

FATTORI DI RISCHIO

RISCHIO DI ATEROSCLEROSI ASSOCIATO ALLE SIGARETTE ELETTRONICHE ED AL TABACCO RISCALDATO: UN PERICOLO DA NON SOTTOVALUTARE

Risk of atherosclerosis associated with E-Cigarettes and heated tobacco: a danger not to be underestimated

**ARIANNA MAGNA*, NAUSICA POLISENA*, LUDOVICA POLISENA*,
CHIARA BAGNATO, LORENZO LOFFREDO**

*Dipartimento di Scienze Cliniche Internistiche, Anestesiologiche e Cardiovascolari, Sapienza Università di Roma
Gli Autori hanno contribuito in modo uguale alla stesura dell'articolo

SUMMARY

In the current scientific landscape, the debate concerning the safety of electronic cigarettes and heated tobacco has gained considerable relevance. Initially considered as a potentially less harmful alternative to traditional tobacco, recent scientific evidence has raised serious concerns regarding the risks associated with the use of such products, especially in relation to atherosclerosis. Atherosclerosis, a condition characterized by inflammation of the arteries and the accumulation of lipids and macrophages in their walls, poses a significant risk to cardiovascular health. Traditionally associated with conventional tobacco smoking, recent scientific research has suggested that electronic cigarettes and heated tobacco could contribute to the development of this atherosclerosis and cardiovascular complications. One of the main effects of these products concerns their pro-thrombotic and pro-atherosclerotic impact on endothelial cells and platelets, favoring inflammatory processes within the arteries. Additionally, chemical substances present in electronic cigarette liquids could contribute to inflammation and endothelial dysfunction. While electronic cigarettes and heated tobacco may appear as a less harmful alternative to traditional tobacco, they still present significant risks to cardiovascular health. It is crucial to promote greater awareness of the potential risks associated with these products and to adopt measures to protect public health, especially among young people. Underestimating these risks could have serious consequences for both individual health and the sustainability of healthcare systems.

Keywords: *Smoking, heated tobacco, e-cigarettes, atherosclerosis, cardiovascular risk, oxidative stress.*

Indirizzo per la corrispondenza

Lorenzo Loffredo

lorenzo.loffredo@uniroma1.it

Introduzione

Negli ultimi anni, il dibattito sulla sicurezza delle sigarette elettroniche e del tabacco riscaldato ha assunto un ruolo sempre più centrale nella letteratura scientifica (1). Se inizialmente queste forme alternative al tabacco convenzionale erano percepite come una potenziale via d'uscita per i fumatori, le evidenze scientifiche recenti hanno iniziato a sollevare preoccupazioni significative riguardo ai rischi associati all'uso di questi prodotti, in particolare per quanto riguarda l'aterosclerosi (1).

L'aterosclerosi è una condizione patologica caratterizzata da infiammazione delle arterie ed accumulo di lipidi e macrofagi nelle sue pareti. I fattori di rischio classici cardiovascolari, in primis il fumo di sigaretta e colesterolo ma anche diabete, l'ipertensione arteriosa e l'obesità possono favorire l'insorgenza di tale processo patologico sin dalla più precoce età (2). Nel tempo, l'aterosclerosi può portare a gravi complicanze cardiovascolari come infarto del miocardio, ictus cerebri e morte improvvisa (2).

Sebbene l'aterosclerosi sia tradizionalmente associata al fumo di tabacco convenzionale, ricerche recenti hanno suggerito che anche le sigarette elettroniche e il tabacco riscaldato potrebbero contribuire allo sviluppo di questa condizione (3).

Uno dei principali effetti delle sigarette elettroniche e del tabacco riscaldato riguarda il suo effetto pro-trombotico e pro-aterosclerotico su cellule endoteliali e piastrine, favorendo processi infiammatori a carico delle arterie. Inoltre, alcuni studi suggeriscono che i composti chimici presenti nei liquidi delle sigarette elettroniche potrebbero contribuire all'infiammazione e alla disfunzione endoteliale (3-5). In considerazione del sempre più diffuso utilizzo, soprattutto tra i più giovani, di sigarette elettroniche ed a tabacco riscaldato, scopo di questo articolo è di analizzare i potenziali effetti di questi prodotti su aterosclerosi e conseguenziale rischio cardiovascolare.

Epidemiologia

Il consumo di tabacco rappresenta uno dei principali fattori di rischio soprattutto per le malattie cardiovascolari a livello mondiale (6). Si stima che ogni anno più di 7 milioni di persone muoiono a causa dei danni derivati dal fumo di tabacco, equivalente a circa una morte ogni 6 secondi (6). Circa 5-7 milioni sono direttamente attribuibili a fumatori, mentre oltre 1 milione di questi decessi sono causati dall'esposizione passiva al fumo (6). A livello globale, oltre il 40% dei bambini ha almeno un genitore fumatore (6).

In Italia, l'abitudine al tabagismo coinvolge approssimativamente una persona su quattro, con una prevalenza più alta nelle regioni del Centro-Sud e nel sesso maschile, con un'età media di 46.7 anni (7).

Con l'introduzione sul mercato di sigarette elettroniche e tabacco riscaldato, c'è stato un progressivo aumento nell'utilizzo di questi prodotti, specialmente tra i giovani tra i 18 e i 34 anni (7). Secondo le stime dell'OMS, circa il 6% degli adolescenti tra i 13 e i 15 anni è fumatore, con una prevalenza superiore in Europa rispetto al resto del mondo (7.8%), e un tasso più elevato in Italia (19.8%). Al contrario, l'utilizzo è significativamente più basso nella popolazione anziana, con solo lo 0.8% nella fascia di età superiore ai 65 anni. Per quanto riguarda i prodotti di nuova generazione, nel 2021 il 2.8% della popolazione sopra i 14 anni ha dichiarato di utilizzare sigarette elettroniche, mentre il 2.1% prodotti a tabacco riscaldato (7). Inoltre, circa un consumatore su quattro ha dichiarato di utilizzare sia sigarette elettroniche che sigarette a tabacco riscaldato (7).

Per quanto riguarda l'esposizione al fumo passivo, si è verificata una significativa diminuzione in Europa nel 2018, passando dal 53.7% al 38% (7). Tuttavia, tra gli adolescenti tra i 13 e i 15 anni, l'esposizione passiva al fumo rimane ancora diffusa, soprattutto in casa e nell'ambito scolastico (8).

Questi dati epidemiologici sottolineano l'im-

portanza di attuare con urgenza strategie mirate a ridurre soprattutto tra i giovani il sempre più dilagante uso di sigarette per evitare complicanze future sulla salute.

Sigaretta elettronica

La sigaretta elettronica (e-cig o ENDS, Electronic Nicotine Delivery Systems) è composta da quattro parti:

- Il “mouthpiece” (boccaglio) che viene poggiato sulle labbra e consente l’aspirazione del vapore.
- La “cartridge” (cartuccia) che contiene l’e-liquid, composto da nicotina, a diverse concentrazioni disponibili o privo, glicole propilenico, glicerolo, aromi e altri additivi.
- L’“atomizer” (atomizzatore) che riscalda l’e-liquid fino alla sua completa evaporazione.
- La “rechargeable battery” (batteria ricaricabile) che può essere azionata tramite un pulsante o automaticamente tramite aspirazione.

Introdotte in Europa a partire dal 2006, le sigarette elettroniche vengono comunemente considerate un’alternativa meno dannosa al fumo di sigaretta tradizionale poiché evitano la combustione del tabacco. Numerosi studi hanno però evidenziato che il vapore prodotto da tali dispositivi elettronici, anche se associato a minori effetti collaterali, può provocare alterazioni respiratorie e cardiovascolari sia a breve che a lungo termine (9).

L’aerosol prodotto con l’evaporazione dell’e-liquid è costituito dalle sostanze contenute nel liquido, quali glicole propilenico, nicotina e aromi; tuttavia contiene sostanze prodotte de novo come ossido di propilene, acroleina, acetaldeide, formaldeide, acetammide e metalli (come argento, rame e nichel) e particelle di silicato, che sono sostanze con un dimostrato effetto dannoso sull’uomo (9). Uno studio sull’uomo ha infatti dimostrato significativi aumenti dei metaboliti urinari di acroleina, ossido di propilene, acrilammide e acrilonitrile nei fumatori di e-cig (10). Anche alcuni aromi degli e-liquids

sembrano avere effetti dannosi sulla salute. È stato dimostrato ad esempio un effetto citotossico sul sistema respiratorio di aromi quali cinnamaldeide, 2-metossi-cinnamaldeide, O-vanillina e pentanedione (11). Infine anche la composizione dell’atomizzatore sembra avere un’influenza sull’effetto tossico di questi dispositivi: atomizzatori in acciaio sembrano non causare difficoltà respiratorie acute in studi su modelli murini rispetto quelli in leghe di nichel-cromo (9).

