

РОЛЬ ЛИПОПОЛИСАХАРИДА ГРАМ-ОТРИЦАТЕЛЬНОЙ ФЛОРЫ В РАЗВИТИИ ВЕЙПИНГ-ИНДУЦИРОВАННОГО ПОРАЖЕНИЯ ЛЕГКИХ

Марьяненко С. П., Белоглазов В. А., Яцков И. А.

Ордена Трудового Красного Знамени Медицинский институт имени С. И. Георгиевского федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» (Медицинский институт им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского»), 295051, бул. Ленина, 5/7, Симферополь, Россия

Для корреспонденции: Марьяненко София Павловна, Медицинский институт им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского», e-mail: sofya-maryanenko@mail.ru

For correspondence: Sofia P. Maryanenko, Order of the Red Banner of Labor Medical Institute named after S. I. Georgievsky V. I. Vernadsky Crimean Federal University (Medical Institute named after S. I. Georgievsky of Vernadsky CFU), e-mail: sofya-maryanenko@mail.ru

Information about authors:

Maryanenko S. P., <https://orcid.org/0000-0003-0765-5336>

Beloglazov V. A., <https://orcid.org/0000-0001-9640-754X>

Yatskov I. A., <https://orcid.org/0000-0002-5486-7262>

РЕЗЮМЕ

С момента коммерческой разработки, использование современных электронных сигарет продолжает расти среди людей, которые никогда не курили, бывших курильщиков, которые перешли на электронные сигареты, и пользователей, как обычных сигарет, так и электронных. С таким увеличением использования накапливаются знания о раздражающем, токсическом и потенциально канцерогенном воздействии на легкие. Вещества, вдыхаемые в электронных сигаретах, содержат множество химических соединений, включая добавки, такие как растительный глицерин и пропиленгликоль, а также ароматизаторы, никотин и ацетат витамина Е. При нагревании глицерин и пропиленгликоль образуют пар и действуют как переносчики никотина и ароматизаторов. Ключевым фактором риска для появления респираторных заболеваний, связанных с вейпингом является использование электронных сигарет или подобных продуктов. Однако патогенез таких заболеваний все еще остается неясным. Было сообщено о различных патологических результатах, связанных с подобными заболеваниями, включая острое повреждение легких, диффузное альвеолярное повреждение, диффузное альвеолярное кровоотечение, организующуюся пневмонию, острую эозинофильную пневмонию, липоидную пневмонию и респираторно-бронхиолитическое интерстициальное заболевание легких. Кроме того, было упомянуто, что липополисахарид может вызывать заболевание, связанное с вейпингом. В данном обзоре был проведен поиск в научных базах данных: Киберленинка, База РИНЦ, PubMed, Cochrane, Lancet на русском и английском языках за период с 2019 по 2024 годы. Изучив литературу, мы выявили новую роль основного компонента электронной сигареты - глицерина в усилении вызванного эндотоксином повреждения посредством активации хемотаксиса нейтрофилов и фиброза. Данный эффект опосредован повышением экспрессии молекул адгезии и фиброгенеза. Эти результаты предоставляют важные доказательства того, что данный компонент электронной сигареты оказывает специфическое провоспалительное действие.

Ключевые слова: электронная сигарета, острое повреждение легких, растительный глицерин, липополисахарид, вейпинг.

THE ROLE OF GRAM-NEGATIVE FLORA LIPOPOLYSACCHARIDE IN THE DEVELOPMENT OF VAPING-INDUCED LUNG INJURY

Maryanenko S. P., Beloglazov V. A., Yatskov I. A.

