

**UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTE DE SANTE
DEPARTEMENT DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES**

ANNÉE : 2023

THESE : 2023 TOU3 2093

THÈSE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement

par

SOURRIBES Justine

**CIGARETTE ELECTRONIQUE : ETAT DES LIEUX SUR SA
TOXICITE, SUR LE PROFIL DES CONSOMMATEURS ET
IMPACT DE LA CRISE DE LA COVID-19 SUR SON
UTILISATION**

Date de soutenance : 06 novembre 2023

Directeur de thèse : FALLONE Frédérique

JURY

Président : BOUTET Elisa

1er assesseur : FALLONE Frédérique

2ème assesseur : NOYER Marie

PERSONNEL ENSEIGNANT
du Département des Sciences Pharmaceutiques
de la Faculté de santé
au 08 mars 2023

Professeurs Emérites

Mme BARRE A.	Biologie Cellulaire
M. BENOIST H.	Immunologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M. SALLES B.	Toxicologie

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires

Mme AYYOUB M.	Immunologie
M. CESTAC P.	Pharmacie Clinique
M. CHATELUT E.	Pharmacologie
Mme DE MAS MANSAT V.	Hématologie
M. FAVRE G.	Biochimie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie
M. PARINI A.	Physiologie
M. PASQUIER C.	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B. (Directrice-adjointe)	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

Universitaires

Mme BERNARDES-GENISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme BOUTET E.	Toxicologie - Sémiologie
Mme COSTE A.	Parasitologie
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Doyen-directeur)	Physiologie
Mme DERAËVE C.	Chimie Thérapeutique
M. FABRE N.	Pharmacognosie
Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
M. GUIARD B.	Pharmacologie
M. LETISSE F.	Chimie pharmaceutique
Mme MULLER-STAUMONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme REYBIER-VUATTOUX K.	Chimie analytique
M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
Mme SIXOU S.	Biochimie
M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique
Mme WHITE-KONING M.	Mathématiques

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires

M. DELCOURT N.	Biochimie
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique
Mme KELLER L.	Biochimie
M. PUISSET F.	Pharmacie Clinique
Mme ROUCH L.	Pharmacie Clinique
Mme ROUZAUD-LABORDE C	Pharmacie Clinique
Mme SALABERT A.S.	Biophysique
Mme SERONIE-VIVIEN S (*)	Biochimie
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie

Universitaires

Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme AUTHIER H.	Parasitologie
M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme BON C. (*)	Biophysique
M. BOUJILA J. (*)	Chimie Analytique
M. BROUILLET F.	Pharmacie Galénique
Mme CABOU C.	Physiologie
Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
Mme CHAPUY-REGAUD S. (*)	Bactériologie - Virologie
Mme COLACIOS C. (*)	Immunologie
Mme ECHINARD-DOUIN V. (*)	Physiologie
Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
Mme FALLONE F.	Toxicologie
Mme FERNANDEZ-VIDAL A.	Toxicologie
Mme GADEA A.	Pharmacognosie
Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
Mme LAJOIE-MAZENC I.	Biochimie
Mme LEFEVRE L.	Physiologie
Mme LE LAMER A-C. (*)	Pharmacognosie
M. LE NAOUR A.	Toxicologie
M. LEMARIE A.	Biochimie
M. MARTI G.	Pharmacognosie
Mme MONFERRAN S	Biochimie
M. PILLOUX L.	Microbiologie
M. SAINTE-MARIE Y.	Physiologie
M. STIGLIANI J-L.	Chimie Pharmaceutique
M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
Mme TOURRETTE-DIALLO A. (*)	Pharmacie Galénique
Mme VANSTEELANDT M.	Pharmacognosie

(*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitalo-Universitaires

M. AL SAATI A	Biochimie
Mme BAKLOUTI S.	Pharmacologie
Mme CLARAZ P.	Pharmacie Clinique
Mme CHAGNEAU C.	Microbiologie
Mme DINTILHAC A.	Droit Pharmaceutique
M. LE LOUEDEC F.	Pharmacologie
Mme RIGOLOT L.	Biologie Cellulaire, Immunologie
Mme STRUMIA M.	Pharmacie Clinique

Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Mme HAMZA Eya	Biochimie
Mme MALLI Sophia	Pharmacie Galénique
M. TABTI Redouane	Chimie Thérapeutique

REMERCIEMENTS

Aux membres du jury,

Madame Elisa Boutet,

Je vous remercie de me faire l'honneur de présider ce jury de thèse.

