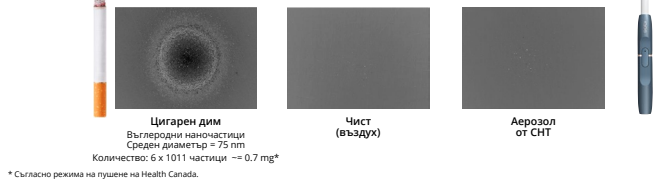




Увод и цели

Налице е причинно-следствена връзка между цигарения дим (ЦД) и развитието на сърдечносъдови заболявания (ССЗ), като тя се изразява в различни патофизиологични механизми, в т.ч. увреждане на ендотела и ендотелната дисфункция, оксидативен стрес, прокоагулантен статус, възпаление и аномален липиден профил, като всички те допринасят за развитието на атеросклероза. Намалването на вредата от тютюна чрез замяна на цигарите с по-малко вредни продукти е подход, който допълва прилаганите в момента стратегии за контрол на тютюна за пушачи, които ще продължат да пушат. Системата за нагриване на тютюн (СНТ) е ново тютюново изделие, което нагрива тютюна, а не го гори, тъй като неговата температура никога не надвишава 350°C и следователно в устройството не възниква процес на горене, и така то образува значително по-ниски концентрации на токсични вещества (средно >90%) от тези в ЦД. По-конкретно, концентрациите в аерозола на СНТ на осем вещества, които са токсични за сърдечносъдовата система (акролеин, бенз[а]антрацен, бензен, бутиралдехид, циановодород, олово, фенол и пропионалдеhid) са намалени със средно >92% в сравнение с ЦД. Освен това, аерозолът на СНТ не съдържа твърди въглородни наночастици (ТВНЧ), които се формират при горенето.



Фигура 1. СНТ образува аерозол, който не съдържа ТВНЧ

Програмата за научна оценка на Филип Морис Интернешънъл (ФМИ) има за цел да докаже, че преминаването на СНТ има потенциал да намали риска от заболявания, свързани с пушенето, в сравнение с продължителното пушене. Програмата обхваща *in vitro/in vivo* методи за токсикологични изпитвания, които се прилагат при спазване на насоките на Организацията за икономическо сътрудничество и развитие (ОИСР) и Добрите лабораторни практики, подходите за токсикология на системи и рандомизирани контролирани клинични проучвания, които се провеждат при спазване на принципите на Добрата клинична практика.

Методи

Адхезия на моноцити към човешки коронарни артериални ендотелни клетки (ЧКАЕК), критичен стадий на атеросклероза - СНТ в сравнение с ЦД (*in vitro* тест за адхезия)

Клетките са изложени на дим от референтна цигара 3R4F или воден екстракт от дим/аерозол от СНТ (дим-/аерозол-кипнат фосфат-буферизиран солан разтвор) (PBS; sbPBS/abPBS).

Кондициониран и неконициониран разтвор

Моноцитните (MM6) клетки се подлагат на глад в разтвор за 2 часа и след това се излагат на sbPBS/abPBS от 3R4F или СНТ за 4 часа. Лизатите на ЧКАЕК и MM6 се събират и съхраняват при -80°C за извличане на РНК.

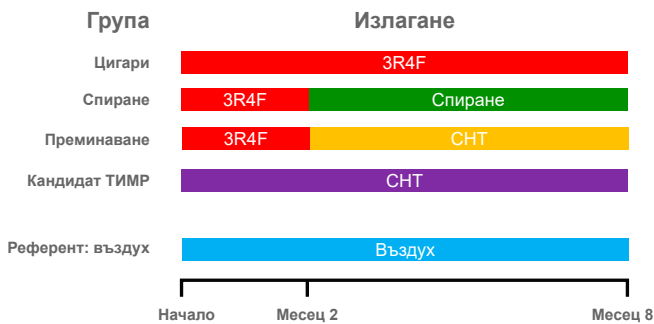
Тест за адхезия

Нетретираните MM6 клетки и третираните (4 ч.) ЧКАЕК се оцветяват за ядра в продължение на 15 минути и след това се инкубират заедно за 45 минути. След като бъдат фиксирани и измити, остатъчните адхерентни MM6 и ЧКАЕК клетки се преброяват и се изчислява степента на адхезия.

Проучване *in vivo* за изследване на атеросклеротична плака в артерната дъга

Това проучване изследва развитието на маркери за ССЗ при ApoE^{-/-} мишки, хронично изложени на ЦД от 3R4F, аерозол от СНТ (съответстващ на концентрацията на никотин в ЦД от 3R4F (30µg/l) или филтриран въздух за 3 часа на ден в продължение на 5 дни седмично до 8 месеца (приблизително 40% от живота им).

След 2 месеца на излагане на ЦД от 3R4F мишките преминават на излагане на аерозол от СНТ (преминаване), излагане на филтриран въздух (спиране) или продължаващо излагане на ЦД от 3R4F. Дозата на излагане съответства на ~30 цигари на ден при хора.



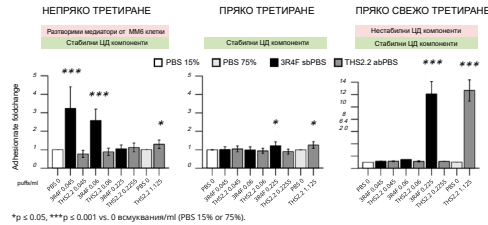
Фигура 2. Групи и излагане

Клинично проучване – биологични и функционални промени при преминалите на СНТ

Проведено е 6-месечно рандомизирано, контролирано, двуръчно в паралелни групи, многоцентрово проучване с пълнолетни пушачи от САЩ, преминали от цигари на СНТ, за да се докажат благоприятните промени в осем първични крайни точки, представителни за патологичните механизми, водещи до атеросклероза (напр. възпаление, липиден метаболизъм, ендотелна функция, тромботична функция и оксидативен стрес) при потребителите на СНТ (>70%) в сравнение с промените при хората, които продължават да пушат цигари. Общо 984 участници са разделени на случаен признак в група на продължаващи да пушат цигари (n=496) и в група на употребяващи СНТ (n=488).

