

**DIVISIÓN DE CIENCIAS BIOLÓGICAS Y DE LA SALUD
DEPARTAMENTO EL HOMBRE Y SU AMBIENTE
LICENCIATURA EN BIOLOGÍA**

**INFORME FINAL DE SERVICIO SOCIAL
POR ACTIVIDADES VINCULADAS CON LA PROFESIÓN**

PARA OBTENER EL GRADO DE LICENCIADA EN BIOLOGÍA

**EFFECTO DE LA EXPOSICIÓN CRÓNICA A CIGARROS ELECTRÓNICOS
SOBRE LA FUNCIÓN ENDOTELIAL EN UN MODELO
IN VIVO EN COBAYO**

QUE PRESENTA LA ALUMNA

Montserrat Gallegos García

MATRÍCULA

2212032143

ASESOR INTERNO

Dra. Patricia Castilla Hernández (No. Ec. 30606)

Laboratorio de Biotecnología Ambiental

Departamento El Hombre y su Ambiente-UAM-X.

ASESOR EXTERNO

Dra. Alejandra Loaeza Román (Ced. Prof. 10992926)

Departamento de Investigación en Toxicología y Medicina Ambiental-INER

Resumen

El tabaquismo sigue siendo un grave problema de salud pública, mientras que los cigarros electrónicos (E-cigs) se han popularizado como una supuesta alternativa más segura, especialmente entre jóvenes, la evidencia indica que estos dispositivos pueden inducir inflamación, estrés oxidativo y disfunción endotelial, principalmente asociados a la nicotina. Debido a que sus efectos vasculares aún no están completamente esclarecidos, este estudio evalúa marcadores de lesión endotelial (MCP-1, ET-1 y nitratos) tras la exposición crónica a E-cig en un modelo animal de cobayo, analizando a su vez cambios estructurales endoteliales mediante técnicas histológicas en vasos pulmonares. Se utilizaron 32 cobayos Hartley distribuidos aleatoriamente en cuatro grupos (control, cigarro convencional (Cig), E-cig 1 H y E-cig 2 H), expuestos en cámaras de cuerpo completo (InExpose Scireq), durante 10 semanas. Tras la exposición, se obtuvieron muestras de suero y plasma para análisis de biomarcadores y tejido pulmonar para análisis histológico de los vasos sanguíneos (HyE y Tricrómico de Masson). Los marcadores de lesión endotelial se cuantificaron mediante ensayos ELISA y los datos se analizaron con pruebas de normalidad, ANOVA de una vía y prueba post hoc de Tukey-Kramer. En los cobayos, los vasos sanguíneos del grupo control mostraron estructura normal, mientras que el grupo E-cig 2H presentaron hipertrofia muscular y fibrosis. MCP-1 mostró en el grupo de E-cig 2H una disminución estadísticamente significativa respecto al grupo de cigarro convencional. Los grupos de E-cig 1H y E-cig 2H mostraron una tendencia a la baja respecto al grupo control. Mientras que el grupo de cigarro mostró una tendencia a la alta respecto al control. ET-1 y nitratos no mostraron diferencias significativas, sin embargo, ET-1 tuvo una tendencia a la baja en grupo E-cig 2H y los nitratos del grupo de cigarro convencional mostraron ligera tendencia a la baja respecto al control. Es así como se puede concluir que la exposición al cigarro convencional activa vías proinflamatorias, aumentando MCP-1, estrés oxidativo y favoreciendo a patologías cardiovasculares, mientras que los E-cig aunque aparentemente inducen menor inflamación también afectan el endotelio. Las variaciones de ET-1 y nitratos pueden reflejar alteraciones en el equilibrio vasoconstrictor-vasodilatador, con mayor disfunción endotelial por cigarro y posible adaptación frente a la exposición prolongada.

Palabras clave: Cardiovascular, Cigarro convencional, E-cig, Lesión endotelial, Moléculas de adhesión.

INDICE

1. Introducción.....	3
2. Lugar de realización.....	6
3. Marco Institucional del INER.....	6
4. Objetivos.....	7
4.1. General.....	7
4.2. Particulares.....	7
5. Actividades desarrolladas.....	8
5.1. Justificación.....	8
5.2. Metodología.....	10
5.2.1. Exposición de animales.....	10
5.2.2. Obtención de muestras.....	12
5.2.3. Tipo de muestras.....	12
5.2.4. Histología.....	13
5.2.5. Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA).....	13
5.2.6. Análisis de resultados.....	18
5.3. Resultados y discusión.....	19
5.3.1. Histología.....	19
5.3.2. Proteína Quimioatrayente de Monocitos 1 (MCP-1).....	20
5.3.3. Péptido vasoconstrictor producido por células endoteliales vasculares (Endotelina-1).....	22
5.3.4. Óxido nítrico (nitratos).....	24
5.4. Conclusiones.....	26
6. Vinculo de las actividades realizadas con el plan de estudios.....	27
7. Bibliografía.....	28
8. Visto bueno de los asesores.....	33

1. Introducción

De acuerdo con informes mundiales de la Organización Mundial de la Salud (OMS), más de 1.300 millones de personas fuman, de los cuales aproximadamente el 80% de personas se encuentran en países en desarrollo; a su vez, el consumo de cigarro convencional está directamente asociado con mayores tasas de morbilidad y mortalidad (Salari *et al.*, 2024).

Es así como de acuerdo con la OMS (2023a) el tabaquismo es una de las mayores amenazas para la salud pública que ha tenido que afrontar el mundo, causando más de 8 millones de muertes al año a nivel mundial, donde más de 7 millones de estas muertes se deben al consumo directo de cigarro y alrededor de 1.3 millones son consecuencia de la exposición pasiva; demostrando así que la exposición de humo de segunda mano es perjudicial y no existe un nivel seguro de exposición al tabaco.

Fumar cigarrillos es la forma de consumir tabaco más extendida en todo el mundo y tan solo en 2020, el 22.3% de la población mundial consumía cigarro convencional, siendo el 36.7% hombres y el 7.8% mujeres (Secretaría de Salud de Puebla, 2025).

En el caso específico de México la prevalencia de consumo actual de cigarro convencional es de 15.3%, lo que representa a 14.3 millones de personas de 15 años o más, reflejando así que la prevalencia se mantiene sin cambios significativos respecto a los años 2009 y 2015; ya que, el 7.3% (3.5 millones) de las mujeres y el 23.8% de los hombres (10.8 millones) son fumadores actuales, siendo un total de 6.6% de los adultos en México que fuman diariamente (mujeres 3.0%, hombres 10.5%) mientras que el 8.7% fuma ocasionalmente (mujeres 4.3%, hombres 13.3%) (Gómez y Pérez, 2023).

Los cigarrillos electrónicos (E-cigs) son populares entre los adolescentes y actualmente son la forma más común de consumo de tabaco entre los jóvenes, algunos de los factores que han contribuido a su popularidad en este sector de la población son la facilidad con la que se pueden obtener, su atractiva publicidad, la variedad de sabores de los e-líquidos y la creencia de que son más seguros que los cigarrillos tradicionales (NIDA, 2020).

De forma general, los componentes de los E-cigs principales permanecen inalterados y consisten en un cartucho que contiene un fluido, un atomizador que actúa como elemento calefactor para vaporizar el e-líquido en un aerosol, un sensor necesario para encender el dispositivo y una batería que proporciona la corriente necesaria para calentar el atomizador (Montjean *et al.*, 2023).

En contraste con la composición químicamente diversa del cigarro convencional, los e-líquidos están compuestos de glicerol vegetal (VG), propilenglicol (PG), nicotina, agua, además de presentar muchos saborizantes y colorantes (Margham *et al.*, 2021).

La adición de saborizantes aumenta significativamente la toxicidad, ya que, el calor generado por los E-cigs provoca la oxidación y descomposición de las sustancias químicas, lo que eventualmente forma componentes nocivos en los aerosoles inhalados. Si bien se han registrado niveles de toxinas mucho más bajos en los aerosoles de los E-cigs que, en el humo de un cigarrillo convencional, sigue la constante preocupación sobre su posible impacto en la salud de la población (Montjean *et al.*, 2023).

Como lo es principalmente la nicotina presente en los e-líquidos la cual se absorbe fácilmente desde los pulmones hasta el torrente sanguíneo cuando una persona vapea, al entrar en la sangre, la nicotina estimula las glándulas suprarrenales para que liberen la hormona epinefrina (adrenalina), siendo esta la que estimula el sistema nervioso central y aumenta la presión arterial, la respiración y la frecuencia cardíaca (NIDA, 2020).

A su vez la inhalación de aerosoles de los E-cigs puede ser paralela al efecto de los contaminantes ambientales en la activación de la inflamación, el estrés oxidativo y el inicio del proceso de disfunción endotelial (EDF); donde las características distintivas son el aumento de la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS), la disminución de la generación de óxido nítrico (NO) y la formación de moléculas de adhesión celular (Chatterjee *et al.*, 2019).