Sigaretta a tabacco riscaldato

Da alcuni anni è stata introdotta sul mercato la sigaretta a tabacco non bruciato (Heat-not-burn cigarette – HNBC) come nuova tecnologia di fumo. I dispositivi a tabacco non bruciato sono composti da 3 elementi: l’heatstick, il supporto e il caricatore. L’heatstick è costituito da piccoli foglietti di tabacco composti di tabacco per il 70%, acqua, glicina, che è un agente umidificante che favorisce la formazione dell’aerosol, e aromi, e un filtro, necessario per il raffreddamento dell’aerosol. Al momento dell’uso l’heatstick viene inserito nel supporto che contiene una lama elettronica che riscalda la miscela di tabacco ad una temperatura di circa 350° che determina l’essiccazione del tabacco, l’evaporazione dei prodotti volatili come la nicotina e la decomposizione termochimica del tabacco (torrefazione/pirolisi a basse temperature) senza generazione di particelle solide (12). Il processo di riscaldamento è poi regolato dal supporto e termina automaticamente dopo un intervallo di tempo o un numero di puff definito, al fine di prevenire il processo di pirolisi (12). Le temperature inferiori di questi dispositivi permettono quindi di rilasciare nicotina e altri composti volatili, senza ricorrere al processo di combustione, tipico delle sigarette tradizionali. La combustione della sigaretta tradizionale è divisa in due zone: una zona di combustione esotermica, che determina una produzione di calore di 700-900° C e una zona di pirolisi, che è una zona a basse concentrazioni di

ossigeno, con temperature di 200-600°C, in cui vengono prodotti, attraverso meccanismi endotermici, la maggior parte dei prodotti derivanti dalla combustione del tabacco (12). Le sigarette a tabacco riscaldato sono state introdotte sul mercato come alternativa meno dannosa al fumo di sigaretta tradizionale in quanto, attraverso il riscaldamento del tabacco a temperature massime di 350°, genererebbero un aerosol senza la combustione esotermica tipica delle sigarette tradizionali, evitando i processi di pirolisi, responsabili della produzione della maggior parte dei componenti nocivi e potenzialmente dannosi del tabacco (12-14). Studi successivi all'introduzione sul mercato di questi prodotti, tuttavia, hanno dimostrato che le temperature a cui le HNBC generano l'aerosol, ovvero fino a 320-350°C, siano sufficienti a determinare gli stessi processi endotermici pirolitici delle sigarette tradizionali (15). Nell'aerosol di questi nuovi prodotti è stata rilevata la presenza di molteplici sostanze dannose per l'uomo, quali acroleina, aldeidi, metalli e prodotti derivati da processi pirolitici, come nitrosammine specifiche del tabacco (TSNA) e idrocarburi policiclici aromatici (12). Questo dovrebbe far riconsiderare il concetto di aerosol senza fumo associato all'utilizzo di questi dispositivi. Studi futuri dovranno valutare l'eventuale danno sulla salute delle HNBC provocato dall'esposizione cronica di queste sostanze.

Effetti del fumo sull'endotelio

È ben nota l'associazione tra fumo e patologia cardiovascolare; tuttavia i meccanismi fisiopatologici sono complessi e solo parzialmente caratterizzati. Uno dei meccanismi patogenetici proposti è rappresentato dalla disfunzione endoteliale. La disfunzione endoteliale è un importante parametro di danno cardiovascolare ed è considerato un indice predittivo precoce di eventi cardiovascolari e di prognosi cardiovascolare nei fumatori (16).

La misurazione della disfunzione endoteliale

nell'uomo può essere determinata in modo non invasivo tramite la metodica ecografica della flow-mediated dilation (FMD) (17). In seguito ad uno stimolo ischemico transitorio, come l'insufflazione di una cuffia sfigmomanometrica a livelli sopra-sistolici sull'avambraccio, il flusso sanguigno dell'arteria brachiale aumenta in risposta all'ischemia acuta (17). Le cellule endoteliali sane infatti rilasciano fattori, tra cui ossido nitrico (NO), che mediano il rilassamento della muscolatura liscia e provocano una vasodilatazione acuta misurabile attraverso tecnica ultrasonografica (18). In condizioni di disfunzione endoteliale, si ha una ridotta biodisponibilità di NO che contribuisce a ridurre la vasodilatazione e quindi i valori di FMD (20, 22). Cellule endoteliali funzionali sono quindi fondamentali per regolare il tono vascolare, l'infiammazione e l'aggregazione piastrinica (20). L'azione vasodilatatoria delle molecole rilasciate dall'endotelio ha un effetto anti-aterosclerotico e antiaggregante, che sono i meccanismi alla base della formazione della patologia aterosclerotica; la riduzione dei valori di FMD è infatti associata ad un aumentato rischio di eventi cardiovascolari (16).

I meccanismi fisiopatologici alla base della disfunzione endoteliale secondaria al fumo di tabacco sono complessi. Un ruolo fondamentale sembra essere occupato dallo stress ossidativo con aumento di produzione di specie reattive dell'ossigeno (ROS) e riduzione della biodisponibilità di NO (19, 20). L'aumentata concentrazione di ROS in vivo è causata sia da una frazione inalata con il fumo di tabacco e assorbita a livello polmonare, sia da una produzione endogena (*Figura 1*). Tra le principali fonti endogene di ROS vi è la nicotinamide adenina dinucleotide fosfato ossidasi (NADPH-ossidasi (NOX)), proteina multimerica di membrana che catalizza il trasferimento di elettroni dall'NADPH citoplasmatica all'ossigeno molecolare con conseguente formazione di anioni superossido (O₂⁻) che reagiscono con l'NO per formare perossido nitrico, specie fortemente in-

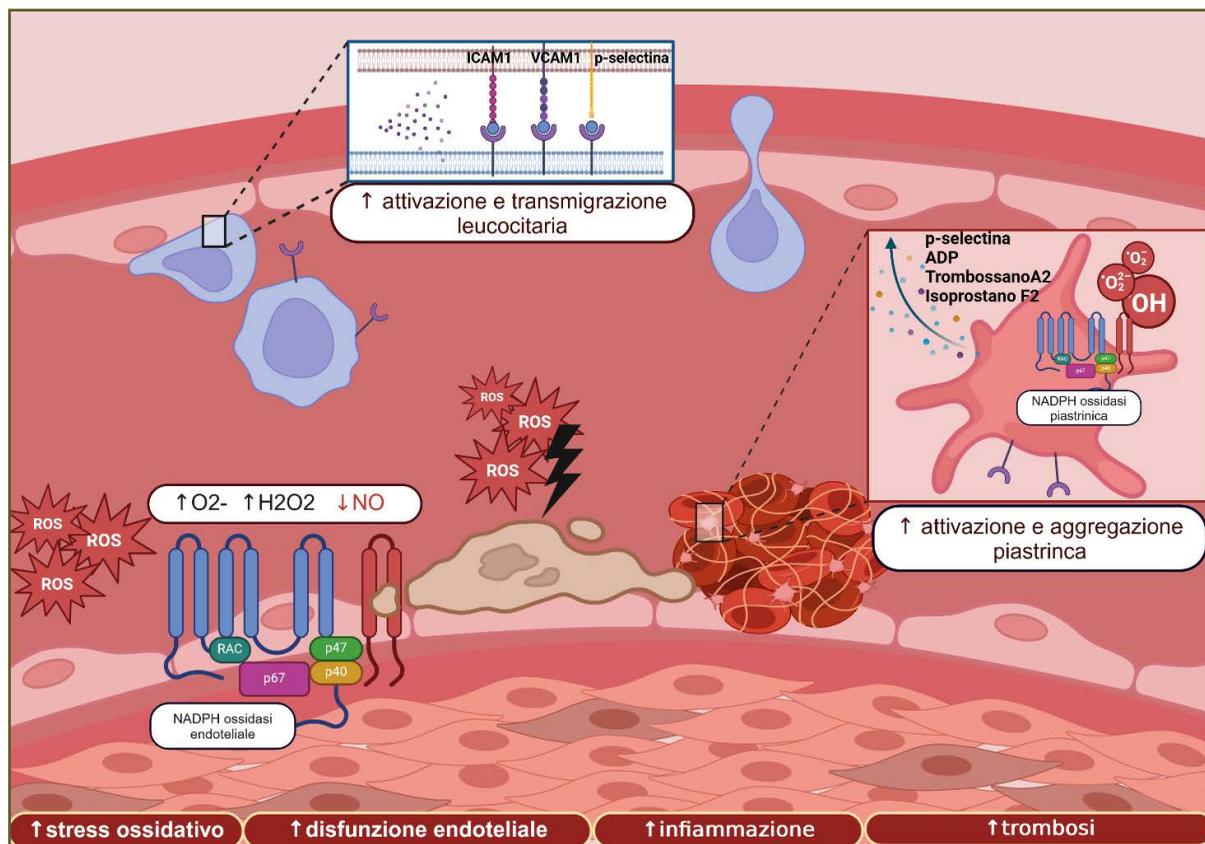


Figura 1 - Effetti del fumo sulla funzione endoteliale. Il fumo causa un'aumentata concentrazione di ROS in circolo sia per la frazione inalata e assorbita a livello polmonare sia per una produzione endogena. Tra le principali fonti endogene di ROS vi è la nicotinamide adenina dinucleotide fosfato ossidasi (NADPH-ossidasi (NOX)), proteina multi-metrica di transmembrana, presente sia nelle cellule endoteliali che a livello piastrinico, che catalizza il trasferimento di elettroni dall'NADPH citoplasmatica all'ossigeno molecolare con conseguente formazione di O_2^- e H_2O_2 , conseguente riduzione di NO e aumento dello stress ossidativo. Il fumo inoltre induce la transmigrazione di leucociti attivati aumentando l'espressione di molecole di adesione (ICAM1, VCAM1, E-selectina) sulle cellule endoteliali. Il fumo inoltre favorisce l'attivazione piastrinica con conseguente secrezione piastrinica di molecole quali p-selectina, ADP, trombossano A2 e isoprostanolo F2 che amplificano l'attivazione piastrinica e ne favoriscono l'aggregazione. Questi meccanismi determinano un danno endoteliale e contribuiscono a modificare il fenotipo endoteliale dal fisiologico stato antitrombotico ad uno stato protrombotico e proinfiammatorio che favorisce il processo aterosclerotico.

stabile che può a sua volta generare altri ROS. Il fumo di tabacco e l'esposizione a sostanze quali chetoni e aldeidi, come l'acroleina e la crotonaldeide, riscontrabili nel fumo di sigaretta tradizionale ma anche nei prodotti di nuova generazione, possono indurre un'attivazione della NOX e causare quindi un'aumentata produzione endogena di ROS (21, 22). Altri meccanismi di produzione endogena di ROS sono l'au-

mentata attività della xantina ossidasi e la scissione e inattivazione dell'ossido nitrico sintetasi endoteliale (eNOS) (23). Il fumo induce inoltre la produzione di ROS da parte dei leucociti e favorisce la transmigrazione di leucociti attivati aumentando l'espressione di molecole di adesione (ICAM1, VCAM1, E-selectina) e inducendo la trascrizione di NF- κ B, contribuendo così ad una modifica del fenotipo endoteliale dal fi-

siologico stato antitrombotico ad uno stato pro-trombotico e proinfiammatorio (24-27, 28).