Madame Frédérique Fallone,

Je vous remercie d'avoir dirigé mon travail, de vous être montrée toujours disponible et d'avoir toujours fait preuve de patience et de bienveillance à mon égard. Veuillez trouver ici ma reconnaissance la plus sincère.

Madame Marie Noyer,

Merci d'avoir accepté de juger mon travail. Je suis très contente de vous compter parmi les membres de ce jury. Je garde un excellent souvenir de mon stage de fin d'études dans votre officine. Les six mois que j'ai passé à vos côtés ont participé à forger la pharmacienne que je suis aujourd'hui.

Au Docteur Jean Paul Boyes,

Je vous remercie pour l'intérêt que vous avez porté à mon travail à travers de vos corrections et de vos conseils éclairés sur mon questionnaire patient.

A mes collègues/anciens collègues,

L'équipe de la pharmacie du Tech : les pharmaciennes titulaires Stéphanie et Amandine et les préparateurs Béatrice, Sandrine, Sandra, Sophie et Albert. Un grand merci pour m'avoir accueillie, patiemment formée lors de mes stages et permis de gagner en expérience lors des périodes de vacances estivales. J'ai acquis grâce à vous de solides bases pour commencer ma carrière et je suis heureuse de pouvoir continuer à travailler dans cette super équipe en tant que pharmacienne adjointe. Je tiens également à remercier Jean-Marc, pharmacien à la retraite, pour avoir partagé avec moi un peu de son savoir-faire et de ses anecdotes de pratique officinale.

L'équipe de la pharmacie du Mondony : les pharmaciennes titulaires Sophie et Françoise et les préparateurs Angélique, Fanny, Magali, Marie, Sandrine et Gilles. Merci pour votre accueil chaleureux au sein de cette équipe où règnent la solidarité, la joie et la bonne humeur. C'est un réel plaisir de travailler avec vous au quotidien.

L'équipe de la pharmacie de Borderouge,

Pour mon stage de fin d'études qui a été très enrichissant aussi bien sur le plan professionnel que sur le plan humain. Merci pour votre disponibilité, votre écoute ainsi que pour les connaissances et la confiance que vous m'avez apportées.

A mes parents,

Le mot « merci » me semble bien trop faible et insignifiant pour décrire toute ma gratitude. Il m'est impossible de décrire en seulement quelques lignes tout ce que vous avez fait pour moi. Je me contenterai donc de dire que vous avez été des parents aimants et investis, qui ont toujours fait passer mon bonheur et mon bien être au premier plan. Quelque soient les choix que j'ai pu faire, vous m'avez soutenue et vous avez fait votre maximum pour m'aider. C'est grâce à vous si j'ai pu mener à bien mes études et un bon nombre de mes projets de vie. Je ne vous dirai jamais assez à quel point je suis reconnaissante de tout ce que vous avez fait pour moi ni assez à quel point je vous aime.

A mes amis,

Héloïse, ma meilleure amie, la sœur que je n'ai jamais eue.

On s'est rencontrées sur les bancs de la fac en première année grâce à mon étourderie et à ta générosité. Depuis, malgré des cursus et des choix de vie différents et pour mon plus grand bonheur, on ne s'est jamais quittées. Tu as toujours fait preuve d'une écoute et d'un soutien sans faille. Tu as rendu ma vie plus douce à bien des égards et j'ai énormément de bons souvenirs à tes côtés. Merci pour tout ce que tu as fait pour moi ces huit dernières années. J'espère que ce n'était que le début du chemin et que tu resteras dans ma vie encore longtemps. Tu es une femme formidable, une amie en or et tu feras une maman exceptionnelle !