El impacto que tienen los E-cigs en el sistema cardiovascular es directamente proporcional a diversos factores (vaporizador y e-líquido). Se ha demostrado que los vaporizadores que

manejan mayores voltajes producen una mayor concentración de aerosoles de los elementos que contiene el e-líquido, a su vez, otro factor importante es el porcentaje de cada sustancia (saborizante, glicerina, propilenglicol y nicotina) que se tiene entre cada líquido, así como de los materiales de los que está hecho. El E-cigs, a diferencia del cigarro convencional, no genera una combustión total de los materiales que contiene, sin embargo, el aerosol que puede llegar a generarse puede ser igual o más dañino para el cuerpo y sobre todo para el aparato cardiovascular (Martínez *et al.*, 2022).

Estudios clínicos han reportado un fuerte vínculo entre el uso de E-cigs, lesión vascular y pérdida del tono vascular, estableciendo que la nicotina aumenta la permeabilidad endotelial vascular en el pulmón, observando que el extracto de humo de E-cigs causa muerte de células endoteliales y pérdida de la barrera endotelial secundarios a la nicotina presente en e-líquido (Del Valle *et al.*, 2010; Blackham *et al.*, 2024). A pesar de que se ha observado disrupción de la barrera endotelial con una e-líquidos sin nicotina, la mayoría de los estudios sobre mecanismos moleculares relacionados implican a la nicotina como la fuente principal de lesión vascular en respuesta al uso de E-cigs (Blackham *et al.*, 2024).

Al ser el endotelio, barrera y regulador clave del sistema cardiovascular, puede verse afectado por las sustancias presentes en los E-cigs, sin embargo, la evidencia actual sobre los efectos vasculares, especialmente sobre el endotelio, aún es limitada y en algunos casos contradictoria, por ello, es imprescindible desarrollar estudios que utilicen metodologías estandarizadas y modelos clínicos y experimentales robustos que permitan caracterizar con mayor precisión la identificación de biomarcadores específicos de disfunción endotelial además de establecer relaciones causales entre la exposición a E-cigs y el deterioro de la función vascular, sirviendo de base para recomendaciones clínicas y decisiones regulatorias fundamentadas (Flammer y Lüscher, 2010; Mohammadi *et al.*, 2022).

Por lo que, en el presente estudio, se tiene como objetivo evaluar los marcadores de lesión endotelial secundarios a exposición crónica de cigarros electrónicos en un modelo animal en cobayo, los cuales tienen similitudes biológicas con los humanos, además de que sus vías aéreas

son muy sensibles a los alérgenos (Carriquiriborde, 2021).

2. Lugar de realización

Las actividades relacionadas con el Servicio Social se llevarán a cabo en el Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER), en el Departamento de Toxicología y Medicina Ambiental localizado en Calzada de Tlalpan 4502, Belisario Domínguez Sección 16, Tlalpan, 14080 Ciudad de México, CDMX. Se encuentra en las coordenadas 19°17'28.95" N y 99°9'31.15" W (**Figura 1**). Las actividades se llevarán a cabo del día 4 de agosto del 2025 al 5 de febrero del 2026.



Figura 1. Localización del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias (INER) obtenido de Google Earth.

3. Marco Institucional

El INER se fundó en 1936, inicialmente denominado Sanatorio para Enfermos Tuberculosos de Huipulco, tomando el nombre actual en 1982, contando con atribuciones jurídicas para realizar investigación básica y aplicada, impartir enseñanza, prestar asesoría técnica a las Unidades Médicas y proporcionar atención médica para la prevención, diagnóstico, tratamiento y rehabilitación de las enfermedades respiratorias; por lo cual es de importancia el conocer la

misión, visión y los objetivos que tiene la institución (Báez, 2023).

Misión: Mejorar la salud respiratoria de los individuos y las comunidades a través de la investigación, la formación de recursos humanos y la atención médica especializada.

Visión: El INER debe ser la entidad nacional normativa en salud respiratoria y el principal sitio de enseñanza, investigación, promoción y atención de alta especialidad, con competitividad nacional e internacional.

Objetivos de la Institución: Primer Objetivo Prioritario: Asegurar atención médica de alta especialidad en patologías respiratorias a la población sin seguridad social garantizando los principios de salud, equidad y calidad. Segundo Objetivo Prioritario: Formar especialistas de alto perfil en patologías graves del aparato respiratorio para contribuir a mejorar las condiciones de salud de la población a nivel nacional. Tercer Objetivo Prioritario: Fortalecer la investigación científica de calidad que incremente el conocimiento y contribuya al entendimiento y solución de los problemas de salud relacionados con el aparato respiratorio (Báez, 2023).

4. Objetivos

4.1 General

Evaluar los marcadores de lesión endotelial secundarias a una exposición crónica de cigarros electrónicos en un modelo animal en cobayo.

4.2 Particulares

- Identificar cambios estructurales endoteliales mediante técnicas histológicas en vasos sanguíneos pulmonares de cobayos expuestos a cigarro convencional, vapeo y grupo control.
- Cuantificar proteína de suero y plasma.
- Evaluar marcadores de lesión endotelial en plasma y suero.
 - Proteína Quimioatrayente de Monocitos 1 (MCP-1)

- Péptido vasoconstrictor producido por células endoteliales vasculares (ET-1)
- Óxido nítrico

5. Actividades desarrolladas

5.1 Justificación

Los E-cigs fueron introducidos en el mercado y promocionados como productos para dejar el consumo de cigarro convencional, sin embargo, estos dispositivos electrónicos contienen una solución líquida, denominada e-líquido, la cual habitualmente está compuesta por nicotina, propilenglicol, glicerol y otros compuestos químicos, que mediante un mecanismo eléctrico es vaporizado para simular el efecto del uso de los cigarrillos convencionales (García *et al.*, 2019). Además de los problemas de salud pública que involucran el uso de estos dispositivos, también están presentes los problemas económicos y ecológicos. En México en el 2022, 4.6% de la población adolescente y 19.5% de la población adulta reportaron consumir cigarro convencional, lo cual representa cerca de un millón de adolescentes y 16.6 millones de adultos fumadores, mientras que para el caso de los E-cigs, 2.6% de la población adolescente y 1.5% de la población adulta hacen uso de estos, representando cerca de medio millón de adolescentes y 1.3 millones de adultos en el país (Barrera *et al.*, 2023).

El uso de E-cigs puede llegar a ser perjudiciales para la salud además de ser muy adictivos, no se han estudiado completamente sus efectos a largo plazo, sin embargo, se ha demostrado que liberan sustancias tóxicas, algunas de las cuales son cancerígenas y pueden aumentar el riesgo de sufrir trastornos cardíacos y pulmonares. Además, pueden presentar afectaciones en el desarrollo del cerebro y causar trastornos del aprendizaje en los jóvenes (OMS, 2023b).

Es así que las emisiones de los E-cigs, pueden tener efectos adversos sobre la salud cardiovascular, evidencias epidemiológicas indican que los E-cigs se consideran un factor de riesgo independiente para el aumento de las tasas de incidencia y mortalidad por enfermedades cardiovasculares, como arritmias cardíacas, hipertensión, síndromes coronarios agudos e insuficiencia cardíaca, han presentado un crecimiento entre las personas que vapean; los mecanismos biológicos subyacentes no se han estudiado por completo, se ha comenzado a

estudiar cómo el estrés oxidativo, la inflamación, la disfunción endotelial, la aterosclerosis, los efectos hemodinámicos y la función plaquetaria pueden desempeñar un papel importante en la fisiopatología de la lesión cardiovascular secundaria al uso de los E-cigs en el cuerpo humano (Zong *et al.*, 2024).

En un enfoque hacia las células endoteliales vasculares se conoce que constituyen un órgano estructuralmente simple, sin embargo funcionalmente es complejo ya que regula procesos diversos como la hemostasis, la fibrinólisis, la inflamación, la presión arterial, el metabolismo de las lipoproteínas y la angiogénesis, siendo así que tienen un papel esencial en la homeostasis del sistema vascular; además de verse relacionado con el óxido nítrico (NO) el cual cumple una serie de funciones relacionadas con la homeostasis del sistema vascular como la regulación del tono de los vasos, inhibición de la agregación plaquetaria, inhibición de la adhesión y trasmigración leucocitaria, así como la proliferación y migración de las células musculares lisas, entre otras (Acosta *et al.*, 2006).

En cuestiones sociales el uso de E-cigs puede causar una carga económica considerable en aspectos de salud. En 2012, los gastos sanitarios a nivel mundial para tratar las enfermedades y las lesiones atribuibles al consumo de cigarro convencional ascendieron a cerca del 6% del gasto sanitario global; asimismo, el consumo de cigarro convencional también puede reducir la productividad al retirar permanente o temporalmente a las personas del mercado laboral en consecuencia de una salud precaria, igualmente el consumo de cigarro puede desplazar el gasto de los hogares (necesidades básicas como alimentación y educación) contribuyendo a la pobreza y el hambre (Organización Panamericana de la Salud, 2021). Es así como se presenta una oferta, lo cual se ve reflejado en una demanda de los E-cigs y de forma simultánea ambas variables conforman un mercado multimillonario valuado en 15, 040 millones de dólares en 2020 (Arriaga, 2023).