Studi *in vitro* hanno valutato gli effetti del fumo di sigaretta tradizionale e dei prodotti di nuova generazione (sigaretta elettronica e HNBC) sulla funzione endoteliale. Giebe et al. (29, 30) in due studi hanno rilevato una compromissione significativa della vitalità cellulare e della capacità di riparazione del danno endoteliale solo nel caso di sigaretta tradizionale; anche lo stress ossidativo sembrava essere maggiore in presenza di estratto di sigaretta tradizionale. Ciò che si osservava, invece, anche in colture esposte ad estratti di HNBC e sigaretta elettronica, seppur in minor misura rispetto alla sigaretta tradizionale, era un aumento della capacità di adesione dei monociti alle cellule endoteliali e un aumento dell'espressione e della sintesi di geni e proteine pro-infiammatorie (29, 30). Un altro studio *in vitro* ha confrontato gli effetti del fumo di sigaretta tradizionale e del fumo da HNBC sulla funzione endoteliale valutando tre dispositivi di HNBC con temperature crescenti di riscaldamento del tabacco (200 °C, 240 °C e 300-350 °C). Sebbene la citotossicità rilevata nelle cellule endoteliali esposte a fumo di sigaretta tradizionale fosse maggiore di quello indotto da HNBC, i dispositivi a temperature di riscaldamento maggiori presentavano un aumento della fase particolata del fumo, caratterizzata dalla maggior presenza di composti carbonili citotossici, con conseguente riduzione dell'attività metabolica mitocondriale delle cellule endoteliali e ad una riduzione dell'attività della eNOS (31). Anche determinati aromi delle sigarette elettroniche sembrano associarsi ad un'augmentata disfunzione endoteliale. In uno studio recente su cellule endoteliali di aorta, basse concentrazioni di vanillina, mentolo, cinnamaldeide, eugenolo ed acetilpirazina inducevano un'augmentata produzione di ROS e di mediatori proinfiammatori e una riduzione della biodisponibilità di NO (32).

Per quanto riguarda gli effetti cronici vi sono pochi dati. Un recente studio è andato a valuta-

re l'effetto *in vitro* dell'esposizione cronica di cellule endoteliali al fumo di sigaretta elettronica rilevando un grado di disfunzione endoteliale comparabile a quello riscontrato nell'esposizione cronica a fumo di sigaretta tradizionale (33). Le cellule esposte a fumo di sigaretta elettronica inoltre presentavano un'augmentata permeabilità microvascolare con aumento di ICAM-1, molecola che promuove il reclutamento leucocitario, e S100A8, ligando che induce l'attività del recettore RAGE (Receptor for Advanced Glycation End products) e che gioca un ruolo nella migrazione transendoteliale e nella permeabilità cellulare (33).

L'effetto acuto e cronico del fumo da tabacco di nuova generazione è stato valutato anche in studi preclinici su modelli murini in cui l'esposizione, sia in forma di singola inalazione, sia a breve termine che in cronico (fino a 8 mesi), ha dimostrato determinare un'alterazione della funzione endoteliale simile a quella indotta dal fumo di sigaretta tradizionale (34-36). Questo effetto è stato confermato anche confrontando tra loro diverse tipologie di fumo da prodotti di nuova generazione (es. HNBC, sigaretta elettronica), diversi aromi e in presenza o in assenza di nicotina. L'esposizione acuta ad una singola sessione di una qualsiasi tipologia di aerosol determinava un'alterazione dell'FMD nel modello murino pari a quella causata da fumo di sigaretta tradizionale (37).

Recenti studi clinici hanno mostrato dati in linea con quanto rilevato *in vitro* ed *ex-vivo*. Uno studio ha confrontato l'effetto acuto del fumo di tabacco tradizionale con quello da sigaretta elettronica valutando funzione endoteliale, stress ossidativo e livelli di vitamina E di fumatori e non fumatori. Entrambe le tipologie di fumo erano associate ad elevati marker di stress ossidativo, riduzione di FMD, ridotti livelli di NO e vitamina E, in assenza di una differenza statisticamente significativa tra tabacco tradizionale e sigaretta elettronica (38). Un altro studio ha misurato progenitori cellulari endoteliali e microvescicole, come marker di dan-

no endoteliale, in giovani volontari sani in seguito ad un'esposizione a breve termine di fumo di sigaretta elettronica (43). In soggetti sani, l'inalazione di 10 puff di vapore di sigaretta elettronica determinava un aumento di progenitori endoteliali della stessa entità di quello indotto dalle sigarette tradizionali (39). Un altro studio recente ha valutato la disfunzione endoteliale indotta da sigarette elettroniche misurando i valori di ossido nitrico in tre diverse popolazioni di giovani (fumatori esclusivamente di sigarette

elettroniche da più di un anno, fumatori di solo tabacco tradizionale da più di un anno e non fumatori). Un dato interessante emerso è stato che a parità di livelli di cotinina, quindi in assenza di differenze nell'entità di fumo, i livelli circolanti di ossido nitrico erano inferiori nei soggetti fumatori di sigarette elettroniche rispetto ai fumatori di sigarette tradizionali in modo statisticamente significativo (40). La disfunzione endoteliale indotta da sigaretta elettronica sembrerebbe verificarsi però anche in assenza di

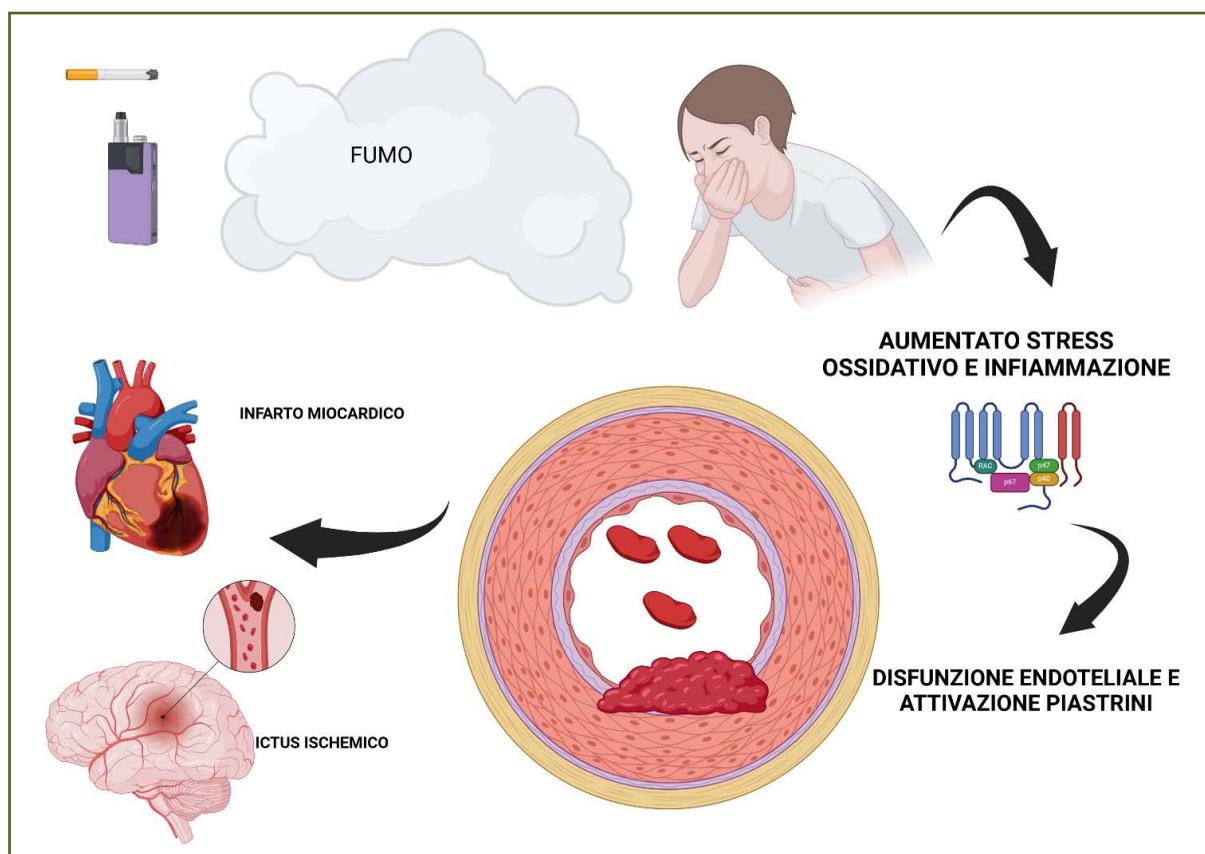


Figura 2 - Effetto cardiovascolare del fumo di sigaretta elettronica e HNBC. L'inalazione sia attiva che passiva di fumo di sigaretta elettronica e di Heat-not-burn cigarette (HNBC) determina un aumentato stress ossidativo e stato infiammatorio con conseguente attivazione piastrinica e disfunzione endoteliale, meccanismi alla base della patologia aterosclerotica. Sia nell'adulto fumatore di prodotti di nuova generazione che nel bambino esposto al fumo passivo è stato dimostrato un aumento del rischio cardiovascolare con aumento del rischio di patologia coronarica e di ictus. In particolare nel bambino l'esposizione a fumo passivo di sigaretta elettronica e HNBC sembra determinare sia un effetto cardiovascolare diretto determinando un aumento di stress ossidativo, disfunzione endoteliale e attivazione piastrinica, sia un effetto cardiovascolare indiretto attraverso lo stato infiammatorio cronico associato alla patologia asmatica spesso conseguenza dell'esposizione al fumo nel bambino.

nicotina. Caporale et al. hanno dimostrato infatti un'alterazione dei parametri di funzionalità microvascolare e macrovascolare, valutati tramite risonanza magnetica (RM) di vari distretti vascolari, dopo inalazione di sigarette elettroniche prive di nicotina in una popolazione giovani sani non fumatori (41).

