cartucho absorbente sólido recubierto con DNPH para la determinación de carbonilos insaturados en el aire. *atmósfera Reinar.* 45 (1), 261–265. <https://doi.org/10.1016/j.atmosenv.2010.09.042>.
- Hutzler, C., Paschke, M., Kruschinski, S., Henkler, F., Hahn, J., Luch, A., 2014. Riesgos químicos presentes en líquidos y vapores de cigarrillos electrónicos. *Arco. Toxicol.* 88 (7), 1295–1308. <https://doi.org/10.1007/s00204-014-1294-7>.
- IARC, 2004. *Tabaquismo - Monografías de IARC.*
- Iskandar, AR, Gonzalez-Suarez, I., Majeed, S., Marescott, D., Sewer, A., Xiang, Y., Leroy, P., Guedj, E., Mathis, C., Schaller, J.-P., Vanscheeuwijk, P., Frentzel, S., Martin, F., Ivanov, NV, Peitsch, MC, Hoeng, J., 2016. Un marco para la evaluación de toxicología de sistemas in vitro de e-liquidos. *Toxicol. mecánico Métodos* 26 (6), 389–413. <https://doi.org/10.3109/15376516.2016.1170251>.
- Ito, S., Taylor, M., Mori, S., Thorne, D., Nishino, T., Breheny, D., Gaça, M., Yoshino, K., Proctor, C., 2019. An inter-evaluación de laboratorio in vitro de cigarrillos y productos de suministro de nicotina de última generación. *Toxicol. Letón.* 315, 14–22. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2019.08.004>.
- Johnson, MD, Schilz, J., Djordjevic, MV, Rice, JR, Shields, PG., 2009. Evaluación de ensayos in vitro para evaluar la toxicidad del humo del cigarrillo y el tabaco sin humo. *Epidemiología del cáncer. Biomarca. Anterior* 18 (12), 3263–3304. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-09-0965>.
- Jones, J., Slayford, S., Gray, A., Brick, K., Prasad, K., Proctor, C., 2020. Un estudio de topografía de inhalación de categorías cruzadas, exposición a nivel de la boca y consumo entre usuarios italianos de tabaco y productos de nicotina. *ciencia Rep.* 10 (1), 1–11. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-55410-5>.
- Kalkhoran, S., Chang, Y., Rigotti, NA., 2019. Cigarrillos electrónicos y dejar de fumar en fumadores con enfermedades crónicas. *Soy. J. anterior Medicina.* 57 (6), 786–791. <https://doi.org/10.1016/j.amepre.2019.08.017>.
- Kim, JH, Sherman, ME, Curriero, FC, Guengerich, FP, Strickland, PT, Sutter, TR., 2004. Expresión de citocromos P450 1A1 y 1B1 en pulmón humano de fumadores,

- no fumadores y ex fumadores. *Toxicol. aplicación Farmacol.* 199 (3), 210–219. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2003.11.015>.
- Kopa, PN, Pawliczak, R., 2020. IQOS, un producto de tabaco que no se quema (HnB), composición química y posible impacto en el estrés oxidativo y la respuesta inflamatoria. Una revisión sistemática. *Toxicol. mecánico Métodos* 30 (2), 81–87. <https://doi.org/10.1080/15376516.2019.1669245>.
- Kosmider, L., Sobczak, A., Fik, M., Knysak, J., Zaciera, M., Kurek, J., Goniewicz, ML, 2014. Compuestos de carbonilo en los vapores de cigarrillos electrónicos: efectos del solvente de nicotina y el voltaje de salida de la batería. *Nicotina Tob. Res.* 16 (10), 1319–1326. <https://doi.org/10.1093/ntr/ntu078>.
- Lee, YO, Nonnemaker, JM, Bradfield, B., Hensel, EC, Robinson, RJ, 2018. Examen de la topografía diaria de las bocanadas de cigarrillos electrónicos entre fumadores de cigarrillos establecidos y no establecidos en su entorno natural. *Nicotina Tob. Res.* 20 (10), 1283–1288. <https://doi.org/10.1093/NTR/NTX222>.