En cuanto a los impactos ecológicos de los E-cigs estos han sido poco estudiados desde el enfoque del ciclo de vida (fabricación, uso y eliminación) y el cómo sus emisiones y desechos afectan a la salud humana y a los ecosistemas, debido a las altas cantidades de nicotina y otras

sustancias tóxicas que contienen, lo que los convierte en fuentes relevantes de contaminación (Ngambo *et al.*, 2023).

Es así como los impactos ambientales de los cigarrillos electrónicos pueden prevenirse mediante una mejor regulación de su producción, uso y eliminación.

En un enfoque científico, se pueden aplicar conocimientos de biología celular, fisiología del organismo a trabajar y bioquímica para analizar cómo los compuestos presentes en los E-cigs afectan la integridad del endotelio vascular y como contribuyen al desarrollo de enfermedades cardiovasculares esto mediante procesos inflamatorios y de estrés oxidativo. En cuanto un ámbito técnico-metodológico, se puede diseñar y ejecutar investigaciones experimentales como análisis moleculares y la evaluación de marcadores biológicos en este caso en la lesión endotelial, además del análisis de datos epidemiológicos que ayuden a comprender el impacto del problema.

Por lo tanto, resulta fundamental desarrollar un modelo de exposición animal que permita investigar de manera controlada y sistemática los efectos cardiovasculares asociados al uso de los cigarros electrónicos. En particular, la observación de la función endotelial en un modelo *in vivo* el cual resulta clave, debido a que el endotelio vascular tiene un papel central en el mantenimiento de la homeostasis cardiovascular y es uno de los primeros tejidos en responder ante agentes tóxicos inhalados. Al utilizar un modelo animal como el cobayo se presentan ventajas relevantes debido a su fisiología respiratoria y cardiovascular que es comparable con la humana. Con el desarrollo de este modelo experimental se pueden caracterizar los cambios estructurales y funcionales inducidos por la exposición crónica al E-cigs.

5.2 Metodología

5.2.1 Exposición de animales

Se utilizaron cobayos obtenidos del bioterio asociado al INER. Estos se mantuvieron con condiciones controladas de temperatura (22-25°C) con libre acceso a agua y alimento en los cuartos de experimentación. Después de una semana de aclimatación, los animales se dividieron

aleatoriamente en 4 unidades experimentales de 8 cobayos con 4 machos y 4 hembras en cada grupo y se expusieron a cuerpo completo en el equipo InExpose Scireq de la siguiente manera:

Grupo 1: control (agua nebulizada)

Grupo 2: cigarro combustible

Grupo 3: cigarro electrónico: 1 hora de exposición

Grupo 4: cigarro electrónico: 2 horas de exposición

El modelo de exposición fue de 7 días por semana, con ciclos de puffs con 3 segundos encendido y 30 segundos de apagado durante 1 hora. Al final de cada exposición, los animales fueron trasladados a una cámara limpia. Esta exposición se llevó a cabo durante 10 semanas.

a) Criterios de Inclusión.

Se utilizaron 32 Cobayos Hartley, (12 Hembras y 12 Machos), con un peso de entre 200-250 g.

b) Criterios de Exclusión.

Cobayos que fueron utilizadas previamente en otro protocolo.
Cobayos que tenían malformaciones, alteraciones fisiológicas o tumoraciones.

c) Criterios de Eliminación.

Cobayos que presentaron un sufrimiento innecesario debido a la exposición o a algún evento adverso inesperado

d) Tamaño de muestra.

El tamaño de la muestra empleada fue calculado previamente en función del cálculo para variables continuas en modelos animales (Dell *et al.*, 2002). Por otra parte, para el cálculo de la muestra (n) se consideró una diferencia de medias (d) de resistencia pulmonar, cuyo valor basal es de 0.094 cmH₂O/ml/s con una desviación estándar (s) de

0.007 cmH₂O/ml/s, para detectar un 20% de cambio (0.1128 cmH₂O/ml/s, d=0.0188) con el 90% de confianza (C=10.51), en un modelo de exposición a E-cigs en cobayo (Khosravi *et al.*, 2018). Tomado estas consideraciones se obtuvo el siguiente cálculo:

$$n=1+2C(s/d)^2$$

$$n= 1+ 2(10.51) (0.007/0.0188)^2$$

$$n= 4 \text{ animales por grupo}$$

$$n= 4 \text{ machos y 4 hembras x grupo}$$

$$n= 4 \text{ machos y 4 hembras x 3 grupos} = 12 \text{ hembras y 12 machos} = 24 \text{ cobayos.}$$

El número de cobayos que se utilizó es el mínimo requerido para, observar una diferencia estadística significativa.

5.2.2 Obtención de muestras

Al concluir las 10 semanas de exposición, los cobayos fueron anestesiados y sacrificados, 24 horas después de la última exposición. Se realizó una eutanasia con pentobarbital sódico intraperitoneal (45 mg/kg) (American Veterinary Medical Association AVMA, 2020). Se obtuvo sangre periférica por punción intracardiaca para suero y plasma. Se centrifugaron a 3000 rpm durante 15 minutos y se alicuotaron y almacenaron a -80°C para su posterior análisis mediante ELISA. Una sección de los pulmones se fijó, deshidrató e incluyó en parafina para fines histológicos.

5.2.3 Tipo de muestras

- Suero y plasma de cobayo.
- Laminillas de pulmón.

Se consideraron variables de desenlace y descripción de las otras variables de estudio las cuales son:

- a. Variable Independiente

Tipo de exposición a la que los cobayos se enfrentaron (Agua nebulizada, cigarro convencional y E-cig)

b. Variable Dependiente

Es aquella variable de desenlace, la que nos permitió observar los cambios en marcadores como lo serán los utilizados

- MCP-1
- Endotelina-1
- Óxido nítrico

5.2.4 Histología

La evaluación de vasos sanguíneos se realizó mediante las tinciones de Hematoxilina y Eosina (HyE) y Tricrómico de Masson. Las fotografías se obtuvieron a 10X y 40X con el microscopio óptico *Leica* (Figura 2a) y el software *Leica Application Suite versión 3.4.0* (Figura 2b).

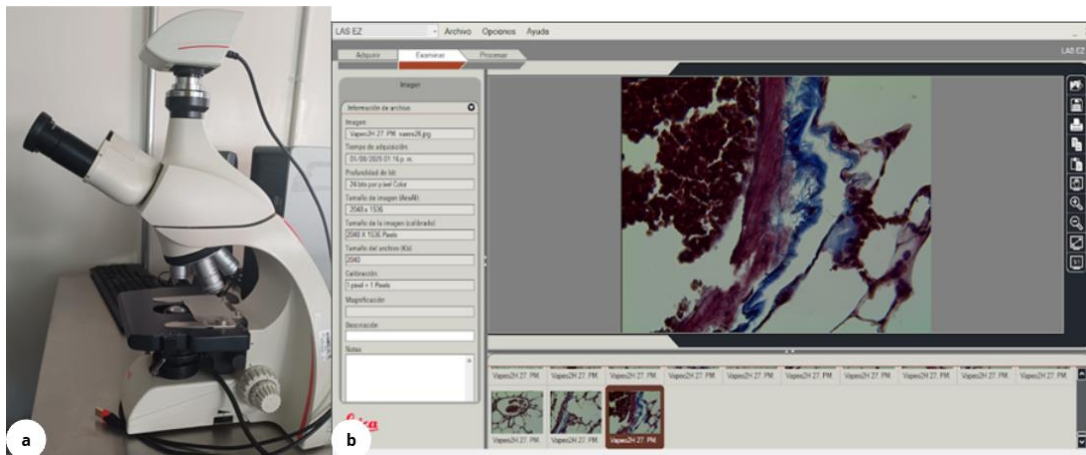


Figura 2 (a) Microscopio óptico Leica y (b) Software *Leica Application Suite* version 3.4.0.

5.2.5 Ensayo inmunoabsorbente ligado a enzimas (ELISA)

Metodología de las ELISAS de interés

En el Sándwich-ELISA el antígeno queda inmovilizado entre dos anticuerpos, uno de captura y otro de detección también conocidos como pares de anticuerpos, que se unirán a dos epítopos

distintos de un mismo antígeno (Martínez *et al.*, 2024).

- **Proteína Quimioatrayente de Monocitos (MCP-1)**

MCP-1: Sándwich-ELISA. Sensibilidad: 18.75 pg/mL. Rango de detección: 31.25-2000 pg/Ml (MyBiosource, 2019. Código: MBS2507712).

a. Preparación de los reactivos

Previo al inicio del ensayo, todos los reactivos se estabilizaron a temperatura ambiente entre 18-25 °C; se diluyeron 30 mL de buffer de lavado concentrado en 720 mL de agua destilada. La solución estándar se centrifugo a 10, 000xg durante 1 minuto, y posteriormente se añadió 1.0 mL de estándar de referencia y diluyente de muestra, dejando reposar durante 10 min, posteriormente se homogenizó. Esta reconstitución produjo una solución de trabajo: 2000 pg/mL.

Se realizó una dilución seriada, el gradiente de dilución fue: 2000, 1000, 500, 250, 125, 62.5, 31.25, 0 pg/mL (Figura 3).