Vi è un numero ancora limitato di studi clinici sugli effetti del fumo da HNBC. Uno studio cross-sectional, randomizzato ha confrontato gli effetti acuti dell'uso di sigarette HNBC con quelli di sigarette elettroniche e tradizionali dimostrando che l'uso singolo di qualsiasi prodotto si associava ad effetti avversi acuti su stress ossidativo, funzione piastrinica, FMD e pressione arteriosa, sebbene HNBC e sigaretta elettronica in misura minore rispetto alla sigaretta tradizionale (42). Anche il fumo passivo da HNBC non è esente da rischi. Come dimostrato in un altro recente studio in cui sono stati valutati parametri di stress ossidativo, disfunzione endoteliale e attivazione piastrinica in 78 bambini suddivisi in base alla tipologia di fumo passivo a cui erano esposti (di HNBC, di sigaretta tradizionale e controlli). I bambini esposti a fumo passivo, sia da HNBC che tradizionale, mostravano aumentata attività di NOX2, valori sierici di H₂O₂, isoprostani e P-selectina aumentati e riduzione invece di FMD e NO in modo statisticamente significativo rispetto ai controlli, senza una differenza significativa tra le due tipologie di fumo. L'esposizione al fumo passivo da HNBC determinerebbe un aumento dello stress ossidativo, disfunzione endoteliale e attivazione piastrinica con maggior rischio di formazione di trombi nei bambini (43).

Vi sono ancora pochi dati invece sugli effetti dell'utilizzo cronico delle sigarette elettroniche e delle HNBC. Mohammadi et al. (33) hanno valutato la funzione endoteliale in fumatori cronici di sigarette elettroniche e di tabacco tradizionale. Sia i fumatori di sigarette tradizionali che di sigarette elettroniche mostravano alterazioni nei marker di infiammazione, adesione cellulare e trombotici. I fumatori di sigarette elet-

troniche presentavano, rispetto ai controlli, valori ridotti di FMD, ridotti livelli sierici di NO, aumentato rilascio sierico di H₂O₂ e maggiore permeabilità endoteliale; presentavano inoltre un'aumentata concentrazione di S100A8, ligando di RAGE, con aumento della permeabilità microvascolare, non presente nei fumatori di tabacco tradizionale. In uno studio di Loffredo et al. (44) venivano valutati invece gli effetti cronici del fumo da HNBC, confrontati con quelli da sigaretta tradizionale e con controlli sani. A parità di livelli di cotinina, lo studio evidenziava nei fumatori, sia di HNBC che di sigaretta a tabacco tradizionale, una riduzione significativa di NO e di FMD rispetto al gruppo dei non fumatori senza differenza tra il gruppo fumatori di HNBC e quello di tabacco (44).

Effetti del fumo sulle piastrine

Un altro meccanismo con cui il fumo promuove lo sviluppo della patologia aterosclerotica è l'attivazione piastrinica.

Il meccanismo iniziale nella formazione del trombo è rappresentato dall'interazione delle piastrine con le cellule endoteliali attivate e con le proteine della matrice sub-endoteliale, esposte in seguito ad un danno tissutale (vWF, collagene, fibronectina), e la loro conseguente attivazione (45). Le piastrine attivate secernono il contenuto dei loro granuli, tra cui p-selectina e adenosina difosfato (ADP), e producono e secernono eicosanoidi, quali trombossano A₂ e isoprostano F₂, che amplificano l'attivazione piastrinica e ne favoriscono l'aggregazione (46, 47). I ROS prodotti in condizioni di danno vascolare da parte di cellule endoteliali, leucociti, cellule muscolari e fibroblasti contribuiscono all'attivazione piastrinica (48). Tuttavia, studi hanno dimostrato come le piastrine attivate siano esse stesse in grado di produrre ROS (O₂⁻, OH[•] e H₂O₂) (49-51). I sistemi enzimatici coinvolti sono diversi, tra cui la NADPH ossidasi, la ciclossigenasi (COX), l'eNOS, la xantina ossidasi e la respirazione mitocondriale (52). In par-

ticolare, recenti studi hanno dimostrato come tra i vari meccanismi alla base della produzione piastrinica di ROS, la NADPH ossidasi 2 abbia un ruolo centrale in quanto in grado di influenzare l'attivazione piastrinica attraverso diversi meccanismi, tra cui la conversione dell'O₂ a H₂O₂, forma più stabile e pro-aggregante, l'inibizione dell'attività antiaggregante di NO e la trasformazione dell'acido arachidonico in F₂-isoprostani (47). L'inibizione dell'attività di NOX2 ha dimostrato determinare al contrario un'alterazione nella produzione di O₂ e di H₂O₂ e una ridotta mobilizzazione del calcio e quindi una ridotta aggregazione piastrinica (47).

L'associazione tra fumo di sigaretta e aumentata attivazione piastrinica è stata dimostrata in diversi studi (19, 53). Anche il fumo da prodotti di nuova generazione (sigarette elettroniche e HNBC) sembrerebbe però favorire l'attivazione e l'aggregazione piastrinica.

Studi *in vitro* hanno mostrato come l'esposizione ad estratti di fumo di sigaretta elettronica in piastrine di donatori sani aumenti l'attività piastrinica e l'aggregazione, con aumento di marcatori di adesione piastrinica (54). Anche studi *in vivo* sul modello murino hanno osservato un effetto pro-trombotico del fumo di sigaretta elettronica. Qasim et al. hanno osservato una netta riduzione del tempo di sanguinamento nei topi esposti a fumo di sigaretta elettronica rispetto a topi esposti ad aria pulita; l'esposizione al fumo di sigaretta elettronica era associata infatti ad un'iperattività piastrinica, ad un'aumentata espressione di p-selectina sulla superficie cellulare e ad una ridotta sensibilità all'azione inibitoria delle prostaglandine (55).

Studi clinici recenti hanno confermato questi dati. Ramirez et al. hanno valutato gli effetti sulle piastrine di una tipologia specifica di sigaretta elettronica osservando un'aumentata attività cellulare e aggregazione, sia rispetto ai controlli che rispetto al fumo di sigaretta tradizionale (56). Un altro studio crossover single-blind ha confrontato l'effetto delle sigarette elettroniche rispetto a quelle tradizionali sulla funzione

piastrinica in soggetti fumatori e non fumatori (57). Sia il fumo di sigaretta tradizionale che quello di sigaretta elettronica determinava un effetto a breve termine sull'attivazione piastrinica, misurata attraverso sCD4L e sP-selectina, con un effetto però minore nei non fumatori (57). Uno studio successivo dello stesso gruppo è andato poi a confrontare l'effetto del fumo di HNBC con quello di sigaretta elettronica e di sigaretta tradizionale dimostrando un'associazione di tutte e tre le tipologie di fumo con un'aumentata attività piastrinica (42). L'uso di HNBC però mostrava un minor impatto, rispetto a sigarette elettroniche e a quelle tradizionali, sulla produzione di 8-iso-prostaglandina F_{2a}-III, inibitore dell'aggregazione piastrinica; inoltre, le concentrazioni dei marcatori piastrinici, sCD40L e la sP-selectina, risultavano meno alterati dopo l'uso di HNBC rispetto al fumo tradizionale (42).

In un altro recente studio Lyytinen et al. è stato valutato l'effetto trombotico indotto da un uso breve di sigaretta elettronica attraverso la misurazione del Total Thrombus formation Analysis System (T-TAS), osservando un'aumentata formazione di trombi piastrinici e di fibrina a 15 minuti dall'esposizione (58). Lo stesso gruppo di studio è poi andato a valutare tramite T-TAS l'effetto trombotico indotto dal fumo di HNBC osservando anche in questo caso un immediato aumento nella formazione di trombi piastrinici a 5 minuti dall'esposizione (59).

Anche il fumo passivo da HNBC è stato dimostrato indurre su una popolazione pediatrica un'attivazione piastrinica pari a quella indotta da fumo di sigaretta tradizionale (43). Attenzione è stata posta anche all'effetto del fumo di "terza mano", ovvero l'esposizione alle sostanze depositate sulle superfici. È stato dimostrato infatti come 4 mesi di esposizione a fumo di terza mano di sigarette elettroniche determinava un'aumentata attivazione e aggregazione piastrinica *in vitro* e una riduzione del tempo di sanguinamento e del tempo di occlusione trombotica *in vivo* nel modello murino, evidenziando

quindi un effetto anche di questa tipologia di esposizione sull'emostasi e quindi un potenziale aumentato rischio di patologia cardiovascolare occlusiva (60).

Effetti cardiovascolari del fumo sul bambino

Nei bambini, l'esposizione al fumo di sigaretta, sia attiva che passiva, è particolarmente preoccupante a causa delle implicazioni a lungo termine sulla salute, soprattutto in relazione al sistema cardiovascolare. Il danno provocato dal fumo di sigaretta, soprattutto in termini di esposizione passiva, è ampiamente descritto in letteratura sulle vie respiratorie del bambino (5, 61). Il fumo pertanto rappresenta un trigger infiammatorio che contribuirà in modo determinante all'insorgenza di asma, riniti, allergie, sindrome delle apnee ostruttive del sonno (5, 62, 63). Queste patologie respiratorie sono caratterizzate da un aumentato rischio cardiovascolare nell'adulto, verosimilmente per il persistere di uno stato infiammatorio che si manifesterà con un aumentato rischio cardiovascolare nell'età adulta (64).