- Leigh, NJ, Tran, PL, O'Connor, RJ, Goniewicz, ML, 2018. Efectos citotóxicos de los productos de tabaco calentados (HTP) en las células epiteliales bronquiales humanas. *Tob. Control* 27 (suplemento 1), s26–s29. <https://doi.org/10.1136/tobaccocontrol-2018-054317>.
- Lerner, CA, Sundar, IK, Watson, RM, Elder, A., Jones, R., Done, D., Kurtzman, R., Ossip, DJ, Robinson, R., McIntosh, S., Rahman, I., 2015. Peligros para la salud ambiental de los cigarrillos electrónicos y sus componentes: oxidantes y cobre en los aerosoles de cigarrillos electrónicos. *Reinar. contaminar* 198, 100–107. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2014.12.033>.
- Li, X., Luo, Y., Jiang, X., Zhang, H., Zhu, F., Hu, S., Hou, H., Hu, Q., Pang, Y., 2019. Análisis químico y pirólisis simulada del sistema de calentamiento de tabaco 2.2 en comparación con los cigarrillos convencionales. *Nicotina Tob. Res.* 21 (1), 111–118. <https://doi.org/10.1093/ntr/nty005>.
- Lino-dos-Santos-Franco, A., Correa-Costa, M., Dos Santos Durão, ACC, Ligeiro de Oliveira, AP, Breithaupt-Faloppa, AC, de A. Bertoni, J., Oliveira-Filho, RM, Câmara, NOS, Marcourakis, T., Tavares-de-Lima, W., 2011. El formaldehído induce inflamación pulmonar por un mecanismo mediado por enzimas oxidantes y antioxidantes en el tejido pulmonar. *Toxicol. Letón.* 207 (3), 278–285. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2011.09.026>.
- Malinska, D., Szymajski, J., Patalas-Krawczyk, P., Michalska, B., Wojtala, A., Prill, M., Partyka, M., Drabik, K., Walczak, J., Sewer, A., John, S., Luettich, K., Peitsch, MC, Hoeng, J., Duszyński, J., Szczepanowska, J., van der Toorn, M., Wieckowski, MR, 2018. Assessment of mitochondrial function after short - y exposición a largo plazo de células epiteliales bronquiales humanas a partículas totales de un producto de tabaco de riesgo modificado candidato y cigarrillos de referencia. *Química alimentaria Toxicol.* 115, 1–12. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.02.013>.
- Merecz-Sadowska, A., Sitarek, P., Zielinska-Blizniewska, H., Malinowska, K., Zajdel, K., Zakonnik, L., Zajdel, R., 2020. Resumen de estudios in vitro e in vivo evaluar el impacto de la exposición a los cigarrillos electrónicos en los organismos vivos y el medio ambiente. *En t. J. mol. ciencia* 21 (2). <https://doi.org/10.3390/jms21020652>. MDPI AG.
- Munakata, S., Ishimori, K., Kitamura, N., Ishikawa, S., Takanami, Y., Ito, S., 2018. Respuestas al estrés oxidativo en células epiteliales bronquiales humanas expuestas al humo del cigarrillo y al vapor de productos que contienen tabaco y nicotina. *Reg. Toxicol. Farmacol.* 99, 122–128. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2018.09.009>.
- Nelson, VA, Goniewicz, ML, Beard, E., Brown, J., Sheals, K., West, R., Shahab, L., 2015. Comparación de las características de los usuarios a largo plazo de cigarrillos electrónicos frente a la terapia de reemplazo de nicotina: una encuesta transversal de ex fumadores y fumadores actuales ingleses. *Drogas Alcohol Depend.* 153, 300–305. <https://doi.org/10.1016/j.drugaalcdp.2015.05.005>.