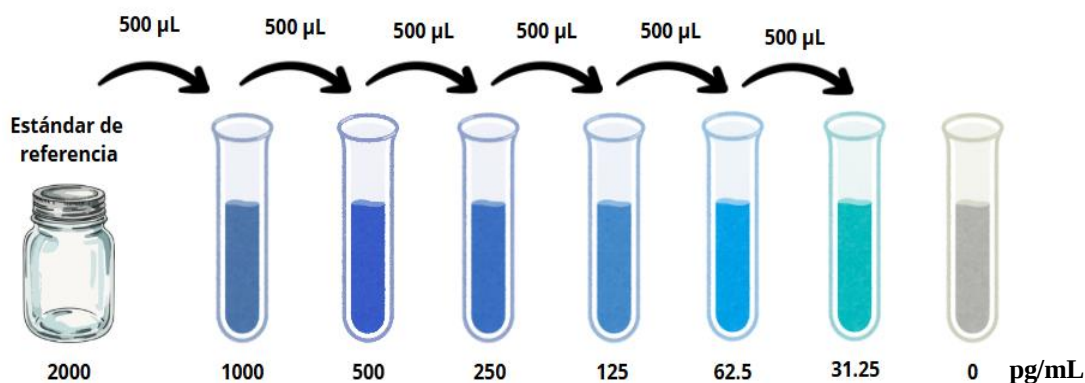


Figura 3. Diagrama de curva estándar de MCP-1.

Para la solución de trabajo del anticuerpo (Ab) de detección biotinilado, se diluyeron 120 µL el Ab de detección biotinilado concentrado con 11.88 mL de diluyente de Ab (1:100). Para la Solución de trabajo de conjugado HRP concentrado se diluyó 120 µL del conjugado de HRP concentrado con 11.88 mL de diluyente de conjugado de HRP (1:100).

b. Preparación del ensayo

Se realizó la curva estándar para cada ensayo por duplicado (100 μ L por pocillo) y se añadieron las muestras a los demás pocillos (100 μ L por pocillo), se dejó sellado y en incubación durante 90 minutos a 37 °C. Concluida la incubación, se decantó el contenido de los pozos y se añadieron 100 μ L de la solución de trabajo AB de detección biotinilado, y se llevó a incubación durante 1 hora a 37 °C. Se decantó la solución de cada pocillo y se lavó 3 veces con 350 μ L de buffer de lavado a cada pocillo.

Se añadieron 100 μ L de conjugado HRP a cada pocillo y se dejó en incubación durante 30 minutos a 37 °C. Posteriormente, se decantó la solución de cada pocillo y se lavó 5 veces. Se añadieron 90 μ L de reactivo de sustrato en oscuridad y se dejó en incubación de 15 minutos a 37 °C. Finalmente se añadieron 50 μ L de solución de parada y se leyó inmediatamente a 450 nm en un lector de placas *ELISA BioTek* (Figura 4).

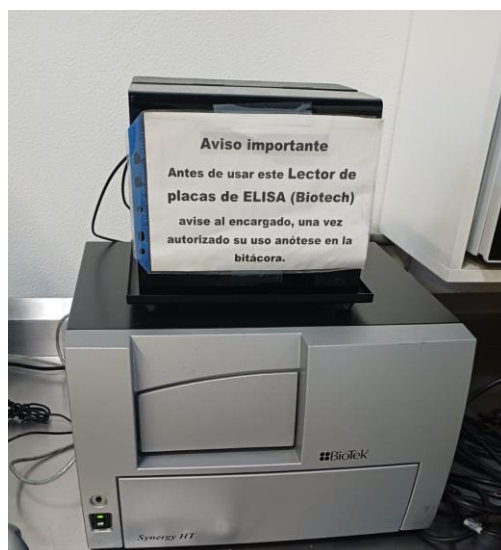


Figura 4. Lector de placas *ELISA BioTek*

- **Péptido vasoconstrictor producido por células endoteliales vasculares (Endotelina-1)**

ET-1: Doble sándwich-ELISA. Sensibilidad: 1 pg/mL. Rango de detección: 500-7.8 pg/mL (MyBiosource, 2017. Código: MBS265321).

a. Preparación de los reactivos

Se realizó una dilución de la solución de lavado concentrada con agua bidestilada (1:25). Para la muestra estándar de ET-1 se añadió 1.0 mL de diluyente a la muestra estándar liofilizada de ET-1 y se mantuvo en reposo por 30 minutos. Una vez disuelta por completo, se homogenizó. A continuación, se diluyó de acuerdo con las concentraciones para la curva estándar: 500, 250, 125, 62.5, 31.2, 15.6 y 7.8 pg/mL (Figura 5).

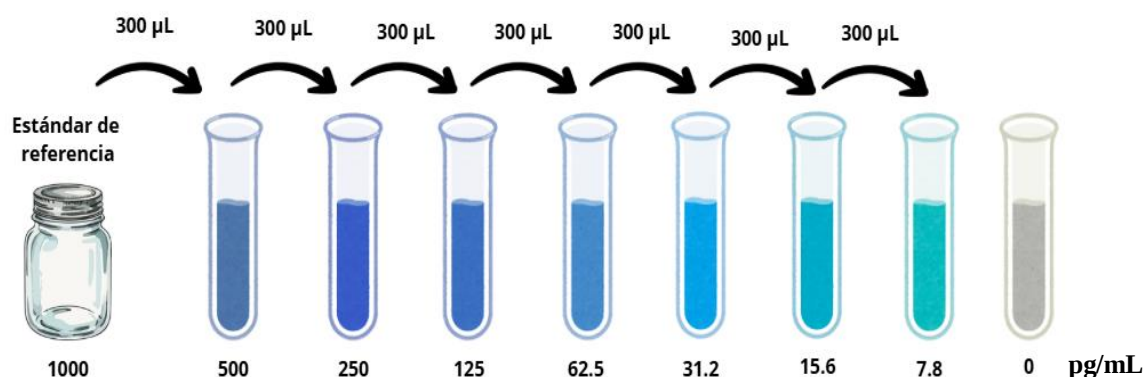


Figura 5. Diagrama de curva estándar de ET-1.

Para el anticuerpo de ET-1 biotinilado de cobayo se utilizó el diluyente (1:100). Igualmente, para el líquido del conjugado enzimático se realizó una dilución (1:100). Finalmente, para el reactivo de color, se utilizó el reactivo A y el reactivo B en la proporción de 9:1. (MyBiosource, 2017).

b. Preparación del ensayo

Se realizó la curva estándar para cada ensayo por duplicado (100 µL por pocillo) y se añadieron las muestras de plasma a los demás pocillos (100 µL por pocillo), se incubó a 37 °C durante 90 min. Se realizaron 2 lavados y posteriormente se agregó el anticuerpo ET-1 a cada pocillo (100 µL para cada uno) el cual se dejó incubar a 37 °C durante 60 min. Se lavó la placa 3 veces y se agregó el líquido del conjugado enzimático a cada pocillo, excepto a los pocillos del blanco (100 µL cada uno) dejando a 37 °C durante 30 min.

Posteriormente se lavó 5 veces la placa y se agregó 100 µL de reactivo de color a cada pocillo,

se incubó a 37 °C, 20 min. Finalmente, se añadieron 100 µl de reactivo de color C a cada pocillo mezclando bien y realizándose la lectura a 450 nm en un lector de placas *ELISA BioTek*.

- **Óxido nítrico (Nitratos)**

Nitratos: Test colorimétrico para determinar las concentraciones de nitrato reductasa. Sensibilidad: 0.09-0.78 µmol/L. Rango de detección: 13-97 µmol/L (R&D Systems, 2018).

a. Preparación de los reactivos

Se realizó una dilución 1:10 para el diluyente de reacción, mezclando 30 mL del concentrado con 270 mL de agua desionizada. Para la nitrato reductasa se reconstituyó añadiendo 1.0 mL de diluyente y se dejó reposar 15 min a temperatura ambiente. De la misma manera, la enzima se mezcló con diluyente de reacción (1:10), manteniéndose en hielo hasta su uso.

El reactivo NADH se reconstituyó con 5 mL de agua desionizada, y se dejó reposar 3 minutos con agitación suave. Para el estándar de nitrato se diluyó (1:10) para generar la curva estándar: 200, 100, 50, 25, 12.5, 6.25, 3.13 y 0 µmol/L (Figura 6).