Medical Institute named after S. I. Georgievsky of Vernadsky CFU, Simferopol, Russia

Since its commercial development, the use of modern e-cigarettes has continued to grow among people who have never smoked, former smokers who have switched to e-cigarettes, and users of both conventional cigarettes and e-cigarettes. With this increase in use comes growing knowledge of the irritant, toxic, and potentially carcinogenic effects on the lungs. The substances inhaled in e-cigarettes contain a variety of substances, including additives such as vegetable glycerin and propylene glycol, as well as flavorings, nicotine, and vitamin E acetate. When heated, glycerin and propylene glycol form a vapor and act as carriers of nicotine and flavorings. The key risk factor for vaping-related respiratory illnesses is the use of e-cigarettes or similar products. However, the pathogenesis of such illnesses remains unclear. Many different pathological findings have been reported associated with such diseases, including acute lung injury, diffuse alveolar injury, diffuse alveolar hemorrhage, organizing pneumonia, acute eosinophilic pneumonia, lipid pneumonia, and respiratory bronchiolitic interstitial lung disease. In addition, it has been mentioned that lipopolysaccharide may cause vaping-related disease. In this review, we searched scientific databases such as Cyberleninka, RINTS Database, PubMed, Cochrane, Lancet in Russian and English for the period from 2019 to 2024. After reviewing the literature, we identified a new role for the main component of the e-cigarette - glycerol in enhancing endotoxin-induced injury through activation of neutrophil chemotaxis and fibrosis. This effect is mediated by increased expression of adhesion molecules and fibrogenesis. These results provide important evidence that this component of

the e-cigarette has a specific pro-inflammatory effect. Corresponding author contact information: Maryanenko Sofiia Pavlovna, first-year resident in the specialty «Therapy»; Orden Trudovogo Krasnogo Znameni Meditsinskiy institute named S.I. Georgievsky of Vernadskiy CFU.

Key words: e-cigarette, acute lung injury, vegetable glycerin, lipopolysaccharide, vaping.

Респираторные заболевания являются проблемой общественного здравоохранения во всем мире. По данным Всемирной организации здравоохранения, 8 миллионов человек ежегодно умирают от табака, в том числе 1,3 миллиона некурящих, подверженных воздействию вторичного табачного дыма, что определяет актуальность разработки новых методов профилактики курения, и новых методов диагностики заболеваний легких [1].

Относительно недавно парение электронных жидкостей возникло как современный вариант курения. В своей первоначальной конструкции компоненты электронных жидкостей содержали только четыре химических вещества: никотин, пропан-1,2-диол, пропан-1,2,3-триол и воду, с целью обеспечения менее опасного способа доставки никотина, чем табачный лист [2; 3].

Электронные (е)-сигареты представляют собой новейший табачный продукт, который все чаще используется населением [4]. Однако, несмотря на свою популярность, эффект от использования электронных сигарет (вейпинга) остается плохо изученным, и хроническое использование электронных сигарет, вероятно, приведет к серьезным последствиям для здоровья. За последнее десятилетие населению было предложено множество электронных сигарет в условиях отсутствия регулирующих мер [5].

Повреждение легких, связанное с использованием электронных сигарет, вейпингом, или EVALI (E-cigarette and Vaping use-Associated Lung Injury), является недавно описанным явлением, находящимся на переднем крае исследований, привлекающим внимание врачей и ученых к результатам действия продуктов для вейпинга [6].

Сейчас электронные сигареты состоят из предварительно заполненных или заправляемых картриджей, которые содержат пропиленгликоль (PG) и растительный глицерин (VG), смешанные с различными концентрациями никотина и ароматизаторов [7]. При вдыхании они могут изменять иммунные реакции, критически важные для нормальной функции легких, и вызывать повреждение легких. Патологические проявления этого разнообразны: от организуемой пневмонии или диффузного альвеолярного повреждения до установленного интерстициального заболевания легких [8; 9].

В данном обзоре будут рассмотрены экспериментальные модели для изучения патологических изменений в легочной ткани.

Исследование Винсента И-Фонг Су и соавторов, появилось при изучении растительного глицерина, как компонента электронных сигарет, усиливающего миграцию нейтрофилов и фиброз при эндотоксин-индуцированном поражении легких посредством активации p38 MAPK [10].

Изучение окрашенных гематоксилином и эозином срезов легких мышей, которым интратрахеально вводили липополисахарид (ЛПС), выявило острое повреждение легких (ОПЛ), характеризующееся альвеолярным отеком с привлечением нейтрофилов [11]. Интратрахеальное введение растительного глицерина вызвало острую воспалительную реакцию, приведшую к легкой форме дистресс-синдрома у мышей. Примечательно, что мыши, которым вводили растительный глицерин, показали усиление патологических изменений в легких после воздействия ЛПС-индуцированного дистресс-синдрома.