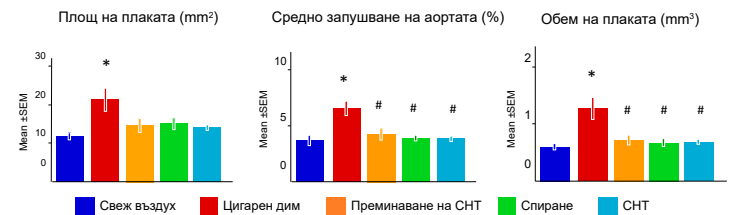
Резултати

In vitro модел – тест за адхезия

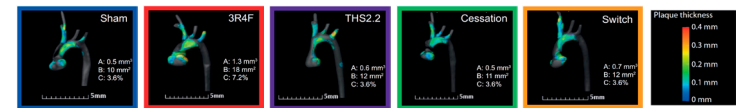


Фигура 3. Ефекти от водни екстракти от СНТ и 3R4F за адхезията на MM6 клетки към ЧКАЕК след непреко, пряко и пряко свежо третиране на ЧКАЕК

In vivo модел: данни от микро-компютърна томография (µCT) за атеросклеротична плака в артерната дъга на 7-ия месец



Фигура 4. Измервания на зоните в артерната дъга



Фигура 5. µCT изображения на артерната дъга след оцветяване (3D реконструкция, която показва позицията и дебелината на плаката)

A. обем на артерната плака (mm³); B. площ на артерната плака (mm²); C. средно запушване на артерната (%)

Клинично проучване – промени в крайните точки на 6-ия месец

Крайна точка	Промяна спрямо употребата на цигари	Очаквана промяна (използвана за определена обема на извадката)	Наблюдавана промяна Средна LS разлика/относително намаление	Доверителен интервал 96.875%, коригиран по метода на Hailperin-Rüger	едностранна p стойност (0.015)	Посока на промяна при СНТ спрямо въздействието от тютюнопушене (научна литература)
HDL-C	Разлика	3.3 mg/dl	3.09 mg/dl	1.10, 5.09	<0.001*	√ значима
Брой бели кръвни клетки	Разлика	-0.6 GI/l	-420 GI/l	-0.717, -0.123	0.001*	√ значима
siCAM-1	% намаление	12%	2.86%	-0.426, 6.04	0.030	√
11-DTX-B2	% намаление	18%	4.74%	-7.50, 15.6	0.193	√
9-epi-PGF _{2α}	% намаление	16%	6.80%	-0.216, 13.3	0.018	√
COHb	% намаление	65%	32.2%	24.5, 39.0	<0.001*	√ значима

Таблица 1. Промяна в крайните точки на 6-ия месец

Изводи и дискусия

Резултатите от програмата за оценка на СНТ показват, че:

- Аерозолът от СНТ не съдържа ТВНЧ. Освен това, концентрациите на вещества, токсични за сърдечносъдовата система, са намалени със средно >92%.
- Адхезията на моноцитни клетки към ЧКАЕК *in vitro* е значително по-ниска след третиране със СНТ, отколкото след излагане на ЦД от 3R4F.
- Преминаването на СНТ спира прогресията на атеросклеротичните промени, причинени от ЦД *in vivo*.
- При хора всички първични крайни точки, представителни за различните патологични механизми, водещи до атеросклероза, се изменят благоприятно в посоката на спиране на пушене, както е описана в научната литература, 6 месеца след преминаване от цигари на СНТ.

ФМИ е провела 18 неклинични и 10 клинични проучвания, включително и представените тук. Събраните до момента доказателства сочат, че преминаването на СНТ представлява по-малък риск от вредно въздействие и има потенциал да намали риска от заболявания, свързани с пушенето, като например ССЗ. Като следваща стъпка, ФМИ ще включи в своята програма за оценка на СНТ проучвания за сърдечносъдови последиства, чрез които да се докажат клиничните ползи от преминаване на СНТ (например намаление на риска от сърдечносъдова смърт, инфаркт на миокарда и инсулт) в сравнение с продължителното пушене.

Библиография

- C. Poussin et al. "Systems toxicology-based assessment of the candidate modified risk tobacco product THS 2.2 for the adhesion of monocytic cells to human coronary arterial endothelial cells." *Toxicology* 339 (2016): 73-86.
- B. Phillips et al. "An 8-month systems toxicology inhalation/cessation study in ApoE^{-/-} mice to investigate cardiovascular and respiratory exposure effects of a candidate modified risk tobacco product, THS 2.2, compared with conventional cigarettes." *Toxicological Sciences* 149.2 (2015): 411-432.
- SM Ansari et al. Rationale and Design for a Randomized, Controlled, Multicenter Study to Evaluate Biological and Functional Changes in Healthy Smokers Switching to the Tobacco Heating System 2.2 Versus Continued Tobacco Smoking. *JMIR Res Protoc* 2018;7(8):e11294
- F. Luedicke et al. Effects of switching to a heat-not-burn tobacco product on biologically-relevant biomarkers to assess a candidate modified risk tobacco product: a randomized trial. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev* July 3 2019