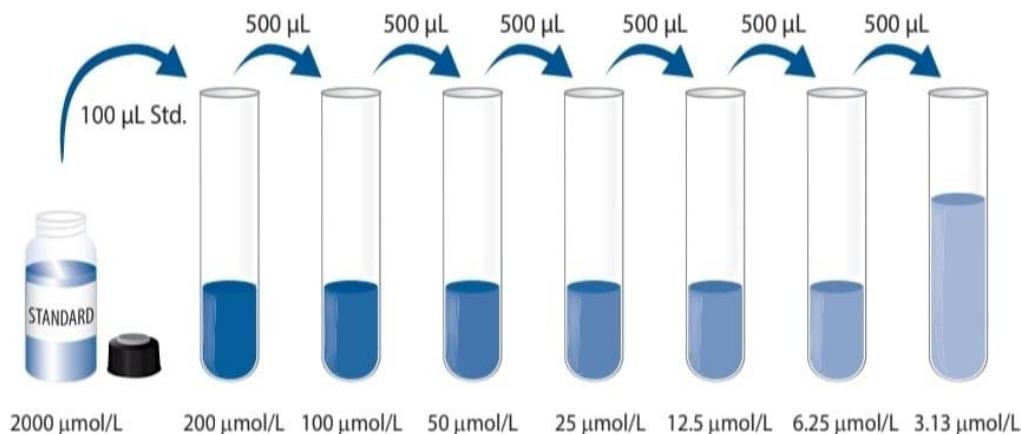


Figura 6. Diagrama de curva estándar de nitratos.

b. Preparación del ensayo

Se realizó la curva con 50 µL del estándar por duplicado, en los pozos restantes se añadió 50

μL de la muestra de suero. Se añadieron 50 μL de diluyente de reacción (1:10) a los pocillos blanco. Luego se incorporaron 25 μL de NADH y 25 μL de nitrato reductasa diluida a todos los pocillos, se cubrió y se dejó en incubación durante 30 minutos a 37 °C.

Posteriormente, se añadieron 50 μL del reactivo de Griess I y 50 μL del reactivo de Griess II, se mezcló suavemente y se incubó por 10 minutos a temperatura ambiente. Finalmente, se realizó la lectura a 540 nm en un lector de placas *ELISA BioTek*.

5.2.6 Análisis de resultados

a. Plan de análisis de resultados.

Se sometieron los datos al análisis cuantitativo de muestras mediante un ajuste de curva logística de 4 parámetros (4PL) en el *software MyAssays* (Figura 7).

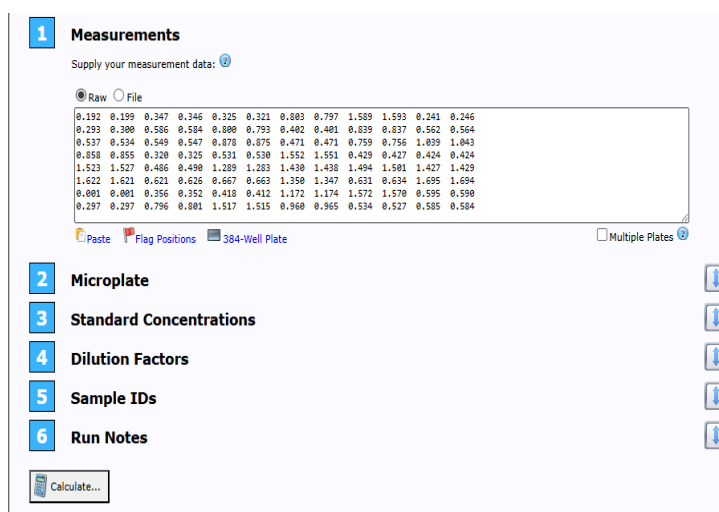


Figura 7. Software MyAssays utilizado para análisis de 4PL.

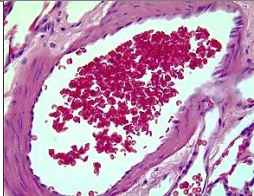
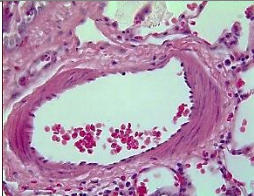
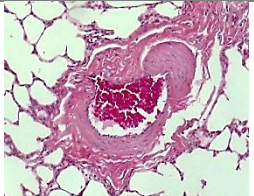
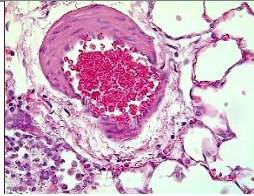
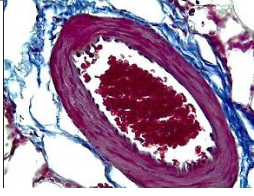
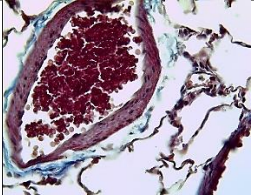
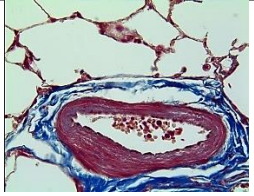
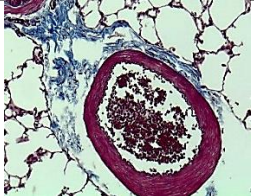
La normalidad de los datos se evaluó por la prueba de Shapiro- Wilk. Las variables presentaron una distribución normal y se realizaron pruebas de ANOVA de una vía, seguida de la prueba *post hoc* de Tukey-Kramer para identificar las diferencias estadísticamente significativas entre los grupos, se consideró $p < 0.05$ como nivel de significancia. Se utilizó el *software GraphPad Prism 8* para el análisis de datos y la realización de gráficas con barras representando el error estándar para la presentación de los datos.

5.3 Resultados y discusión

5.3.1 Histología

Los vasos sanguíneos de los cobayos del grupo control presentaron endotelio, capa muscular y adventicia normales. Los grupos de cigarro convencional y E-cig 1H, no presentaron cambios estructurales evidentes respecto al control. El grupo de E-cig 2H mostró hipertrofia muscular + observada mediante H y E en comparación con el grupo control. De la misma manera se observó un aumento de la cantidad de colágeno en los grupos de E-cig 1H y E-cig 2H en comparación con el grupo control (Tabla 1).

Tabla 1. Vasos sanguíneos pulmonares

TINCIÓN	CONTROL	CIGARRO CONVENCIONAL	E-CIG 1H	E-CIG 2H
Hematoxilina y eosina (HyE)				
Tricrómico de Masson (TM)				

La remodelación vascular se define como un proceso de adaptación y mantenimiento de la pared vascular ejecutado por las células musculares lisas y otros componentes celulares en respuesta a diversos estímulos y tensiones, estas adaptaciones se manifiestan mediante cambios estructurales y funcionales, los cuales alteran el diámetro del vaso de forma eutrófica o hipertrófica, provocando un engrosamiento anormal y pérdida de elasticidad de la pared (Santhanam, 2024).

Dichas alteraciones son el resultado de múltiples vías de señalización intracelular que afectan la proliferación, migración y apoptosis de las células vasculares, asimismo, este proceso se ve

impulsado por desequilibrios en la síntesis y degradación de la matriz extracelular (MEC), junto con respuestas inflamatorias y estrés oxidativo (Lyu *et al.*, 2020).

Es así como la lesión del endotelio predispone a la acumulación de lípidos, células inflamatorias y elementos fibrosos en las paredes arteriales, además de activación temprana de mecanismos adaptativos y/o patológicos de la pared vascular, el aumento de la cantidad de colágeno puede presentar una relación con un proceso de cicatrización del tejido vascular.

Los cambios hemodinámicos o las lesiones vasculares por remodelación vascular provocan cambios en la arquitectura vascular y se asocian con la enfermedad coronaria y la aterosclerosis (Maurer *et al.*, 2010). Además, estudios previos han demostrado que la nicotina promueve la remodelación tisular, la actividad protrombótica y la inflamación sistémica, lo cual contribuye a los cambios aterogénicos en la pared vascular (Cheraghi *et al.*, 2024).

A su vez una fragmentación de la elastina provoca un mayor número de fibras de colágeno y células musculares lisas, las cuales causan el endurecimiento de las paredes de los vasos sanguíneos al inducir la calcificación (Tomosugi *et al.*, 2017). Estos cambios están asociados a la exposición a toxinas como nicotina, saborizantes, glicerina y propilenglicol presentes en los E-cigs, los cuales pueden ser capaces de inducir daño tisular y activación de procesos de cicatrización vascular.

5.3.2 Proteína Quimioatrayente de Monocitos 1 (MCP-1)

MCP-1 mostró en el grupo de E-cig 2H una disminución estadísticamente significativa respecto al grupo de cigarro convencional. Los grupos de E-cig 1H y E-cig 2H mostraron una tendencia a la baja respecto al grupo control. Mientras que el grupo de cigarro mostró una tendencia a la alta respecto al control (Figura 8).

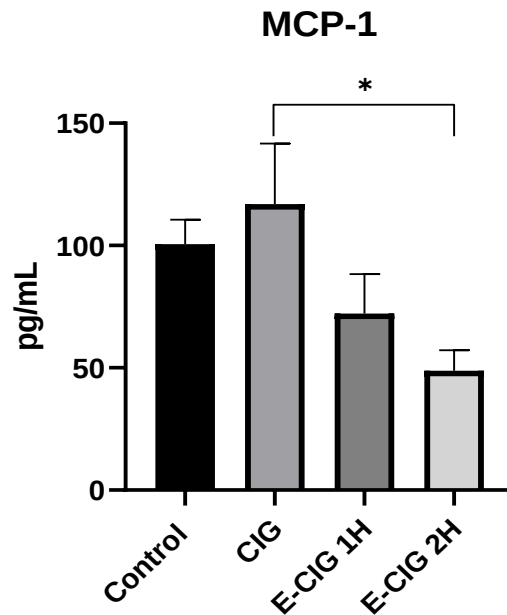


Figura 8 . Niveles de la Proteína Quimioatrayente de Monocitos (MCP-1) en muestras de plasma de cobayos expuestos a cigarro convencional (CIG) y cigarro electrónico (E-CIG) 1 hora (1H) y 2 horas (2H) durante 10 semanas (* $p < 0.05$).