На гистологических препаратах легочной ткани, окрашенных трихромом Массона, показано, что у всех мышей, которым вводили ЛПС, был выявлен значительный фиброз легких. У мышей, которым вводили растительный глицерин без ЛПС, наблюдалось значительное увеличение фиброза легких по сравнению с контрольными животными, которым вводили только фосфатный буферный раствор (ФБР) [12]. У мышей, которым вводили растительный глицерин до введения ЛПС, наблюдалось значительно более тяжелое развитие фиброза легких, чем у мышей, которым вводили ЛПС и которые не подвергались воздействию растительного глицерина [13].

Результаты этого исследования показывают, что введение растительного глицерина вызывает воспаление легких и фиброз и увеличивает тяжесть дистресс-синдрома. Привлечение легочных нейтрофилов и фиброз преобладали при дистресс-синдроме, вызванном глицерином [14].

Иммуногистохимическое (ИГХ) маркирование общих маркеров нейтрофилов: комплексного локуса лимфоцитарного антигена и миелопероксидазы показали, что по сравнению с контрольными мышами у мышей, которым вводили глицерин, наблюдалось небольшое увеличение набора нейтрофилов в легких, в то время как у мышей

с воспалением, вызванным ЛПС, наблюдалось выраженное накопление нейтрофилов в легких. Для выявления индукции фибротических изменений в легких была проведена ИГХ-маркировка трансформирующего фактора роста- β (TGF- β), центрального медиатора фиброгенеза [15]. По сравнению с контрольными мышами, значительно более высокая экспрессия TGF- β была обнаружена в легких мышей с воспалением, вызванным ЛПС (8,7% против 70,4%) и мышей, получавших глицерин. Предварительное введение глицерина усиливало экспрессию TGF- β в легких мышей с воспалением, вызванным ЛПС [16].

Патологические данные, описанные в случаях EVALI, включают пневмонию, диффузное альвеолярное повреждение, гиперчувствительный пневмонит, эозинофильную пневмонию, липоидную пневмонию, респираторно-бронхиолитическое интерстициальное заболевание легких, организующуюся пневмонию и многое другое, что позволяет предположить, что может быть задействовано более одного механизма повреждения легких [17]. Хотя ключевым фактором риска для EVALI является использование электронных сигарет, патогенез EVALI остается неясным. Результаты этого исследования показывают, что введение глицерина вызывает воспаление легких и фиброз и увеличивает тяжесть EVALI [18].

Еще одно исследование, проведенное в 2019 году Mi-Sun Lee et al., показало, что одной из возможных причин развития EVALI является эндотоксин, который может содержаться на поверхности устройства, тем самым попадая внутрь, оказывать токсический эффект [19].

Эндотоксины распространены в окружающей среде и присутствуют в более высоких концентрациях в табачном дыме, чем в воздухе помещений, свободных от табачного дыма [20].

Воздействие эндотоксина вызывает эмфизематозные изменения и ремоделирование дыхательных путей у экспериментальных животных. У людей профессиональное воздействие эндотоксина было связано с развитием обструкции дыхательных путей, респираторными симптомами, снижением функции легких и текущей атопической и неатопической астмой [21; 22]. Воздействие эндотоксина в быту также было связано с увеличением количества периферических лейкоцитов, биомаркера воспаления, и увеличением распространенности астмы [23]. Эндотоксин измеряли с помощью эндотоксин-специфического кинетического турбидиметрического анализа в лизате амебоцитов.

Среди 75 протестированных жидкостей для вейпинга, концентрация эндотоксинов была превышена в 25 продуктах. При оценке по марке производителя, концентрация эндотоксина была

выше в 7 из 10 марок [24; 25]. Это исследование является первым, в котором эндотоксин был обнаружен в картриджах электронной жидкости. Загрязнение могло произойти в любой момент во время производства ингредиентов или готовых продуктов электронных сигарет, и необходимы дальнейшие исследования, чтобы определить, приводят ли микробные загрязнители, присутствующие в электронных жидкостях до распыления, к воздействию или риску для здоровья пользователей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Аэрозоли, образующиеся при парении электронных сигарет, содержат чрезвычайно сложные нехарактерные смеси продуктов пиролиза.