- Rodgman, A., Smith, CJ, Perfetti, TA, 2000. La composición del humo del cigarrillo: un retrospectivo, con énfasis en los componentes policíclicos. *Tarrear. Exp. Toxicol.* 19 (10), 573–595. <https://doi.org/10.1191/096032700701546514>.
- Sacks, PG, Zhao, Z.-L., Kosinska, W., Fleisher, KE, Gordon, T., Guttenplan, JB, 2011. Efectos dependientes de la concentración de partículas de tabaco de diferentes tipos de cigarrillos sobre la expresión de proteínas metabolizadoras de fármacos y el metabolismo del benzo(a)pireno en células epiteliales orales humanas normales primarias. *Química alimentaria Toxicol.* 49 (9), 2348–2355. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2011.06.037>.
- Schaller, J.-P., Keller, D., Poget, L., Pratte, P., Kaelin, E., McHugh, D., Cudazzo, G., Smart, D., Tricker, AR, Gautier, L., Yerly, M., Reis Pires, R., Le Bouhellec, S., Ghosh, D., Hofer, I., García, E., Vanscheeuwijck, P., Maeder, S., 2016a. Evaluación del Sistema de Calentamiento de Tabaco 2.2. Parte 2: Composición química, genotoxicidad, citotoxicidad y propiedades físicas del aerosol. *Toxicología y farmacología reglamentarias: RTP*, 81 Suppl 2, S27–S47. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2016.10.001>.
- Schaller, J.-P., Pijnenburg, JPM, Ajithkumar, A., Tricker, AR, 2016b. Evaluación del Sistema de Calentamiento de Tabaco 2.2. Parte 3: influencia de la mezcla de tabaco en la formación de componentes nocivos y potencialmente nocivos del sistema de calentamiento del tabaco 2.2 en aerosol. *Toxicología y farmacología reglamentarias: RTP*, 81 Suppl 2, S48–S58. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2016.10.016>.
- Scheffler, S., Dieken, H., Krischenowski, O., Förster, C., Branscheid, D., Auferheide, M., 2015. Evaluación del vapor líquido del cigarrillo electrónico y el humo del cigarrillo convencional después de la exposición directa de bronquios humanos primarios. células epiteliales. *En t. J. Medio Ambiente. Res. Salud Pública* 12 (4), 3915–3925. <https://doi.org/10.3390/jerph120403915>.
- Seeman, JI, Dixon, M., Haussmann, HJ, 2002. Acetaldehído en la corriente principal del tabaco humo: formación y aparición en el humo y biodisponibilidad en el fumador. *química Res. Toxicol.* 15 (11), 1331–1350. <https://doi.org/10.1021/tx020069f>.
- Sekine, T., Hirata, T., Mine, T., Fukano, Y., 2016. Activación de factores de transcripción en células epiteliales bronquiales humanas expuestas a extractos acuosos de humo de cigarrillo convencional in vitro. *Toxicol. mecánico Métodos* 26 (1), 22–31. <https://doi.org/10.3109/15376516.2015.1123788>.
- Sewer, A., Kogel, U., Talikka, M., Wong, ET, Martin, F., Xiang, Y., Guedj, E., Ivanov, NV, Hoeng, J., Peitsch, MC, 2016. Evaluación del sistema de calentamiento de tabaco 2.2 (THS2.2). Parte 5: la expresión de microARN de un estudio de inhalación de ratas de 90 días indica que la exposición al aerosol THS2.2 causa efectos reducidos en el tejido pulmonar en comparación con humo de cigarro. *Reg. Toxicol. Farmacol.* 81, S82–S92. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2016.11.018>.
- Shields, PG, Berman, M., Brasky, TM, Freudenheim, JL, Mathe, E., McElroy, JP, Song, MA, Wewers, MD, 2017. Una revisión de la toxicidad pulmonar de los cigarrillos electrónicos en el contexto del tabaquismo: un enfoque en la inflamación. *Epidemiología del cáncer. Biomarca. Anterior* 26 (8), 1175–1191. <https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-17-0358>. Asociación Americana para la Investigación del Cáncer Inc.