MCP-1, también es conocida como CCL2 (ligando de quimiocinas 2), es la primera quimiocina descubierta en humanos. MCP-1 es sintetizada y secretada por células de músculo liso vascular, endotelio, monocitos y macrófagos; una vez secretada se une a su receptor, CCR2, el cual es un receptor acoplado a proteínas G (GPCRs) y se encarga del reclutamiento de leucocitos y especialmente monocitos, a los focos donde está teniendo lugar una respuesta inflamatoria, secundaria a una lesión endotelial y/o estrés oxidante (Singh *et al.*, 2021).

Estudios previos en biopsias de tejido pulmonar, lavado broncoalveolar (LBA) y plasma han demostrado que los genes de quimiocinas se activan en la Enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC) y en fumadores de cigarro convencional; se ha observado una sobreexpresión génica de MCP-1 en macrófagos, linfocitos T, células endoteliales y epiteliales, tanto en sujetos control como en fumadores. No obstante, los niveles de expresión de MCP-1 son significativamente superiores en pacientes fumadores con EPOC, por lo que se correlacionó con el número de macrófagos intraepiteliales, lo que indica que MCP-1 puede estar involucrado en el reclutamiento de macrófagos en el epitelio de las vías respiratorias en la

EPOC (Comandini *et al.*, 2009).

Igualmente se ha demostrado que la expresión de ARNm de MCP-1 en células epiteliales bronquiales de pacientes con EPOC es mayor en comparación con los nunca fumadores, lo que sugiere un papel del epitelio como fuente de quimiocinas proinflamatorias en la EPOC (Fuke *et al.*, 2004).

Por lo tanto, la expresión de MCP-1 indica que la exposición al cigarro convencional induce un aumento en los niveles de esta quimiocina, ejerciendo un mayor impacto proinflamatorio, lo que sugiere una mayor activación de procesos inflamatorios asociados al reclutamiento de monocitos y a la respuesta frente al daño tisular y al estrés oxidativo.

Nuestros datos muestran una tendencia similar a lo reportado en la literatura, donde el uso crónico del cigarro convencional se asocia a EPOC. Aunque los cigarrillos electrónicos (E-cig) aún no pudieran estar directamente relacionados con EPOC, estudios como el de Mohammadi *et al.* (2022) han reportado que su consumo aumenta la permeabilidad microvascular, además de un aumento significativo en los niveles circulantes de la proteína ICAM-1, generando inflamación y aumento de la permeabilidad endotelial.

5.3.3 Péptido vasoconstrictor producido por células endoteliales vasculares (Endotelina-1)

ET-1 no presentó diferencias estadísticamente significativas entre los grupos. Sin embargo, se observó una tendencia a la baja del grupo E-cig 2 horas con respecto al control (Figura 9).

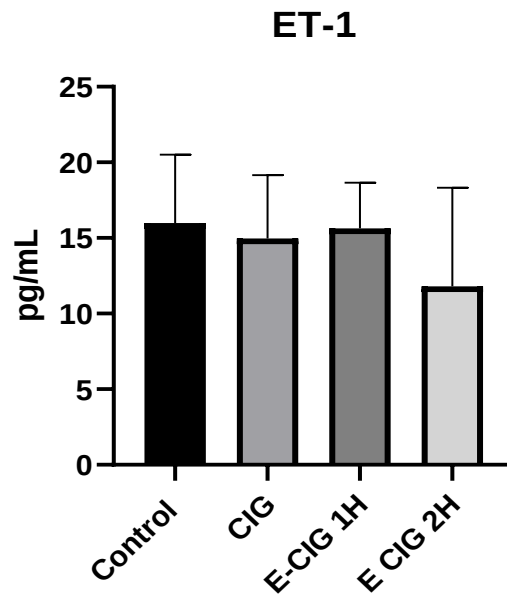


Figura 9. Niveles de Péptido vasoconstrictor producido por células endoteliales vasculares (ET-1) en muestras de plasma de cobayos expuestos a cigarro convencional (CIG) y cigarro electrónico (E-CIG) 1 hora (1H) y 2 horas (2H) durante 10 semanas.

La ET-1 también es conocida como preproendotelina-1 (PPET1), es el vasoconstrictor más potente producido por el cuerpo humano; siendo un producto peptídico de 21 aminoácidos del gen EDN1 producido por las células endoteliales vasculares, igualmente se han caracterizado dos tipos de receptores de alta afinidad, receptores de endotelinas tipo A (ET A) y tipo B (ET B) que pertenecen a la superfamilia de receptores acoplados a proteína G, a través de las cuales median sus efectos las endotelinas (Baltazares *et al.*, 2005).

La ET-1 causa una respuesta vasoconstrictora potente y duradera a través de acciones paracrinas, predominantemente en los receptores ET A de las células musculares lisas vasculares, mientras que la unión autocrina de la ET-1 a los receptores ET B de las células endoteliales produce vasodilatación a través de la liberación de óxido nítrico (Flores, 2013).

Considerando que la ET-1 se asocia a la activación endotelial y a estímulos como la nicotina, esta tendencia a la baja observada tras una mayor duración de la exposición a E-cigs podría estar relacionada con la activación de mecanismos adaptativos del endotelio frente a la estimulación continua por nicotina.

La activación de las células endoteliales puede conducir a la liberación de sustancias vasoconstrictoras, como ejemplo, la nicotina aumenta la liberación de ET-1 de las células endoteliales (Espinoza *et al.*, 2022).

En estudios se ha observado que los fumadores tienen mayores concentraciones circulantes de ET-1, además de revelar que justo después de fumar cigarrillos convencionales, la ET-1 indujo una respuesta de vasoconstricción mucho mayor que antes de fumar; igualmente el fumar solo un cigarrillo resultó en un aumento inmediato en los niveles plasmáticos de ET-1, que disminuyeron después de 15 min, se destaca a su vez que la ET-1 reduce la biodisponibilidad del NO e influye directamente en la función endotelial al reducir la expresión y la actividad de la sintasa de óxido nítrico endotelial (eNOS), y al activar la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADPH) oxidasa, una enzima productora de superóxido ubicada en células vasculares y células inflamatorias como los macrófagos (Hahad *et al.*, 2023).

5.3.4 Óxido nítrico (nitratos)

Los nitratos presentes en muestras de suero no tuvieron diferencias estadísticamente significativas. Sin embargo, se observó una tendencia a la baja de todos los grupos respecto al control siendo el de cigarro convencional el que presentó la tendencia más baja (Figura 10).

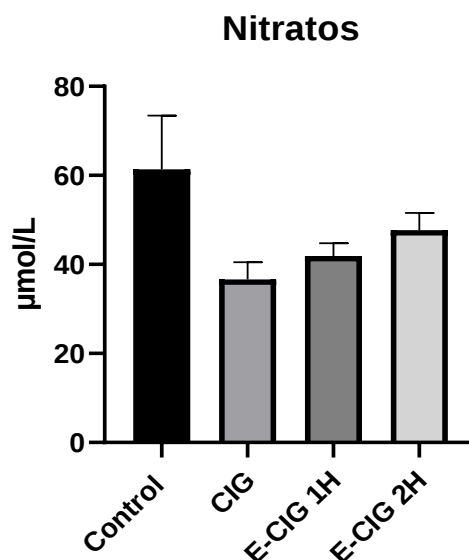


Figura 10. Niveles de nitratos presentes en muestras de suero de cobayos expuestos a cigarro convencional (CIG) y cigarro electrónico (E-CIG) 1 hora (1H) y 2 horas (2H) durante 10 semanas.

El nitrato es un compuesto que contiene un ion nitrato (NO_3^-), el cual se forma cuando el ácido nítrico (HNO_3) reacciona con una base; igualmente ejercen un efecto farmacológico al ser activados por la aldehído deshidrogenasa mitocondrial o citosólica (ALDH2) en óxido nítrico (NO), el cual es un factor relajante derivado del endotelio y es generalmente producido para dilatar los vasos sanguíneos; sin embargo, la disfunción endotelial en enfermedades como la aterosclerosis puede reducir los niveles de NO (Lee y Gerriets, 2023).

Dado que los nitratos constituyen un reservorio indirecto de NO, el cual es mediador clave de la vasodilatación y de la función endotelial, esta tendencia a la baja podría sugerir una alteración inicial en la biodisponibilidad de NO asociada a la exposición al cigarro convencional y en menor medida, a los cigarrillos electrónicos.