Установлено, что воздействие жидкости для электронных сигарет без никотина, состоящей из глицерина и пропиленгликоля, *ex vivo* и *in vivo* приводит к острому повреждению легких. Гистологическое исследование образцов показало наличие участков эмфизематозного расширения альвеол, утолщение альвеолярных перегородок и явление плазменной проницаемости, которое *in vivo* выражено меньше, чем при воздействии *ex vivo*. Это исследование вносит вклад в наше понимание EVALI посредством разработки модели на животных, которую можно использовать для оценки потенциальной роли предполагаемо токсических веществ, входящих в состав жидкости для вейпинга. Для более подробного понимания EVALI, и решения проблем необходимы будущие исследования.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors have no conflict of interests to declare.

ЛИТЕРАТУРА

1. Layden J. E., Ghinai I., Pray I., Kimball A., Layer M., Tenforde M. W., Navon L., Hoots B., Salvatore P. P., Elderbrook M., Haupt T., Kanne J., Patel M. T., Saathoff-Huber L., King B. A., Schier J. G., Mikosz C. A., Meiman J. Pulmonary Illness Related to E-Cigarette Use in Illinois and Wisconsin - Final Report. *N Engl J Med.* 2020 Mar 5;382(10):903-916. doi: 10.1056/NEJMoa1911614.
2. Sapru S., Vardhan M., Li Q., Guo Y., Li X., Saxena D. E-cigarettes use in the United States: reasons for use, perceptions, and effects on health. *BMC Public Health.* 2020;20(1):1518. doi:10.1186/s12889-020-09572-x
3. Christiani DC. Vaping-Induced Acute Lung Injury. *N Engl J Med.* 2020 Mar;382(10):960-962. doi: 10.1056/NEJMe1912032.
4. Hajek P., Etter J. F., Benowitz N., Eissenberg T., McRobbie H. Electronic cigarettes: review of use,

content, safety, effects on smokers and potential for harm and benefit. *Addiction*. 2014;109(11):1801-10. doi: 10.1111/add.12659.

5. Kaisar MA, Prasad S, Liles T, Cucullo L. A decade of e-cigarettes: Limited research & unresolved safety concerns. *Toxicology*. 2016 Jul 15;365:67-75. doi: 10.1016/j.tox.2016.07.020.

6. Winnicka L, Shenoy MA. EVALI and the Pulmonary Toxicity of Electronic Cigarettes: A Review. *J Gen Intern Med*. 2020 Jul;35(7):2130-2135. doi: 10.1007/s11606-020-05813-2.

7. Komura, M., Sato, T., Yoshikawa, H. et al. Propylene glycol, a component of electronic cigarette liquid, damages epithelial cells in human small airways. *Respir Res*. 2022. 23;216. <https://doi.org/10.1186/s12931-022-02142-2>.

8. Wolf M., Richards J. Acute Eosinophilic Pneumonia Due to Vaping-Associated Lung Injury. *J Crit Care Med (Targu Mures)*. 2020;6(4):259-262. doi:10.2478/jccm-2020-0037

9. Hippenstiel, S., Opitz, B., Schmeck, B. et al. Lung epithelium as a sentinel and effector system in pneumonia – molecular mechanisms of pathogen recognition and signal transduction. *Respir Res*. 2006;7(97). <https://doi.org/10.1186/1465-9921-7-97>

10. O'Callaghan M., Boyle N., Fabre A., Keane M. P., McCarthy C. Vaping-Associated Lung Injury: A Review. *Medicina (Kaunas)*. 2022 Mar 10;58(3):412. doi:10.3390/medicina58030412.

11. Su VY, Chen WC, Yu WK, Wu HH, Chen H, Yang KY. Nintedanib Regulates GRK2 and CXCR2 to Reduce Neutrophil Recruitment in Endotoxin-Induced Lung Injury. *Int J Mol Sci*. 2021;22(18):9898. doi: 10.3390/ijms22189898.