Ma il danno iniziale avviene molto precocemente. Infatti, sembrerebbe da recenti studi, che l'esposizione al fumo passivo nella prima infanzia, anche in utero, possa causare cambiamenti persistenti delle lipoproteine. Ayer et al. hanno documentato che l'esposizione in utero al fumo passivo di tabacco si associava a livelli più bassi di colesterolo HDL (lipoproteine ad alta densità) nei bambini di 8 anni (65). Questo aumentato rischio sembrerebbe non limitarsi al colesterolo. È stato osservato che i bambini esposti al fumo passivo hanno un aumento sensibile dell'incidenza di sindrome metabolica, pari al 19,6%, rispetto a quella dei non esposti pari al 5,6% (66). L'esposizione al fumo passivo di tabacco, documentata dalle concentrazioni di cotinina, è stata associata a una compromissione della funzione endoteliale in modo dose-dipendente nei bambini preadolescenti (8-11 anni) (67). Numerosi studi hanno inoltre analiz-

zato le e-cig, le sigarette tradizionali e le sigarette a tabacco riscaldato in termini di effetti cardiovascolari deleteri negli adolescenti (68). Il consumo di nicotina si associa ad un aumento della pressione sanguigna e della frequenza cardiaca (69). L'uso delle sigarette elettroniche incrementa la resistenza delle vie aeree, rende più difficoltosa l'inspirazione e contribuisce alla produzione di radicali liberi altamente reattivi causando un aumento dello stress ossidativo a sua volta connesso a disfunzione mitocondriale e a ridotta biodisponibilità di ossido nitrico (70). Conseguenze di questi meccanismi patologici sono la disfunzione endoteliale e la cardiotoxicità, intesa come un danno cardiaco strutturale e funzionale. La cardiotoxicità può essere irreversibile, in caso di necrosi o apoptosi delle cellule miocardiche, o reversibile, come nel caso del consumo a breve termine di prodotti a base di nicotina (o anche del fumo a lungo termine nei forti fumatori) (69). Le manifestazioni cliniche comprendono aritmie parossistiche o permanenti, disfunzione sistolica e/o diastolica ed insufficienza cardiaca (69). Pertanto l'esposizione al fumo di sigaretta, sia a tabacco tradizionale che da e-cigarettes, attraverso meccanismi legati all'aumento dello stress ossidativo e dell'infiammazione contribuisce ad innescare uno stato infiammatorio che perpetrandosi nel tempo potrebbe contribuire ad aumentare il rischio di complicanze cardiovascolari nell'adulto.

Effetti cardiovascolari del fumo sull'adulto

Nelle ultime decadi è stata dimostrata l'associazione tra fumo di tabacco ed eventi cardiovascolari (71). Le sigarette elettroniche e le HNBC sono state inizialmente sviluppate al fine di favorire il processo di cessazione al fumo di tabacco dimostrandosi un'alternativa meno dannosa alle sigarette tradizionali. Da allora però il numero di consumatori di prodotti di tabacco di nuova generazione sono aumentati in maniera significativa, anche tra non-fumatori a causa della mis-percezione che questi prodotti

non siano dannosi. Sebbene presentino una tossicità minore rispetto alle sigarette tradizionali, questi prodotti non sono esenti però da un effetto sul sistema cardiovascolari. I dati a disposizione sugli effetti cardiovascolari di sigarette elettroniche e di HNBC derivano principalmente da studi a breve termine; mancano dati sugli effetti a lungo termine. È stato osservato un aumento della rigidità arteriosa (stiffness) e un aumento della pulse wave velocity (PWV) sia nei fumatori di sigaretta elettronica che di HNBC (72-74, 59). Alcuni studi inoltre mostrano che l'uso di sigarette elettroniche contenenti nicotina determinano effetti acuti su parametri emodinamici, come l'aumento di frequenza cardiaca e pressione sanguigna (72, 73, 75-77). Il fumo di sigaretta elettronica inoltre sembrerebbe determinare un aumento del tono simpatico, associato ad un aumentato rischio cardiovascolare, e modifiche in parametri elettrocardiografici della ripolarizzazione ventricolare, associati ad aumentato rischio di morte cardiaca improvvisa, anche se in misura minore rispetto al fumo di sigaretta tradizionale (78-80). Secondo un altro recente studio il fumo di HNBC ha dimostrato avere un effetto acuto sulla funzione miocardica sistolica e diastolica pari quello indotto dal fumo delle sigarette tradizionali (81). In contrasto con questi dati però altri studi hanno invece mostrato un beneficio nel passaggio da sigarette tradizionali a sigarette elettroniche con riduzione della pressione arteriosa, della frequenza cardiaca e miglioramento dei parametri di funzione vascolare (82-85).

Altri studi recenti sono andati a valutare la correlazione tra l'uso di sigarette elettroniche e l'incidenza di infarto miocardico, rilevando un aumentato rischio nei fumatori di questi prodotti, anche dopo correzione per gli altri fattori di rischio cardiovascolari (86, 87). Un recente studio cross-sectional ha evidenziato score di salute generale più bassi e maggior incidenza di episodi di dolore toracico, palpitazioni, aritmie e patologia coronarica nei fumatori di sigarette elettroniche rispetto ai non fumatori (88). Tut-

tavia, altri studi mostrano dati opposti. Un ampio studio di coorte basato su auto-dichiarazione di eventi cardiovascolari non ha rilevato una correlazione tra l'uso della sigaretta elettronica e patologie cardiovascolari (patologia coronarica, infarto miocardico, ictus) tra individui che non avevano mai fumato prima (89); mentre il "dual use" di sigaretta tradizionale ed elettronica era associato ad un rischio del 36% maggiore di eventi cardiovascolari rispetto ai fumatori di sole sigarette tradizionali. Anche in un altro studio di Berlowitz et al. non era stata rilevata una differenza nel rischio di eventi cardiovascolari tra i fumatori di sigarette elettroniche e non fumatori; mentre i "dual users" avevano un rischio cardiovascolare aumentato (90).

Vi è grande discrepanza nei risultati di questi studi che deriva principalmente dalle differenti popolazioni di studio, tipologia di esposizione e varietà di prodotti e modelli. Inoltre mancano dati sugli effetti a lungo termine dei prodotti di tabacco di nuova generazione data la loro recente introduzione sul mercato.

L'effetto pro-trombotico indotto dal fumo di tabacco si riflette anche nel distretto cerebrovascolare. Il fumo di sigaretta a combustione aumenta il rischio di patologie neurologiche, tra cui ictus e demenza vascolare. Il fumo di tabacco può danneggiare la funzione endoteliale vascolare e la barriera emato-encefalica (BEE) con conseguenze a lungo termine sul cervello (91, 92). Lo stress ossidativo è considerato avere un ruolo centrale nella patogenesi del danno vascolare in questi pazienti (93). Anche le sigarette elettroniche e le HNBC non sono esenti da un effetto cerebrovascolare. Un dato interessante emerso da un recente studio cross-sectional di tipo survey su più di 160.000 soggetti è che l'utilizzo delle sole sigarette elettroniche non era associato ad un maggior rischio di stroke; d'altra parte però se i giovani adulti presentavano una storia di progresso fumo di sigarette tradizionali o erano "dual users", il rischio di stroke aumentava in modo significativo anche rispetto ai fumatori di sole sigarette tradizionali (94).

Studi preclinici hanno osservato che la nicotina, contenuta sia nelle sigarette tradizionali che nei prodotti di nuova generazione, può determinare un danno ossidativo simile a quello osservato con il fumo di tabacco con conseguente alterazione dell'integrità della BEE (95). Inoltre, l'esposizione a fumo di sigaretta elettronica è stato dimostrato associarsi nel modello murino ad un'esacerbazione del danno ischemico cerebrale e del danno cerebrale secondario (95-97). Un altro effetto della nicotina è rappresentato dalla riduzione dell'utilizzo cerebrale di glucosio: un'esposizione prolungata alla nicotina, sia da sigaretta tradizionale che da sigaretta elettronica, induce un aumento dell'espressione di GLUT1 a livello cerebrale con conseguenza riduzione della glicolisi, causando una condizione di deprivazione glucidica che aumenta il rischio di ictus e peggiora il danno ischemico (98). Inoltre si è osservato che il fumo di sigaretta è associato ad un aumento rischio di sviluppo di intolleranza glucidica e di diabete mellito tipo 2, che rappresenta un altro importante fattore di rischio cerebrovascolare (99). Alcuni studi recenti hanno osservato come le cellule endoteliali della BEE, in risposta all'iperglicemia e/o al danno ischemico, aumentino la produzione di ROS e modulatori dell'infiammazione, facendo ipotizzare un meccanismo patogenetico comune sulla BEE di questi (100). A tal proposito l'utilizzo di metformina prima e dopo il danno ischemico sembrava associato ad una riduzione dello stress ossidativo e della risposta infiammatoria (95).

Il fumo anche dei prodotti di nuova generazione deve essere considerato un fattore di rischio cardiovascolare che determina nel soggetto adulto un aumento del rischio aterosclerotico e trombotico attraverso meccanismi di infiammazione, attivazione piastrinica e disfunzione endoteliale.

Conclusioni

Il tabacco riscaldato e le sigarette elettroniche, sebbene presentino potenzialmente meno sostanze tossiche rispetto al tabacco tradizionale, non sono esenti da rischi per la salute cardiovascolare. Questi prodotti possono avere degli effetti pro-aterosclerotici e pro-trombotici attraverso l'aumento dello stress ossidativo, la disfunzione endoteliale e l'attivazione piastrinica.

Di fronte a queste evidenze, diventa chiaro che il rischio di aterosclerosi associato alle sigarette elettroniche e al tabacco riscaldato non può essere ignorato. Pur riconoscendo che tali prodotti possono rappresentare una alternativa meno dannosa rispetto al tabacco combusto per i fumatori che non riescono a smettere, è fondamentale promuovere una regolamentazione più rigorosa e una maggiore consapevolezza sui potenziali rischi per la salute. Gli sforzi per prevenire e ridurre l'uso di sigarette elettroniche e tabacco riscaldato tra i giovani sono particolarmente cruciali, data la crescente popolarità di questi prodotti tra i teenager. Campagne di sensibilizzazione e interventi educativi mirati possono contribuire a informare il pubblico sui rischi per la salute associati a queste alternative al tabacco e a incoraggiare comportamenti più salutari.

In conclusione, il rischio di aterosclerosi associato alle sigarette elettroniche e al tabacco riscaldato rappresenta una minaccia significativa per la salute cardiovascolare. È essenziale continuare a condurre ricerche approfondite per comprendere appieno gli effetti di questi prodotti sul sistema cardiovascolare e adottare misure concrete per proteggere la salute pubblica. Sottovalutare questi rischi potrebbe avere conseguenze gravi e durature sulla salute delle persone e sulla sostenibilità dei sistemi sanitari.