En estudios previos se ha demostrado que el humo del cigarrillo contiene superóxido y una gran cantidad de otras especies reactivas de oxígeno (ROS) y se ha planteado que los efectos adversos del tabaquismo resultan de una acumulación de daño oxidativo provocado por ROS en las células endoteliales, siendo estas células las que sintetizan constitutivamente NO a partir de L-arginina mediante la enzima endógena, NO sintasa, esto para regular el tono vascular, el

flujo sanguíneo local y la perfusión tisular; igualmente se han reportado bajas concentraciones plasmáticas de NO, lo que es un signo de disfunción endotelial, además de bajas concentraciones plasmáticas de ácido ascórbico en fumadores habituales, estas condiciones provocan la aceleración de la insuficiencia de la arteria coronaria y la vasoconstricción en los tejidos (Tsuchiya *et al.*, 2002).

5.4 Conclusiones

La exposición a E-cigs implica la inhalación de diversas toxinas que pueden inducir la generación de estrés oxidativo y promover procesos inflamatorios en el endotelio vascular. Estos fenómenos no solo alteran la función de las células endoteliales, sino que también afectan a las células musculares lisas vasculares, desencadenando alteraciones en la matriz extracelular. Este proceso lleva al endurecimiento progresivo de la pared vascular y a la pérdida de elasticidad, contribuyendo al desarrollo de patologías cardiovasculares a largo plazo.

Aunque E-cig parecen inducir una menor activación en el reclutamiento de células inflamatorias, no son exentos de efectos adversos sobre el endotelio, ya que, existen otras vías de lesión endotelial que no fueron evaluadas, como el factor de crecimiento transformante beta 1, metaloproteinasas de matriz y los tipos de colágeno observados en histología, los cuales son componentes profibróticos que permitirían proporcionar más información sobre los efectos que tiene el uso de los E-cigs.

Igualmente, las variaciones observadas en ET-1 y nitratos sugieren una alteración en el equilibrio entre factores vasoconstrictores y vasodilatadores, donde el E-cig se puede asociar a una mayor disfunción endotelial mediada la disminución de óxido nítrico evaluada mediante nitratos.

La evidencia presentada indica que la exposición al cigarro convencional promueve la activación de vías proinflamatorias, principalmente a través del aumento de MCP-1, favoreciendo el reclutamiento de macrófagos provocando estrés oxidativo, todos estos

mecanismos han sido implicados tanto en la aterosclerosis como en patologías asociadas como la EPOC.

Se necesita profundizar en investigaciones sobre los efectos de los E-cigs en enfermedades cardiovasculares, ya que su uso ha mostrado alteraciones y la investigación científica aún es limitada, por lo cual se requiere informar a la sociedad para una comprensión crítica de sus riesgos. Asimismo, es fundamental que se formulen políticas de prevención en torno a su consumo, ya que, aunque su comercialización y distribución se encuentran prohibidas siguen utilizándose. Esta situación, demuestra la necesidad de fortalecer estrategias de vigilancia de los E-cigs, así como educación para la salud y toma de decisiones informadas para el bienestar colectivo y reducir sus impactos en la salud pública.

6. Vínculo de las actividades realizadas con el plan de estudios

El tabaquismo convencional ejerce un impacto sobre la inflamación vascular y disfunción endotelial; a su vez, los E-cig poseen la capacidad de inducir alteraciones fibróticas en vasos sanguíneos que son relevantes a largo plazo, por lo cual, la integración de conocimientos de biología celular y molecular, fisiología y bioquímica permiten analizar de manera más completa, cómo los compuestos presentes en el cigarro convencional y en los E-cig afectan la función endotelial. Asimismo, el diseño y ejecución de estudios experimentales que incluyen análisis moleculares y evaluación de marcadores biológicos de lesión endotelial ayudan a comprender el alcance real de este problema de salud.

Por lo tanto, este tema representa un desafío de salud pública que requiere de una participación de equipo profesional para generar conocimiento que contribuya a la toma de decisiones informadas, políticas preventivas el uso de los E-cigs y educación para la salud, reafirmando de esta forma el compromiso ético y social como se plantea en el Módulo Conocimiento y Sociedad logrando la relación entre ciencia y sociedad abordando la construcción del conocimiento científico para la toma de decisiones.

Igualmente en la realización de mi servicio social participé en actividades de biología molecular y bioquímica que se vinculan con los Módulos Procesos Celulares Fundamentales y Energía y Consumo de Sustancias Fundamentales, aprendiendo y comprendiendo fundamentos, técnicas y normas para un correcto desempeño en un laboratorio de investigación científica. Igualmente, asistí y participé en seminarios que fortalecieron mis habilidades de comunicación además de fortalecer los conocimientos adquiridos durante mi estadía en el INER y también los adquiridos durante los otros nueve módulos de la Licenciatura en Biología.

7. Bibliografía

- Acosta, A. G., Añez, J., Andará, C. V., Bermúdez, V., Bermúdez, F. (2006). Mecanismos moleculares de la disfunción endotelial: de la síntesis a la acción del óxido nítrico. *Archivos Venezolanos de Farmacología y Terapéutica*. 25(2): 54-59.
- American Veterinary Medical Association (AVMA). (2020). AVMA Guidelines for the Euthanasia of Animals: 2020 Edition, Schaumburg, AVMA. pp. 34-35.
- Arriaga, J. L. (2023). Vapeadores: Un atentado a la salud basada en el autoengaño. En Macip, I. (Coord). *Ciencia Cofepris*. N°. 8: Ciudad de México, Secretaría de Salud. pp. 17-20.
- Báez, A. R. (2023). Propuesta de plan de trabajo 2023-2028. Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias. Dr. Ismael Cosío Villegas (INER).
- Baltazares, M., Crespo, H., Ortega, J., Sotres-Vega, A., Baltazares, M.E. (2005). Sistema endotelina. *Revista del Instituto Nacional de Enfermedades Respiratorias*. Méx. 18(4): 308-320.
- Barrera, D. A., López, N., Zavala, L., Barrientos, I., Reynales, L. M. (2023). Consumo de tabaco y uso de cigarro electrónico en adolescentes y adultos mexicanos. La encuesta nacional de salud y nutrición 2022. *Salud Pública de México*. 65(suplemento 1): S65-S74. DOI: doi.org/10.21149/14830.
- Blackham, E., Kertesz, Z., Chichger, H. (2024). Electronic vape fluid activates the pulmonary endothelium and disrupts vascular integrity in vitro through an ARF6-dependent pathway. *Microvascular Research*. 153(104653): 1-10. DOI: doi.org/10.1016/j.mvr.2024.104653

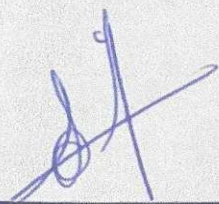
- Carriquiriborde, M. (2021). El cobayo como animal de experimentación. En Carbone, C., Ayala, M. M., Cagliada, M. (Coord). Ciencia y bienestar de los animales de laboratorio. Buenos Aires, Universidad Nacional de la Plata. Facultad de Ciencias Veterinarias. pp. 180-187.
- Chatterjee, S., Tao, J. Q., Johncola, A., Guo, W., Caporale, A., Langham, M. C., Wehrli, F. W. (2019). Acute exposure to e-cigarettes causes inflammation and pulmonary endothelial oxidative stress in nonsmoking, healthy young subjects. *American Journal of Physiology*. 317(2): L155-L166. DOI: doi.org/10.1152/ajplung.00110.2019.
- Cheraghi, M., Amiri, M., Omid, F., Bonjar, A., Bakhshi, H., Vaezi, A., Nasiri, M., Mirsaiedi, M. (2024). Acute cardiovascular effects of electronic cigarettes: a systematic review and meta-analysis. *European Heart Journal Open*. 4(6): oeae098. DOI: doi.org/10.1093/ehjopen/oeae098
- Comandini, A., Rogliani, P., Nunziata, A., Cazzola, M., Curradi, G., Saltini, C. (2009). Biomarkers of lung damage associated with tobacco smoke in induced sputum. *Respiratory Medicine*. 103(11): 1592-1613. DOI: doi.org/10.1016/j.rmed.2009.06.002.
- Del Valle, B., Martínez, V. G., Lacasa, C., Figueras, A., Shapiro, S. S., Takafuta, T., Casanovas, O., Capellà, G., Ventura, F., Viñals, F. (2010). Filamin B plays a key role in vascular endothelial growth factor-induced endothelial cell motility through its interaction with Rac-1 and Vav-2. *The Journal of Biological Chemistry*. 285(14): 10748–10760. DOI: doi.org/10.1074/jbc.M109.062984.
- Dell, R. B., Holleran, S., Ramakrishnan, R. (2002). Sample Size Determination. *ILAR Journal*. 43(4): 207-213. DOI: doi.org/10.1093/ilar.43.4.207.
- Espinoza, J., Shao, X. M., Lao, C. J., Hasan, K. M., Rivera, J. C., Jordan, M. C., Echeverria, V., Roos, K. P., Sinha-Hikim, A. P., Friedman, T. C. (2022). Electronic cigarette use and the risk of cardiovascular diseases. *Frontiers in Cardiovascular Medicine*. 9(879726): 1-9. DOI: doi.org/10.3389/fcvm.2022.879726.
- Flammer, A. J y Lüscher, T. F. (2010). Human endothelial dysfunction: EDRFs. *Pflügers Archiv- European Journal of Physiology*. 459(6): 1005-1013. DOI: doi.org/10.1007/s00424-010-0822-4.
- Flores, N. (2013). Endotelina-1: vasoconstrictor intrínseco del endotelio vascular. *Revista Med*. 21(2): 64-78.