12. Gan, C., Zhang, Q., Liu, H. et al. Nifuroxazide ameliorates pulmonary fibrosis by blocking myofibroblast genesis: a drug repurposing study. *Respir Res*. 2023;23(32). <https://doi.org/10.1186/s12931-022-01946-6>

13. Atzori L, Chua F, Dunsmore SE, Willis D, Barbarisi M, McAnulty RJ, Laurent GJ. Attenuation of bleomycin induced pulmonary fibrosis in mice using the heme oxygenase inhibitor Zn-deuteroporphyrin IX-2,4-bisethylene glycol. *Thorax*. 2004 Mar;59(3):217-23. doi: 10.1136/thx.2003.008979.

14. Su V. Y., Chen W. C., Yu W. K., Wu H. H., Chen H., Yang K. Y. The main e-cigarette component vegetable glycerin enhances neutrophil migration and fibrosis in endotoxin-induced lung injury via p38 MAPK activation. *Respir Res*. 2023 Jan 10;24(1):9. doi:10.1186/s12931-022-02307-z.

15. Buonacera A, Stancanelli B, Colaci M, Malatino L. Neutrophil to Lymphocyte Ratio: An Emerging Marker of the Relationships between the Immune System and Diseases. *Int J Mol Sci*. 2022 Mar 26;23(7):3636. doi: 10.3390/ijms23073636.

16. Sayed AA, Allam AA, Sayed AI, Alraey MA, Joseph MV. The use of neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) as a marker for COVID-19 infection in Saudi Arabia: A case-control retrospective multicenter study. *Saudi Med J*. 2021;42(4):370-376. doi: 10.15537/smj.2021.42.4.20200818.

17. Marrocco A, Singh D, Christiani DC, Demokritou P. E-cigarette vaping associated acute lung injury (EVALI): state of science and future research needs. *Crit Rev Toxicol*. 2022;52(3):188-220. doi: 10.1080/10408444.2022.2082918.

18. Hage R., Fretz V., Schuurmans M. M. Electronic cigarettes and vaping associated pulmonary illness (VAPI): A narrative review. *Pulmonology*. 2020 Sep-Oct;26(5):291-303. doi:10.1016/j.pulmoe.2020.02.009.

19. Bhakat B, Pal J, Das S, Charaborty SK, SircarMedical NR, Kolkata, RGKar, NorthBengal, Siliguri. A Prospective Study to Evaluate the Possible Role of Cholecalciferol Supplementation on Autoimmunity in Hashimoto's Thyroiditis. *J Assoc Physicians India*. 2023 Jan;71(1):1.

20. Szponar B., Pehrson C., Larsson L. Bacterial and fungal markers in tobacco smoke. *Sci Total Environ*. 2012 Nov 1;438:447-51. doi: 10.1016/j.scitotenv.2012.08.067.

21. Sebastian A, Pehrson C, Larsson L. Elevated concentrations of endotoxin in indoor air due to cigarette smoking. *J Environ Monit*. 2006 May;8(5):519-22. doi: 10.1039/b600706f.

22. Cervilha DAB, Ito JT, Lourenço JD, Olivo CR, Saraiva-Romanholo BM, Volpini RA, Oliveira-Junior MC, Mauad T, Martins MA, Tibério IFLC, Vieira RP, Lopes FDTQS. The Th17/Treg Cytokine Imbalance in Chronic Obstructive Pulmonary Disease Exacerbation in an Animal Model of Cigarette Smoke Exposure and Lipopolysaccharide Challenge Association. *Sci Rep*. 2019;9(1):1921. doi: 10.1038/s41598-019-38600-z.

23. Fessler M. B., Carnes M. U., Salo P. M., Wilkerson J., Cohn R. D., King D., Hoppin J. A., Sandler D. P., Travlos G., London S. J., Thorne P. S., Zeldin D. C. House Dust Endotoxin and Peripheral Leukocyte Counts: Results from Two Large Epidemiologic Studies. *Environ Health Perspect*. 2017 May 31;125(5):057010. doi:10.1289/EHP661.

24. Lee M. S., Allen J. G., Christiani D. C. Endotoxin and [Formula: see text] Contamination in Electronic Cigarette Products Sold in the United States. *Environ Health Perspect*. 2019 Apr;127(4):047008. doi:10.1289/EHP3469.