RIASSUNTO

Nell'attuale panorama scientifico, il tema sulla sicurezza delle sigarette elettroniche e del tabacco riscaldato è sempre più dibattuto. Inizialmente considerate come un'alternativa potenzialmente meno dannosa al tabacco tradizionale, recenti evidenze scientifiche hanno sollevato serie preoccupazioni riguardo ai rischi correlati all'utilizzo di tali prodotti, soprattutto in relazione all'aterosclerosi. L'aterosclerosi, condizione caratterizzata da infiammazione delle arterie e dall'accumulo di lipidi e macrofagi nelle loro pareti, si associa ad un aumento del rischio di complicanze cardiovascolari. Tradizionalmente associata al fumo di tabacco convenzionale, recenti ricerche scientifiche hanno suggerito che le sigarette elettroniche e il tabacco riscaldato potrebbero contribuire allo sviluppo di questo processo patologico. Uno degli effetti principali di questi prodotti riguarda il loro impatto pro-trombotico e pro-aterosclerotico sulle cellule endoteliali e sulle piastrine, favorendo processi infiammatori. Inoltre, sostanze chimiche presenti nei liquidi delle sigarette elettroniche potrebbero contribuire all'infiammazione e alla disfunzione endoteliale. Sebbene le sigarette elettroniche e il tabacco riscaldato possano sembrare un'alternativa meno dannosa al tabacco tradizionale, potrebbero presentare comunque rischi significativi per la salute. Pertanto, è fondamentale promuovere una maggiore consapevolezza sui potenziali rischi associati a questi prodotti e adottare misure per proteggere la salute pubblica, specialmente tra i giovani. Sottovalutare tali rischi potrebbe avere conseguenze gravi sia per la salute individuale che per la sostenibilità dei sistemi sanitari.

Parole chiave: *Fumo, tabacco riscaldato, sigarette elettroniche, aterosclerosi, rischio cardiovascolare, stress ossidativo.*

Bibliografia

- Liu Y, Cao J, Zhang J, Chen G, Luo C, Huang L. Research progress and prospect on the safety of heated tobacco products. *Toxicology*. 2024; 505: 153823. DOI: 10.1016/j.tox.2024.153823.
- Violi F, Carnevale R, Loffredo L, Pignatelli P, Gallin JI. NADPH Oxidase-2 and Atherothrombosis: Insight From Chronic Granulomatous Disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2017; 37 (2): 218-225. DOI: 10.1161/ATVBAHA.116.308351.
- McCaughy CJ, Murphy G, Jones J, Mirza KB, Hensey M. Safety and efficacy of e-cigarettes in those with atherosclerotic disease: a review. *Open Heart*. 2023;10(2). DOI: 10.1136/openhrt-2023-002341.
- Loffredo L, Carnevale R, Battaglia S, et al. Impact of chronic use of heat-not-burn cigarettes on oxidative stress, endothelial dysfunction and platelet activation: the SUR-VAPES Chronic Study. *Thorax*. 2021; 76 (6): 618-620. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2020-215900.
- Loffredo L, Zicari AM, Occasi F, et al. Passive Smoking Exacerbates Nicotinamide-Adenine Dinucleotide Phosphate Oxidase Isoform 2-Induced Oxidative Stress and Arterial Dysfunction in Children with Persistent Allergic Rhinitis. *J Pediatr*. 2018; 202: 252-257. DOI: 10.1016/j.jpeds.2018.06.053.
- WHO global report on trends in prevalence of tobacco use 2000-2025, fourth edition.
- Sigaretta elettronica e prodotti a tabacco riscaldato, un consumo in lento aumen.: ISTAT; 2023.
- L. TLS. GYTS: L'Italia nel contesto internazionale.: Ministero della Salute; 2023.
- Marques P, Piqueras L, Sanz MJ. An updated overview of e-cigarette impact on human health. *Respir Res* 2021;22(1):151. DOI: 10.1186/s12931-021-01737-5.
- Rubinstein ML, Delucchi K, Benowitz NL, Ramo DE. Adolescent Exposure to Toxic Volatile Organic Chemicals From E-Cigarettes. *Pediatrics*. 2018; 141 (4). DOI: 10.1542/peds.2017-3557.
- Behar RZ, Davis B, Wang Y, Bahl V, Lin S, Talbot P. Identification of toxicants in cinnamon-flavored electronic cigarette refill fluids. *Toxicol In Vitro*. 2014; 28 (2): 198-208. DOI: 10.1016/j.tiv.2013.10.006.
- Uguna CN, Snape CE. Should IQOS Emissions Be Considered as Smoke and Harmful to Health? A Review of the Chemical Evidence. *ACS Omega*. 2022; 7 (26): 22111-22124. DOI: 10.1021/acsomega.2c01527.
- Eaton D, Jakaj B, Forster M, et al. Assessment of tobacco heating product THP1.0. Part 2: Product design, operation and thermophysical characterisation. *Regul Toxicol Pharmacol* 2018;93:4-13. DOI: 10.1016/j.yrtph.2017.09.009.
- Smith MR, Clark B, Ludicke F, et al. Evaluation of the Tobacco Heating System 2.2. Part 1: Description of the system and the scientific assessment program. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2016; 81 (Suppl. 2): S17-S26. DOI: 10.1016/j.yrtph.2016.07.006.
- Auer R, Concha-Lozano N, Jacot-Sadowski I, Cornuz J, Berthet A. Heat-Not-Burn Tobacco Cigarettes: Smoke by Any Other Name. *JAMA Intern Med*. 2017; 177 (7): 1050-1052. DOI: 10.1001/jamainternmed.2017.1419.
- Münzel T, Sinning C, Post F, Warnholtz A, Schulz E. Pathophysiology, diagnosis and prognostic implications of endothelial dysfunction. *Ann Med*. 2008; 40 (3): 180-196. (In eng). DOI: 10.1080/07853890701854702.
- Corretti MC, Anderson TJ, Benjamin EJ, et al. Guide-

- lines for the ultrasound assessment of endothelial-dependent flow-mediated vasodilation of the brachial artery: a report of the International Brachial Artery Reactivity Task Force. *J Am Coll Cardiol*. 2002; 39 (2): 257-265. (In eng). DOI: 10.1016/s0735-1097(01)01746-6.
18. Gurovich AN, Avery JC, Holtgrieve NB, Braith RW. Flow-mediated dilation is associated with endothelial oxidative stress in human venous endothelial cells. *Vasc Med*. 2014; 19 (4): 251-256. DOI: 10.1177/1358863X14537546.
 19. Messner B, Bernhard D. Smoking and cardiovascular disease: mechanisms of endothelial dysfunction and early atherogenesis. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014; 34 (3): 509-515. DOI: 10.1161/ATVBAHA.113.300156.
 20. Mazzone A, Cusa C, Mazzucchelli I, et al. Cigarette smoking and hypertension influence nitric oxide release and plasma levels of adhesion molecules. *Clin Chem Lab Med*. 2001; 39 (9): 822-826. DOI: 10.1515/CCLM.2001.136.
 21. Jaimes EA, DeMaster EG, Tian RX, Raji L. Stable compounds of cigarette smoke induce endothelial superoxide anion production via NADPH oxidase activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004; 24 (6): 1031-1036. (In eng). DOI: 10.1161/01.Atrv.0000127083.88549.58.
 22. Klein J, Diaba-Nuhoho P, Giebe S, Brunssen C, Morawietz H. Regulation of endothelial function by cigarette smoke and next-generation tobacco and nicotine products. *Pflugers Arch*. 2023; 475 (7): 835-844. (In eng). DOI: 10.1007/s00424-023-02824-w.
 23. Förstermann U, Münzel T. Endothelial nitric oxide synthase in vascular disease: from marvel to menace. *Circulation*. 2006; 113 (13): 1708-1714. (In eng). DOI: 10.1161/circulationaha.105.602532.
 24. Talukder MA, Johnson WM, Varadharaj S, et al. Chronic cigarette smoking causes hypertension, increased oxidative stress, impaired NO bioavailability, endothelial dysfunction, and cardiac remodeling in mice. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2011; 300 (1): H388-H396. (In eng). DOI: 10.1152/ajpheart.00868.2010.
 25. Kalra VK, Ying Y, Deemer K, Natarajan R, Nadler JL, Coates TD. Mechanism of cigarette smoke condensate induced adhesion of human monocytes to cultured endothelial cells. *J Cell Physiol*. 1994; 160 (1): 154-162. (In eng). DOI: 10.1002/jcp.1041600118.
 26. Shen Y, Rattan V, Sultana C, Kalra VK. Cigarette smoke condensate-induced adhesion molecule expression and transendothelial migration of monocytes. *Am J Physiol*. 1996; 270 (5 Pt 2): H1624-H1633. (In eng). DOI: 10.1152/ajpheart.1996.270.5.H1624.
 27. Huang WJ, Zhang X, Chen WW. Role of oxidative stress in Alzheimer's disease. *Biomed Rep*. 2016; 4 (5): 519-522. (In eng). DOI: 10.3892/br.2016.630.
 28. Cacciola RR, Guarino F, Polosa R. Relevance of endothelial-haemostatic dysfunction in cigarette smoking. *Curr Med Chem*. 2007; 14 (17): 1887-1892. (In eng). DOI: 10.2174/092986707781058832.
 29. Giebe S, Hofmann A, Brux M, et al. Comparative study of the effects of cigarette smoke versus next generation tobacco and nicotine product extracts on endothelial function. *Redox Biol*. 2021; 47: 102150. DOI: 10.1016/j.redox.2021.102150.
 30. Giebe S, Brux M, Hofmann A, et al. Comparative study of the effects of cigarette smoke versus next-generation tobacco and nicotine product extracts on inflammatory biomarkers of human monocytes. *Pflugers Arch*. 2023; 475 (7): 823-833. (In eng). DOI: 10.1007/s00424-023-02809-9.
 31. Horinouchi T, Miwa S. Comparison of cytotoxicity of cigarette smoke extract derived from heat-not-burn and combustion cigarettes in human vascular endothelial cells. *J Pharmacol Sci*. 2021; 147 (3): 223-233. (In eng). DOI: 10.1016/j.jpshs.2021.07.005.
 32. Fetterman JL, Weisbrod RM, Feng B, et al. Flavorings in Tobacco Products Induce Endothelial Cell Dysfunction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2018; 38 (7): 1607-1615. (In eng). DOI: 10.1161/atvbaha.118.311156.
 33. Mohammadi L, Han DD, Xu F, et al. Chronic E-Cigarette Use Impairs Endothelial Function on the Physiological and Cellular Levels. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2022; 42 (11): 1333-1350. (In eng). DOI: 10.1161/atvbaha.121.317749.
 34. Nabavizadeh P, Liu J, Havel CM, et al. Vascular endothelial function is impaired by aerosol from a single IQOS HeatStick to the same extent as by cigarette smoke. *Tob Control*. 2018; 27 (Suppl. 1): s13-s19. DOI: 10.1136/tobaccocontrol-2018-054325.
 35. Kuntic M, Oelze M, Steven S, et al. Short-term e-cigarette vapour exposure causes vascular oxidative stress and dysfunction: evidence for a close connection to brain damage and a key role of the phagocytic NADPH oxidase (NOX-2). *Eur Heart J*. 2020; 41 (26): 2472-2483. (In eng). DOI: 10.1093/eurheartj/ehz772.
 36. Olfert IM, DeVallance E, Hoskinson H, et al. Chronic exposure to electronic cigarettes results in impaired cardiovascular function in mice. *J Appl Physiol* (1985). 2018; 124 (3): 573-582. (In eng). DOI: 10.1152/jappphysiol.00713.2017.
 37. Rao P, Han DD, Tan K, et al. Comparable Impairment of Vascular Endothelial Function by a Wide Range of Electronic Nicotine Delivery Devices. *Nicotine Tob Res*. 2022; 24 (7): 1055-1062. (In eng). DOI: 10.1093/ntr/ntac019.
 38. Carnevale R, Sciarretta S, Violi F, et al. Acute Impact of Tobacco vs Electronic Cigarette Smoking on Oxidative Stress and Vascular Function. *Chest*. 2016; 150 (3): 606-612. DOI: 10.1016/j.chest.2016.04.012.
 39. Youn JY, Middlekauff HR, Reudiseuli I, Huang K, Cai H. Endothelial damage in young adult e-cigarette users. *Redox Biol*. 2023; 62: 102688. (In eng). DOI: 10.1016/j.redox.2023.102688.
 40. Antoniewicz L, Bosson JA, Kuhl J, et al. Electronic cigarettes increase endothelial progenitor cells in the