Sarah et Kély, mes copines de la faculté de pharmacie

Merci pour votre présence et votre soutien quotidien pendant toutes ces années. On a surmonté les difficultés ensemble et on peut être fières du chemin parcouru. Jamais je n'oublierai ces années passées avec vous.

Estelle, ma copine de toujours.

Les années passent et tu es toujours là. La fin de l'enfance, l'adolescence et maintenant la « vraie vie d'adulte », on a grandi ensemble et quoi qu'il se passe dans nos vies respectives, quel que soit la distance qui nous sépare physiquement, on sait qu'on pourra toujours compter l'une sur l'autre. C'est ce que j'adore dans notre amitié, il peut se passer des mois sans que nous ayons le moindre contact, lorsqu'on se revoit, c'est comme si on ne s'était jamais quittées. C'est si agréable et réconfortant. Merci pour toutes ces belles années d'amitié !

Dédicace spéciale

A Grâce.

En écrivant les dernières lignes de ma thèse, c'est non sans émotions que je me remémore une des nombreuses conversations téléphoniques que nous avons eu à l'époque du lycée. Tu me taquinais sur mon choix de devenir pharmacienne, métier que tu jugeais trop routinier et ennuyeux, et je t'avais répondu en rigolant qu'on en reparlerait quand tu regretterais d'enseigner les mathématiques à des collégiens qui t'en feraient voir de toutes les couleurs. Malheureusement, tu es partie beaucoup trop tôt pour que l'on ait cette conversation un jour. J'aurais tellement aimé que l'on puisse fêter ensemble la fin de nos études et trinquer à nos réussites aussi bien personnelles que professionnelles.

TABLE DES MATIERES

Remerciements	4
Table des matières	7
Liste des schémas	10
Liste des figures	11
Liste des tableaux	12
Introduction	13
Généralités sur la cigarette électronique	15
I- Description et fonctionnement de la cigarette électronique	15
II- Composition des e-liquides	18
A. Le propylène glycol	18
B. La glycérine végétale	19
C. La nicotine.....	20
1. Pharmacodynamie de la nicotine.....	20
2. Pharmacocinétique de la nicotine	21
3. Toxicité de la nicotine	22
4. La nicotine dans les e-liquides.....	22
D. Les arômes	23
E. Les édulcorants.....	23
III- Cigarette électronique et réglementation.....	24
A. Législation européenne.....	24
1. Dossier de déclaration des produits de vapotage.....	24
2. Concentration maximale autorisée pour les e-liquides	25
B. Législation française	25
1. Publicité pour les produits de vapotage	26
2. Utilisation des dispositifs de vapotage dans les lieux accueillant du public ...	26
3. Etiquetage des liquides de recharge	27
4. Rôle de l'ANSES vis-à-vis des produits de vapotage	27
5. Conditions de vente	28
Toxicité de la cigarette électronique	29
I- Toxicité du dispositif et des liquides de recharge	29
A. Toxicité liée aux e-liquides	30