25. Kalininskiy A, Bach CT, Nacca NE, Ginsberg G, Marraffa J, Navarette KA, McGraw MD, Croft DP. E-cigarette, or vaping, product use associated lung injury (EVALI): case series and diagnostic approach. *Lancet Respir Med*. 2019 Dec;7(12):1017-1026. doi: 10.1016/S2213-2600(19)30415-1.

REFERENCES

1. Layden J. E., Ghinai I., Pray I., Kimball A., Layer M., Tenforde M. W., Navon L., Hoots B., Salvatore P. P., Elderbrook M., Haupt T., Kanne J., Patel M. T., Saathoff-Huber L., King B. A., Schier J. G., Mikosz C. A., Meiman J. Pulmonary Illness Related to E-Cigarette Use in Illinois and Wisconsin - Final Report. *N Engl J Med*. 2020 Mar 5;382(10):903-916. doi: 10.1056/NEJMoa1911614.
2. Sapru S., Vardhan M., Li Q., Guo Y., Li X., Saxena D. E-cigarettes use in the United States: reasons for use, perceptions, and effects on health. *BMC Public Health*. 2020;20(1):1518. doi:10.1186/s12889-020-09572-x
3. Christiani DC. Vaping-Induced Acute Lung Injury. *N Engl J Med*. 2020 Mar;382(10):960-962. doi: 10.1056/NEJMe1912032.
4. Hajek P., Etter J. F., Benowitz N., Eissenberg T., McRobbie H. Electronic cigarettes: review of use, content, safety, effects on smokers and potential for harm and benefit. *Addiction*. 2014;109(11):1801-10. doi: 10.1111/add.12659.
5. Kaisar MA, Prasad S, Liles T, Cucullo L. A decade of e-cigarettes: Limited research & unresolved safety concerns. *Toxicology*. 2016 Jul 15;365:67-75. doi: 10.1016/j.tox.2016.07.020.
6. Winnicka L, Shenoy MA. EVALI and the Pulmonary Toxicity of Electronic Cigarettes: A Review. *J Gen Intern Med*. 2020 Jul;35(7):2130-2135. doi: 10.1007/s11606-020-05813-2.
7. Komura, M., Sato, T., Yoshikawa, H. et al. Propylene glycol, a component of electronic cigarette liquid, damages epithelial cells in human small airways. *Respir Res*. 2022. 23;216. <https://doi.org/10.1186/s12931-022-02142-2>.
8. Wolf M., Richards J. Acute Eosinophilic Pneumonia Due to Vaping-Associated Lung Injury. *J Crit Care Med (Targu Mures)*. 2020;6(4):259-262. doi:10.2478/jccm-2020-0037
9. Hippenstiel, S., Opitz, B., Schmeck, B. et al. Lung epithelium as a sentinel and effector system in pneumonia – molecular mechanisms of pathogen recognition and signal transduction. *Respir Res*. 2006;7(97). <https://doi.org/10.1186/1465-9921-7-97>
10. O'Callaghan M., Boyle N., Fabre A., Keane M. P., McCarthy C. Vaping-Associated Lung Injury: A Review. *Medicina (Kaunas)*. 2022 Mar 10;58(3):412. doi:10.3390/medicina58030412.
11. Su VY, Chen WC, Yu WK, Wu HH, Chen H, Yang KY. Nintedanib Regulates GRK2 and CXCR2 to Reduce Neutrophil Recruitment in Endotoxin-Induced Lung Injury. *Int J Mol Sci*. 2021;22(18):9898. doi: 10.3390/ijms22189898.
12. Gan, C., Zhang, Q., Liu, H. et al. Nifuroxazide ameliorates pulmonary fibrosis by blocking myofibroblast genesis: a drug repurposing study. *Respir Res*. 2023;23(32). <https://doi.org/10.1186/s12931-022-01946-6>
13. Atzori L, Chua F, Dunsmore SE, Willis D, Barbarisi M, McAnulty RJ, Laurent GJ. Attenuation of bleomycin induced pulmonary fibrosis in mice using the heme oxygenase inhibitor Zn-deuteroporphyrin IX-2,4-bisethylene glycol. *Thorax*. 2004 Mar;59(3):217-23. doi: 10.1136/thx.2003.008979.