- blood of healthy volunteers. *Atherosclerosis*. 2016; 255: 179-185. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2016.09.064.
41. Caporale A, Langham MC, Guo W, Johncola A, Chatterjee S, Wehrli FW. Acute Effects of Electronic Cigarette Aerosol Inhalation on Vascular Function Detected at Quantitative MRI. *Radiology*. 2019; 293 (1): 97-106. (In eng). DOI: 10.1148/radiol.2019190562.
 42. Biondi-Zoccai G, Sciarretta S, Bullen C, et al. Acute Effects of Heat-Not-Burn, Electronic Vaping, and Traditional Tobacco Combustion Cigarettes: The Sapienza University of Rome-Vascular Assessment of Proatherosclerotic Effects of Smoking (SUR - VAPES) 2 Randomized Trial. *J Am Heart Assoc*. 2019; 8 (6): e010455. DOI: 10.1161/JAHA.118.010455.
 43. Loffredo L, Carnevale R, Pannunzio A, et al. Impact of heat-not-burn cigarette passive smoking on children's oxidative stress, endothelial and platelet function. *Environmental Pollution*. 2024; 345: 123304. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.123304>.
 44. Suganya K, Son T, Kim KW, Koo BS. Impact of gut microbiota: How it could play roles beyond the digestive system on development of cardiovascular and renal diseases. *Microb Pathog*. 2021; 152: 104583. DOI: 10.1016/j.micpath.2020.104583.
 45. Li Z, Delaney MK, O'Brien KA, Du X. Signaling during platelet adhesion and activation. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2010; 30 (12): 2341-2349. DOI: 10.1161/ATVBAHA.110.207522.
 46. Eikelboom JW, Hankey GJ, Thom J, et al. Incomplete inhibition of thromboxane biosynthesis by acetylsalicylic acid: determinants and effect on cardiovascular risk. *Circulation*. 2008; 118 (17): 1705-1712. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.768283.
 47. Violi F, Loffredo L, Carnevale R, Pignatelli P, Pastori D. Atherothrombosis and Oxidative Stress: Mechanisms and Management in Elderly. *Antioxid Redox Signal*. 2017; 27 (14): 1083-1124. DOI: 10.1089/ars.2016.6963.
 48. Jiang F, Zhang Y, Dusting GJ. NADPH oxidase-mediated redox signaling: roles in cellular stress response, stress tolerance, and tissue repair. *Pharmacol Rev*. 2011; 63 (1): 218-242. DOI: 10.1124/pr.110.002980.
 49. Caccese D, Pratico D, Ghiselli A, et al. Superoxide anion and hydroxyl radical release by collagen-induced platelet aggregation—role of arachidonic acid metabolism. *Thromb Haemost*. 2000; 83 (3): 485-490. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10744158>).
 50. Pignatelli P, Pulcinelli FM, Lenti L, Gazzaniga PP, Violi F. Hydrogen peroxide is involved in collagen-induced platelet activation. *Blood*. 1998; 91 (2): 484-490. (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9427701>).
 51. Pratico D, Pasin M, Barry OP, et al. Iron-dependent human platelet activation and hydroxyl radical formation: involvement of protein kinase C. *Circulation*. 1999; 99 (24): 3118-3124. DOI: 10.1161/01.cir.99.24.3118.
 52. Dayal S, Wilson KM, Motto DG, Miller FJ, Jr., Chauhan AK, Lentz SR. Hydrogen peroxide promotes aging-related platelet hyperactivation and thrombosis. *Circulation*. 2013; 127 (12): 1308-1316. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.112.000966.
 53. Carnevale R, Loffredo L, Pignatelli P, et al. Dark chocolate inhibits platelet isoprostanes via NOX2 down-regulation in smokers. *J Thromb Haemost*. 2012; 10 (1): 125-132. DOI: 10.1111/j.1538-7836.2011.04558.x.
 54. Hom S, Chen L, Wang T, Ghebrehiwet B, Yin W, Rubenstein DA. Platelet activation, adhesion, inflammation, and aggregation potential are altered in the presence of electronic cigarette extracts of variable nicotine concentrations. *Platelets*. 2016; 27 (7): 694-702. (In eng). DOI: 10.3109/09537104.2016.1158403.
 55. Qasim H, Karim ZA, Silva-Espinoza JC, et al. Short-Term E-Cigarette Exposure Increases the Risk of Thrombogenesis and Enhances Platelet Function in Mice. *J Am Heart Assoc*. 2018; 7 (15) (In eng). DOI: 10.1161/jaha.118.009264.
 56. Ramirez JEM, Karim ZA, Alarabi AB, et al. The JUUL E-Cigarette Elevates the Risk of Thrombosis and Potentiates Platelet Activation. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*. 2020; 25 (6): 578-586. (In eng). DOI: 10.1177/1074248420941681.
 57. Nocella C, Biondi-Zoccai G, Sciarretta S, et al. Impact of Tobacco Versus Electronic Cigarette Smoking on Platelet Function. *Am J Cardiol*. 2018; 122 (9): 1477-1481. DOI: 10.1016/j.amjcard.2018.07.029.
 58. Lyytinen G, Brynedal A, Anesäter E, et al. Electronic Cigarette Vaping with Nicotine Causes Increased Thrombogenicity and Impaired Microvascular Function in Healthy Volunteers: A Randomised Clinical Trial. *Cardiovasc Toxicol*. 2023; 23 (7-8): 255-264. (In eng). DOI: 10.1007/s12012-023-09802-9.
 59. Lyytinen G, Melnikov G, Brynedal A, et al. Use of heated tobacco products (IQOS) causes an acute increase in arterial stiffness and platelet thrombus formation. *Atherosclerosis*. 2024; 390: 117335. (In eng). DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2023.117335.
 60. Umphres SS, Alarabi AB, Ali HEA, Khasawneh FT, Alshbool FZ. Investigation of the impact of thirdhand e-cigarette exposure on platelet function: A pre-clinical study. *Tob Induc Dis*. 2024; 22 (In eng). DOI: 10.18332/tid/185286.
 61. Loffredo L, Zicari AM, Occasi F, et al. Role of NADPH oxidase-2 and oxidative stress in children exposed to passive smoking. *Thorax*. 2018; 73 (10): 986-988. DOI: 10.1136/thoraxjnl-2017-211293.
 62. Loffredo L, Zicari AM, Occasi F, et al. Endothelial dysfunction and oxidative stress in children with sleep disordered breathing: role of NADPH oxidase. *Atherosclerosis*. 2015; 240 (1): 222-227. DOI: 10.1016/j.atherosclerosis.2015.03.024.
 63. Loffredo L, Zicari AM, Del Ben M. EFFETTI CARDIOVASCOLARI DEL FUMO DI SECONDA E TERZA