- Singh, KP, Lawyer, G., Muthumalage, T., Maremanda, KP, Khan, NA, McDonough, SR, Ye, D., McIntosh, S., Rahman, I., 2019. Biomarcadores sistémicos en usuarios de cigarrillos electrónicos: implicaciones para la evaluación no invasiva de las lesiones pulmonares asociadas al vapo. *ERJ Res. Abierta.* 5 (4). <https://doi.org/10.1183/23120541.00182-2019>. 00182–02019.
- Sleiman, M., Logue, JM, Montesinos, VN, Russell, ML, Litter, MI, Gundel, LA, Destailats, H., 2016. Emisiones de cigarrillos electrónicos: parámetros clave que afectan la liberación de sustancias químicas nocivas. *Reinar. ciencia Tecnología* 50 (17), 9644–9651. <https://doi.org/10.1021/acs.est.6b01741>.
- Smith, MR, Clark, B., Lüdicke, F., Schaller, JP, Vanscheeuwijck, P., Hoeng, J., Peitsch, MC, 2016. Evaluación del sistema de calentamiento de tabaco 2.2. Parte 1: descripción del sistema y del programa de evaluación científica. *Reg. Toxicol. Farmacol.* 81, S17–S26. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2016.07.006>.
- Sohal, SS, Eapen, MS, Naidu, VGM, Sharma, P., 2019. La exposición a IQOS afecta la homeostasis de las células de las vías respiratorias humanas: comparación directa con el cigarrillo tradicional y el cigarrillo electrónico. *ERJ Res. Abierta.* 5 (1), 00159–02018. <https://doi.org/10.1183/23120541.00159-2018>.
- Son, Y., Mishin, V., Laskin, JD, Mainelis, G., Wackowski, OA, Delveo, C., Schwander, S., Klystov, A., Samburova, V., Meng, Q., 2019. Radicales hidroxilo en vapor de cigarrillo electrónico y potenciales oxidativos de vapor E bajo diferentes patrones de vapo. *química Res. Toxicol.* 32 (6), 1087–1095. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.8b00400>.
- Staal, YC, van de Nobelen, S., Havermans, A., Talhout, R., 2018. Nuevos productos relacionados con el tabaco y el tabaco: detección temprana del desarrollo de productos, estrategias de marketing e interés del consumidor. *Vigilancia de Salud Pública JMIR.* 4 (2), e55. <https://doi.org/10.2196/publichealth.7359>.
- Stead, LF, Perera, R., Bullen, C., Mant, D., Hartmann-Boyce, J., Cahill, K., Lancaster, T., 2012. Terapia de reemplazo de nicotina para dejar de fumar. *Sistema de base de datos Cochrane. Rev.* 2017 (12). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD000146.pub4>. John Wiley and Sons Ltd.
- Sun, Y.-W., Kosinska, W., Guttenplan, JB, 2019. El condensado de aerosol de cigarrillos electrónicos mejora el metabolismo del benzo(a)pireno a productos genotóxicos e induce CYP1A1 y CYP1B1, probablemente mediante la activación del receptor de hidrocarburo de arilo. *En t. J. Medio Ambiente. Res. Salud Pública* 16 (14). <https://doi.org/10.3390/jerph16142468>.
- Talih, S., Balhas, Z., Eissenberg, T., Salman, R., Karaoghlianian, N., El Hellani, A., Baalbaki, R., Saliba, N., Shihadeh, A., 2015. Efectos de la topografía de la calada del usuario, el voltaje del dispositivo y la concentración de nicotina líquida en el rendimiento de nicotina del cigarrillo electrónico: mediciones y predicciones del modelo. *Nicotina Tob. Res.* 17 (2), 150–157. <https://doi.org/10.1093/ntr/ntu174>.