14. Su V. Y., Chen W. C., Yu W. K., Wu H. H., Chen H., Yang K. Y. The main e-cigarette component vegetable glycerin enhances neutrophil migration and fibrosis in endotoxin-induced lung injury via p38 MAPK activation. *Respir Res*. 2023 Jan 10;24(1):9. doi:10.1186/s12931-022-02307-z.
15. Buonacera A, Stancanelli B, Colaci M, Malatino L. Neutrophil to Lymphocyte Ratio: An Emerging Marker of the Relationships between the Immune System and Diseases. *Int J Mol Sci*. 2022 Mar 26;23(7):3636. doi: 10.3390/ijms23073636.
16. Sayed AA, Allam AA, Sayed AI, Alraey MA, Joseph MV. The use of neutrophil-to-lymphocyte ratio (NLR) as a marker for COVID-19 infection in Saudi Arabia: A case-control retrospective multicenter study. *Saudi Med J*. 2021;42(4):370-376. doi: 10.15537/smj.2021.42.4.20200818.
17. Marrocco A, Singh D, Christiani DC, Demokritou P. E-cigarette vaping associated acute lung injury (EVALI): state of science and future research needs. *Crit Rev Toxicol*. 2022;52(3):188-220. doi: 10.1080/10408444.2022.2082918.
18. Hage R., Fretz V., Schuurmans M. M. Electronic cigarettes and vaping associated pulmonary illness (VAPI): A narrative review. *Pulmonology*. 2020 Sep-Oct;26(5):291-303. doi:10.1016/j.pulmoe.2020.02.009.
19. Bhakat B, Pal J, Das S, Charaborty SK, SircarMedical NR, Kolkata, RGKar, NorthBengal, Siliguri. A Prospective Study to Evaluate the Possible Role of Cholecalciferol Supplementation on Autoimmunity in Hashimoto's Thyroiditis. *J Assoc Physicians India*. 2023 Jan;71(1):1.
20. Szponar B., Pehrson C., Larsson L. Bacterial and fungal markers in tobacco smoke. *Sci Total Environ*. 2012 Nov 1;438:447-51. doi: 10.1016/j.scitotenv.2012.08.067.
21. Sebastian A, Pehrson C, Larsson L. Elevated concentrations of endotoxin in indoor air due to cigarette smoking. *J Environ Monit*. 2006 May;8(5):519-22. doi: 10.1039/b600706f.
22. Cervilha DAB, Ito JT, Lourenço JD, Olivo CR, Saraiva-Romanholo BM, Volpini RA, Oliveira-Junior MC, Mauad T, Martins MA, Tibério IFLC, Vieira RP, Lopes FDTQS. The Th17/Treg Cytokine Imbalance in Chronic Obstructive Pulmonary Disease Exacerbation in an Animal Model of

Cigarette Smoke Exposure and Lipopolysaccharide Challenge Association. *Sci Rep.* 2019;9(1):1921. doi: 10.1038/s41598-019-38600-z.

23. Fessler M. B., Carnes M. U., Salo P. M., Wilkerson J., Cohn R. D., King D., Hoppin J. A., Sandler D. P., Travlos G., London S. J., Thorne P. S., Zeldin D. C. House Dust Endotoxin and Peripheral Leukocyte Counts: Results from Two Large Epidemiologic Studies. *Environ Health Perspect.* 2017 May 31;125(5):057010. doi:10.1289/EHP661.

24. Lee M. S., Allen J. G., Christiani D. C. Endotoxin and [Formula: see text] Contamination in Electronic Cigarette Products Sold in the United States. *Environ Health Perspect.* 2019 Apr;127(4):047008. doi:10.1289/EHP3469.

25. Kalininskiy A, Bach CT, Nacca NE, Ginsberg G, Marraffa J, Navarette KA, McGraw MD, Croft DP. E-cigarette, or vaping, product use associated lung injury (EVALI): case series and diagnostic approach. *Lancet Respir Med.* 2019 Dec;7(12):1017-1026. doi: 10.1016/S2213-2600(19)30415-1.