- MANO. *Giornale Italiano dell'Arteriosclerosi*. 2017; 8 (2): 30-37.
64. West HW, Juonala M, Gall SL, et al. Exposure to parental smoking in childhood is associated with increased risk of carotid atherosclerotic plaque in adulthood: the Cardiovascular Risk in Young Finns Study. *Circulation*. 2015; 131 (14): 1239-1246. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.114.013485.
 65. Ayer JG, Belousova E, Harmer JA, David C, Marks GB, Celermajer DS. Maternal cigarette smoking is associated with reduced high-density lipoprotein cholesterol in healthy 8-year-old children. *Eur Heart J*. 2011; 32 (19): 2446-2453. DOI: 10.1093/eurheartj/ehr174.
 66. Weitzman M, Cook S, Auinger P, et al. Tobacco smoke exposure is associated with the metabolic syndrome in adolescents. *Circulation*. 2005; 112 (6): 862-869. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.104.520650.
 67. Yang B, Li M, Chen B, Xu Y, Li TD. Deterioration of endothelial function and carotid intima-media thickness in Tibetan male adolescents exposed to second-hand smoke. *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. 2012; 13 (4): 413-419. DOI: 10.1177/1470320312440901.
 68. Simonetti GD, Schwertz R, Klett M, Hoffmann GF, Schaefer F, Wuhl E. Determinants of blood pressure in preschool children: the role of parental smoking. *Circulation*. 2011; 123 (3): 292-298. DOI: 10.1161/CIRCULATIONAHA.110.958769.
 69. Luca AC, Curpân A, Iordache AC, et al. Cardiotoxicity of Electronic Cigarettes and Heat-Not-Burn Tobacco Products-A Problem for the Modern Pediatric Cardiologist. *Healthcare (Basel)*. 2023; 11 (4) (In eng). DOI: 10.3390/healthcare11040491.
 70. Navas-Acien A, Martinez-Morata I, Hilpert M, Rule A, Shimbo D, LoLacono NJ. Early Cardiovascular Risk in E-cigarette Users: the Potential Role of Metals. *Curr Environ Health Rep*. 2020 Dec; 7(4): 353-361.
 71. *The Health Consequences of Smoking-50 Years of Progress: A Report of the Surgeon General*. Atlanta (GA) 2014.
 72. Vlachopoulos C, Ioakeimidis N, Abdelrasoul M, et al. Electronic Cigarette Smoking Increases Aortic Stiffness and Blood Pressure in Young Smokers. *J Am Coll Cardiol*. 2016; 67 (23): 2802-2803. (In eng). DOI: 10.1016/j.jacc.2016.03.569.
 73. Franzen KF, Willig J, Cayo Talavera S, et al. E-cigarettes and cigarettes worsen peripheral and central hemodynamics as well as arterial stiffness: A randomized, double-blinded pilot study. *Vasc Med*. 2018; 23 (5): 419-425. (In eng). DOI: 10.1177/1358863x18779694.
 74. Franzen KF, Belkin S, Goldmann T, et al. The impact of heated tobacco products on arterial stiffness. *Vasc Med*. 2020; 25 (6): 572-574. (In eng). DOI: 10.1177/1358863x20943292.
 75. Vansickel AR, Eissenberg T. Electronic cigarettes: effective nicotine delivery after acute administration. *Nicotine Tob Res*. 2013; 15 (1): 267-270. (In eng). DOI: 10.1093/ntr/ntr316.
 76. Nides MA, Leischow SJ, Bhattar M, Simmons M. Nicotine blood levels and short-term smoking reduction with an electronic nicotine delivery system. *Am J Health Behav*. 2014; 38 (2): 265-274. (In eng). DOI: 10.5993/ajhb.38.2.12.
 77. Yan XS, D'Ruiz C. Effects of using electronic cigarettes on nicotine delivery and cardiovascular function in comparison with regular cigarettes. *Regul Toxicol Pharmacol*. 2015; 71 (1): 24-34. (In eng). DOI: 10.1016/j.yrtph.2014.11.004.
 78. Moheimani RS, Bhetraratana M, Yin F, et al. Increased Cardiac Sympathetic Activity and Oxidative Stress in Habitual Electronic Cigarette Users: Implications for Cardiovascular Risk. *JAMA Cardiol*. 2017; 2 (3): 278-284. (In eng). DOI: 10.1001/jamacardio.2016.5303.
 79. Moheimani RS, Bhetraratana M, Peters KM, et al. Sympathomimetic Effects of Acute E-Cigarette Use: Role of Nicotine and Non-Nicotine Constituents. *J Am Heart Assoc*. 2017; 6 (9) (In eng). DOI: 10.1161/jaha.117.006579.
 80. Ip M, Diamantakos E, Haptonstall K, et al. Tobacco and electronic cigarettes adversely impact ECG indexes of ventricular repolarization: implication for sudden death risk. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2020; 318 (5): H1176-H1184. (In eng). DOI: 10.1152/ajpheart.00738.2019.
 81. Yaman B, Akpınar O, Kemal HS, et al. Comparison of IQOS (heated tobacco) and cigarette smoking on cardiac functions by two-dimensional speckle tracking echocardiography. *Toxicol Appl Pharmacol*. 2021; 423: 115575. (In eng). DOI: 10.1016/j.taap.2021.115575.
 82. George J, Hussain M, Vadiveloo T, et al. Cardiovascular Effects of Switching From Tobacco Cigarettes to Electronic Cigarettes. *J Am Coll Cardiol*. 2019; 74 (25): 3112-3120. (In eng). DOI: 10.1016/j.jacc.2019.09.067.
 83. Polosa R, Morjaria JB, Caponnetto P, et al. Blood Pressure Control in Smokers with Arterial Hypertension Who Switched to Electronic Cigarettes. *Int J Environ Res Public Health*. 2016; 13 (11) (In eng). DOI: 10.3390/ijerph13111123.
 84. Farsalinos K, Cibella F, Caponnetto P, et al. Effect of continuous smoking reduction and abstinence on blood pressure and heart rate in smokers switching to electronic cigarettes. *Intern Emerg Med*. 2016; 11 (1): 85-94. (In eng). DOI: 10.1007/s11739-015-1361-y.
 85. Skotsimara G, Antonopoulos AS, Oikonomou E, et al. Cardiovascular effects of electronic cigarettes: A systematic review and meta-analysis. *Eur J Prev Cardiol*. 2019; 26 (11): 1219-1228. (In eng). DOI: 10.1177/2047487319832975.
 86. Alzahrani T, Pena I, Temesgen N, Glantz SA. Association Between Electronic Cigarette Use and Myocardial Infarction. *Am J Prev Med*. 2018; 55 (4): 455-461. (In eng). DOI: 10.1016/j.amepre.2018.05.004.

87. Farsalinos KE, Polosa R, Cibella F, Niaura R. Is e-cigarette use associated with coronary heart disease and myocardial infarction? Insights from the 2016 and 2017 National Health Interview Surveys. *Ther Adv Chronic Dis.* 2019; 10: 2040622319877741. (In eng). DOI: 10.1177/2040622319877741.
88. Wang JB, Olgin JE, Nah G, et al. Cigarette and e-cigarette dual use and risk of cardiopulmonary symptoms in the Health eHeart Study. *PLoS One.* 2018; 13 (7): e0198681. (In eng). DOI: 10.1371/journal.pone.0198681.
89. Osei AD, Mirbolouk M, Orimoloye OA, et al. Association Between E-Cigarette Use and Cardiovascular Disease Among Never and Current Combustible-Cigarette Smokers. *Am J Med.* 2019; 132 (8): 949-954.e2. (In eng). DOI: 10.1016/j.amjmed.2019.02.016.
90. Berlowitz JB, Xie W, Harlow AF, et al. E-Cigarette Use and Risk of Cardiovascular Disease: A Longitudinal Analysis of the PATH Study (2013-2019). *Circulation.* 2022; 145 (20): 1557-1559. (In eng). DOI: 10.1161/circulationaha.121.057369.
91. Gill JS, Shipley MJ, Tsementzis SA, et al. Cigarette smoking. A risk factor for hemorrhagic and nonhemorrhagic stroke. *Arch Intern Med.* 1989; 149 (9): 2053-2057. (In eng). DOI: 10.1001/archinte.149.9.2053.
92. Hossain M, Sathe T, Fazio V, et al. Tobacco smoke: a critical etiological factor for vascular impairment at the blood-brain barrier. *Brain Res.* 2009; 1287: 192-205. (In eng). DOI: 10.1016/j.brainres.2009.06.033.
93. Cojocaru IM, Cojocaru M, Sapira V, Ionescu A. Evaluation of oxidative stress in patients with acute ischemic stroke. *Rom J Intern Med.* 2013; 51 (2): 97-106. (In eng).
94. Parekh T, Pemmasani S, Desai R. Risk of Stroke With E-Cigarette and Combustible Cigarette Use in Young Adults. *Am J Prev Med.* 2020; 58 (3): 446-452. (In eng). DOI: 10.1016/j.amepre.2019.10.008.
95. Kaisar MA, Villalba H, Prasad S, et al. Offsetting the impact of smoking and e-cigarette vaping on the cerebrovascular system and stroke injury: Is Metformin a viable countermeasure? *Redox Biol.* 2017; 13: 353-362. (In eng). DOI: 10.1016/j.redox.2017.06.006.
96. Li C, Sun H, Arrick DM, Mayhan WG. Chronic nicotine exposure exacerbates transient focal cerebral ischemia-induced brain injury. *J Appl Physiol* (1985). 2016; 120 (3): 328-33. (In eng). DOI: 10.1152/japplphysiol.00663.2015.
97. Paulson JR, Yang T, Selvaraj PK, et al. Nicotine exacerbates brain edema during in vitro and in vivo focal ischemic conditions. *J Pharmacol Exp Ther.* 2010; 332 (2): 371-379. (In eng). DOI: 10.1124/jpet.109.157776.
98. Sifat AE, Vaidya B, Kaisar MA, Cucullo L, Abbruscato TJ. Nicotine and electronic cigarette (E-Cig) exposure decreases brain glucose utilization in ischemic stroke. *J Neurochem.* 2018; 147 (2): 204-221. (In eng). DOI: 10.1111/jnc.14561.
99. Will JC, Galuska DA, Ford ES, Mokdad A, Calle EE. Cigarette smoking and diabetes mellitus: evidence of a positive association from a large prospective cohort study. *Int J Epidemiol.* 2001; 30 (3): 540-546. (In eng). DOI: 10.1093/ije/30.3.540.
100. Prasad S, Sajja RK, Park JH, Naik P, Kaisar MA, Cucullo L. Impact of cigarette smoke extract and hyperglycemic conditions on blood-brain barrier endothelial cells. *Fluids Barriers CNS* 2015;12:18. (In eng). DOI: 10.1186/s12987-015-0014-x.