- Talih, S., Balhas, Z., Salman, R., Karaoghlianian, N., Shihadeh, A., 2016. Goteo directo: un método de uso de cigarrillos electrónicos de alta temperatura y alta emisión de formaldehído. *Nicotina Tob. Res.* 18 (4), 453–459. <https://doi.org/10.1093/ntr/ntv080>.
- Uchiyama, S., Noguchi, M., Sato, A., Ishitsuka, M., Inaba, Y., Kunugita, N., 2020. Determinación de productos de descomposición térmica generados por cigarrillos electrónicos. *química Res. Toxicol.* 33 (2), 576–583. <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.9b00410>.
- van der Toorn, M., Frentzel, S., De Leon, H., Goedertier, D., Peitsch, MC, Hoeng, J., 2015. El aerosol de un producto de tabaco de riesgo modificado candidato tiene efectos reducidos sobre la quimiotaxis y la migración transendotelial en comparación con la combustión de cigarrillos convencionales. *Química alimentaria Toxicol.* 86, 81–87. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2015.09.016>.
- Wang, G., Liu, W., Song, W., 2019. Evaluación de la toxicidad de los cigarrillos electrónicos. *Inhala. Toxicol.* 31 (7), 259–273. <https://doi.org/10.1080/08958378.2019.1671558>. Taylor y Francis Ltd.
- OMS, 2019. Informe de la OMS sobre la epidemia mundial de tabaquismo. Laboratorio de Tabaco de la OMS, 2012. OMS SOP 01 Procedimiento Operativo Estándar para Fumar Cigarrillos Intensamente. Organización Mundial de la Salud, Ginebra, Suiza.
- Wong, ET, Kogel, U., Veljkovic, E., Martin, F., Xiang, Y., Boue, S., Vuillaume, G., Leroy, P., Guedj, E., Rodrigo, G., Ivanov, NV, Hoeng, J., Peitsch, MC, Vanscheeuwijck, P., 2016. Evaluación del sistema de calentamiento de tabaco 2.2. Parte 4: El estudio de inhalación de ratas OECD 413 de 90 días con puntos finales de toxicología de sistemas demuestra efectos de exposición reducidos en comparación con el humo del cigarrillo. *Reg. Toxicol. Farmacol.* 81 (Suplemento 2), S59–S81. <https://doi.org/10.1016/j.yrtph.2016.10.015>.
- Woodward, M., Tunstall-Pedoe, H., 1993. Autovaloración de la nicotina: evidencia de la Estudio Escocés de Salud del Corazón. *Adicción* 88 (6), 821–830. <https://doi.org/10.1111/j.1360-0443.1993.tb02096.x>.
- Zhang, S., Zhang, J., Chen, H., Wang, A., Liu, Y., Hou, H., Hu, Q., 2019. C toxicidad combinada de la coexposición a mezclas de aldehídos en bronquios humanos células epiteliales BEAS 2B. *Reinar. contaminar (Barking, Essex: 1987)* 250, 650–661. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.03.118>.
- Zhao, J., Zhang, Y., Sisler, JD, Shaffer, J., Leonard, SS, Morris, AM, Qian, Y., Bello, D., Demokritou, P., 2018. Evaluación de especies reactivas de oxígeno generadas por cigarrillos electrónicos utilizando enfoques acelulares y celulares. *J. Peligro. Mate.* 344, 549–557. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2017.10.057>.
- Zhao, D., Navas-Acien, A., Ilievski, V., Slavkovich, V., Olmedo, P., Adria-Mora, B., Domingo-Relloso, A., Aherrera, A., Kleiman, NJ, Rule, AM, Hipert, M., 2019. Concentraciones de metales en el aerosol de cigarrillos electrónicos: efecto de los dispositivos de sistema abierto y cerrado y los ajustes de potencia. *Reinar. Res.* 174, 125–134. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.04.003>.