1. Les composés carbonylés	31
2. Les composés organiques volatils.....	46
3. Les nitrosamines spécifiques de la dégradation de la nicotine	50
4. Les radicaux libres de l'oxygène.....	52
B. Toxicité liée aux éléments composant la cigarette électronique	54
II- Effets des e-liquides sur les organismes vivants	57
A. Sphère cardiovasculaire.....	57
1. Rappels anatomiques sur les artères	58
2. Conséquences du vapotage sur l'intégrité de l'endothélium.....	58
3. Conséquences du vapotage sur la fonction sécrétoire de l'endothélium	60
4. Induction de pathologies cardiovasculaires par la cigarette électronique	61
B. Sphère oculaire.....	63
1. Rappels sur le film lacrymal.....	63
2. Lien entre la cigarette électronique et le syndrome des yeux secs.....	63
3. Toxicité de la cigarette électronique sur les structures de l'œil.....	66
4. Induction de cancers de l'œil chez les utilisateurs d'e-cigarette	67
C. Sphère auditive	68
1. Rappels anatomiques sur l'appareil auditif humain	68
2. Cigarette électronique et audition	68
D. Sphère oropharyngée	69
E. Sphère respiratoire basse	73
1. Cigarette électronique et clairance mucociliaire	74
2. Cigarette électronique et cytotoxicité vis-à-vis de l'épithélium bronchique	77
3. Cigarette électronique et matrice extracellulaire.....	78
4. Cigarette électronique et inflammation chronique des voies respiratoires	80
5. Cigarette électronique et fonction pulmonaire	82
6. L'EVALI ou « e-cigarette or vaping product use associated lung injury »	88
7. Cigarette électronique et cancers pulmonaires.....	89
F. Sphère uro-génitale.....	89
G. Système immunitaire.....	92

Cigarette électronique et COVID-19	94
I- Lien entre vapotage et infection au SARS-CoV-2	94
II- Profil des utilisateurs de la cigarette électronique en France pendant le confinement de mars 2020 et 3 ans plus tard	97
A. Matériel et méthode	97
1. Population étudiée	97
2. Recueil des données	98
3. Critères de jugement	98
4. Analyse des données récoltées	98
B. Résultats	99
1. Profil général des participants	99
2. Profil tabagique des participants.....	101
3. Tentatives d'arrêt.....	102
4. Profil tabagique des vapoteurs	102
5. Causes expliquant que les non-fumeurs n'ont pas poursuivi le vapotage ...	104
6. Causes de l'arrêt de l'e-cigarette chez les fumeurs/ex-fumeurs	105
7. Raisons expliquant la poursuite de l'utilisation de l'e-cigarette	105
8. Dosage en nicotine des liquides utilisés	106
9. Tabagisme et vapotage	106
10. Tabagisme, vapotage et COVID-19.....	106
C. Discussion.....	107
Conclusion	110
Bibliographie	112
Annexe.....	123

LISTE DES SCHEMAS

Schéma 1 : Structure générale d'une e-cigarette (4,5)	15
Schéma 2 : Evolution des modèles de cigarettes électroniques au fil des années	17
Schéma 3 : Formation de l'acroléine par déshydratation du glycérol (24)	33
Schéma 4 : Formation du formaldéhyde par chauffage du propylène glycol (24).....	43
Schéma 5 : Formation de l'acétaldéhyde par chauffage du propylène glycol (24).....	45
Schéma 6 : Différentes voies de synthèse du benzène (42).....	49

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Répartition des participants en fonction de leur âge.....	99
Figure 2 : Répartition des participants en fonction de leur sexe	100
Figure 3 : Répartition des participants en fonction de leur origine (faculté de pharmacie ou officine)	100
Figure 4 : Répartition des participants en fonction de leur profil tabagique	101
Figure 5 : Répartition des participants fumeurs et ex-fumeurs en fonction de leur âge d'entrée dans le tabagisme.....	101
Figure 6 : Impact du statut tabagique sur la fréquence d'utilisation de la cigarette électronique	103

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Récapitulatif des résultats obtenus par McFadden et al (115).....	96
Tableau 2 : Profil tabagique des vapoteurs quotidiens	102
Tableau 3 : Profil tabagique des vapoteurs occasionnels	103
Tableau 4 : Profil tabagique des personnes ayant testé une seule fois la cigarette électronique	103
Tableau 5 : Profil tabagique des non-vapoteurs	103