- Fuke, S., Betsuyaku, T., Nasuhara, Y., Morikawa, T., Katoh, H., Nishimura, M. (2004). Chemokines in bronchiolar epithelium in the development of chronic obstructive pulmonary disease. *American Journal of Respiratory Cell and Molecular Biology*. 31(4): 405-412. DOI: doi.org/10.1165/rcmb.2004-0131OC.
- García, G., Martín, J. C., Martínez, C., Martínez, J. M. (2019). Conocimiento, uso y percepción de los cigarrillos electrónicos en estudiantes de ciencias de salud. *Index de Enfermería*. 28(4): 179-183.
- Gómez, A., Pérez, V. (2023). México presenta resultados de la tercera encuesta sobre tabaquismo en adultos. *Boletín de la OPS en México*. N° 1. pp. 33-35.
- Hahad, O., Kuntic, M., Kuntic, I., Daiber, A., Münzel, T. (2023). Tobacco smoking and vascular biology and function: evidence from human studies. *Pflugers Archiv- European Journal of Physiology*. 475(7): 797–805. DOI: doi.org/10.1007/s00424-023-02805-z.
- Khosravi, M., Lin, R. L., Lee, L. Y. (2018). Inhalation of electronic cigarette aerosol induces reflex bronchoconstriction by activation of vagal bronchopulmonary C-fibers. *American Journal of Physiology- Lung Cellular and Molecular Physiology*. 315(4): L467–L475. DOI: doi.org/10.1152/ajplung.00137.2018.
- Lee, P. M., Gerriets, V. (2023). Nitrates. *StatPearls*. Recuperado de <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK545149/>.
- Lyu, F., Wu, D., Wei, C., Wu, A. (2020). Vascular cognitive impairment and dementia in type 2 diabetes mellitus: An overview. *Journal Pre-proof Life Sciences*. 254(117771): 1-26. DOI: doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117771
- Margham, J., McAdam, K., Cunningham, A., Porter, A., Fiebelkorn, S., Mariner, D., Digard, H., Proctor, C. (2021). The chemical complexity of e-cigarette aerosols compared with the smoke from a tobacco burning cigarette. *Frontiers in Chemistry*. 9(743060): 1-16. DOI: doi.org/10.3389/fchem.2021.743060.
- Martínez, K., Zamudio, Y., Fernández, J., López, A. (2024). Técnicas para la determinación de proteínas: inmunofluorescencia y ELISA. *Investigación en discapacidad*. 10(2): 135-144. DOI: doi.org/10.35366/116874.
- Martínez, M. V., Montañez, Á. A., González, C. A., Fraga, M., Cossío, G., Vera, J. C. (2022). Efectos fisiopatológicos del cigarro electrónico: un problema de salud pública. *Neumología y Cirugía de Tórax*. 81(2): 121-130. DOI: doi.org/10.35366/108498.

- Maurer, L. M., Tomasini, B. R., Mosher, D. F. (2010). Emerging roles of fibronectin in thrombosis. *Thrombosis Research*. 125(4): 287-291. DOI: doi.org/10.1016/j.thromres.2009.12.017
- Mohammadi, L., Han, D. D., Xu, F., Huang, A., Derakhshandeh, R., Rao, P., Whitlatch, A., Cheng, J., Keith, R. J., Hamburg, N. M., Ganz, P., Hellman, J., Schick, S. F., Springer, M. L. (2022). Chronic E-cigarette use impairs endothelial function on the physiological and cellular levels. *Arteriosclerosis, Thrombosis and Vascular Biology*. 42(11): 1333-1350. DOI: doi.org/10.1161/ATVBAHA.121.317749.
- Montjean, D., Godin, M. H., Bélanger, M. C., Benkhalifa, M., Miron, P. (2023). An overview of E-cigarette impact on reproductive health. *Life*. 13(3): 1-14. DOI: doi.org/10.3390/life13030827.
- MyBiosource. (2017). Guinea pig endothelin 1 (ET-1) ELISA kit. Recuperado de <https://www.mybiosource.com/guinea-pig-pig-elisa-kits/endothelin-1-et-1/265321>.
- MyBiosource. (2019). Guinea pig MCP-1 (Monocyte Chemotactic Protein 1) ELISA kit. Recuperado de <https://www.mybiosource.com/guinea-pig-pig-elisa-kits/mcp-1/2507712>.
- National Institute on Drug Abuse (NIDA). (2020). Vaping devices (electronic cigarettes) DrugFacts. Recuperado de <https://nida.nih.gov/publications/drugfacts/vaping-devices-electronic-cigarettes>.
- Ngambo, G., Hanna, E. G., Gannon, J., Marcus, H., Lomazzi, M., Azari, R. (2023). A scoping review on e-cigarette environmental impacts. *Tobacco Prevention & Cessation*. 9(30): 1- 8. DOI: doi.org/10.18332/tpc/172079.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2023a). Tabaco. Recuperado de <https://www.who.int/es/news-room/fact-sheets/detail/tobacco>.
- Organización Mundial de la Salud (OMS). (2023b). Hay que actuar con urgencia para evitar que los niños y los jóvenes consuman cigarrillos electrónicos. Recuperado de <https://www.who.int/es/news/item/14-12-2023-urgent-action-needed-to-protect-children-and-prevent-the-uptake-of-e-cigarettes#:~:text=Los%20cigarrillos%20electr%C3%B3nicos%20con%20nicotina,sufrir%20trastornos%20cardiacos%20y%20pulmonares>.
- Organización Panamericana de la Salud (OPS). (2021). Sesión 1 - El impacto económico y

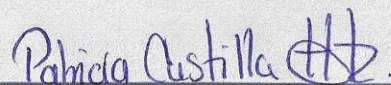
- social del tabaquismo. Recuperado de <https://www.paho.org/es/eventos/sesion-1-impacto-economico-social-tabaquismo>.
- R&D Systems. (2018). Total Nitric Oxide and Nitrate/Nitrite Assay. R&D Systems, Inc.
- Salari, N., Rahimi, S., Darvishi, N., Abdolmaleki, A., Mohammadi, M. (2024). The global prevalence of E-cigarettes in youth: A comprehensive systematic review and meta-analysis. *Public Health in Practice*. 7(100506): 1-7. DOI: doi.org/10.1016/j.puhip.2024.100506.
- ~~Santhanam, L. (2024). 6- Transglutaminases in cardiovascular health and disease. Transglutaminase. En Zhang, Y., Simpson, B.K (Eds.), Transglutaminase: Fundamentals and Applications, 1er ed. Londres, Academic Press. pp. 131-167. DOI: doi.org/10.1016/B978-0-443-19168-8.00001-8~~
- Secretaria de Salud de Puebla. (2025). Día mundial sin tabaco. Recuperado de: <https://ss.puebla.gob.mx/images/areas/informate/Tabaco%202025.pdf>
- Singh, S., Anshita, D., Ravichandiran, V. (2021). MCP-1: Function, regulation, and involvement in disease. *International Immunopharmacology*. 101(107598): 1-10. DOI: doi.org/10.1016/j.intimp.2021.107598.
- Tomosugi, N., Yamamoto, S., Takeuchi, M., Yonekura, H., Ishigaki, Y., Numata, N., Katsuda, S., Sakai, Y. (2017). Effect of collagen tripeptide on atherosclerosis in healthy humans. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*. 24(5): 530–538. DOI: doi.org/10.5551/jat.36293.
- Tsuchiya, M., Asada, A., Kasahara, E., Sato, E. F., Shindo, M., Inoue, M. (2002). Smoking a single cigarette rapidly reduces combined concentrations of nitrate and nitrite and concentrations of antioxidants in plasma. *Circulation*. 105 (10): 1155-1157. DOI: doi.org/10.1161/hc1002.105935.
- Zong, H., Hu, Z., Li, W., Wang, M., Zhou, Q., Li, X., Liu, H. (2024). Electronic cigarettes and cardiovascular disease: epidemiological and biological links. *Pflugers Archiv- European Journal of Physiology*. 476(6): 875–888. DOI: doi.org/10.1007/s00424-024-02925-0
-

8. Visto bueno de los asesores



**DRA. ALEJANDRA LOAEZA
ROMÁN**

Ced. Prof. 10992926
DEPARTAMENTO DE
INVESTIGACIÓN EN
TOXICOLOGÍA Y MEDICINA
AMBIENTAL-INER
ASESOR EXTERNO



**DRA. PATRICIA CASTILLA
HERNÁNDEZ**

No. Ec. 30606
LABORATORIO DE
BIOTECNOLOGÍA AMBIENTAL
DEPARTAMENTO EL HOMBRE Y SU
AMBIENTE
UAM-XOCHIMILCO
ASESOR INTERNO



MONTSERRAT GALLEGOS GARCÍA

MATRÍCULA. 2212032143

UAM-X