INTRODUCTION

En 2021, presque un tiers (31,9%) des Français âgés de 18 à 75 ans déclaraient être fumeurs (1). Parmi eux, 25,3% affirmaient fumer quotidiennement et le nombre moyen de cigarettes consommées a été estimé à 12,7 par jour (1). A titre de comparaison, d'après l'Organisation Mondiale de la Santé (l'OMS), nos voisins britanniques, allemands, et espagnols ne comptent respectivement « que » 15,4%, 22,0% et 27,7% de fumeurs adultes (2). Ces chiffres apparaissent élevés sachant qu'il est bien établi que le tabagisme favorise le développement de nombreuses pathologies telles que les cancers, les maladies cardio-vasculaires, buccales et respiratoires. A l'heure actuelle, en France, on estime que la consommation de tabac serait responsable de 75 000 morts par an, ce qui fait du tabagisme un véritable problème de santé publique. Face à ce constat, le gouvernement multiplie depuis plusieurs années les mesures visant à réduire le nombre de fumeurs : remboursement des traitements de substitution nicotinique (patchs, gommes à mâcher, pastilles à sucer...), hausse du prix du paquet de cigarette et ajout d'images choc de corps ravagés par la consommation de tabac.

Parallèlement à ces mesures, on observe, depuis plusieurs années, la démocratisation de l'usage de la cigarette électronique (ou e-cigarette). Cette dernière est présentée par les industriels du tabac comme une alternative moins toxique à la cigarette classique voire comme un outil pouvant être utilisé dans le cadre d'une démarche d'arrêt du tabac. Ce discours était également adopté jusqu'à très récemment par le Haut Conseil de la Santé Publique (HCSP), qui estimait que la balance bénéfice-risque de l'e-cigarette était favorable, ce qui en faisait une bonne option pour un sevrage tabagique. Or, en novembre 2021, à la suite d'une requête conjointe de la Direction Générale de la Santé (DGS) et de la Mission Interministérielle de Lutte contre les Drogues Et les Conduites Addictives (MILDECA), le HCSP a modifié ses recommandations vis-à-vis des produits de vapotage (3). Il considère désormais que l'état actuel des connaissances sur ces produits ne permet pas aux professionnels de santé de les proposer aux patients comme solution alternative ou complémentaire aux traitements de substitution nicotinique (TSN). En effet, seuls les TSN et la varénicline (Champix) ont une autorisation de mise sur le marché (AMM)

pour l'indication « sevrage tabagique » et ont démontré leur efficacité dans cette utilisation. De plus, toujours au nom du principe de précaution, le HCSP déconseille l'utilisation de la cigarette électronique chez la femme enceinte/allaitante. Toutefois, il nuance son propos en expliquant qu'en dehors du système de soin, les personnes qui le souhaitent peuvent utiliser les produits de vapotage comme aide complémentaire dans l'arrêt du tabac, car de la même façon que les données disponibles sont insuffisantes pour conclure de façon catégorique sur l'efficacité et l'innocuité du dispositif, elles ne permettent pas non plus de dire que ces produits sont plus dangereux que la cigarette classique et donc, que la balance bénéfice-risque est défavorable. En définitive, selon le HCSP, la cigarette électronique ne peut pas être considérée comme une aide au sevrage tabagique mais ça reste un très bon outil de réduction des risques chez les consommateurs de nicotine.

C'est dans ce contexte où l'innocuité et l'utilisation de la cigarette électronique font encore fortement débat que j'ai choisi d'inscrire ma thèse. Je vais, au travers de ce travail, essayer de répondre le mieux possible, aux deux questions suivantes : que savons-nous, à l'heure actuelle et dans le contexte de notre pays en pleine pandémie de COVID-19, de la toxicité de la cigarette électronique ? Quel est le profil de ses utilisateurs ? Mes travaux vont s'articuler autour de trois grandes parties : une première partie va poser les bases de mon sujet en reprenant les généralités sur les produits de vapotage, une deuxième va faire une synthèse des études scientifiques qui ont été menées ces dernières années sur la toxicité et les effets sur l'organisme des liquides de cigarettes électroniques et enfin, dans la dernière partie, à l'aide des publications réalisés sur le sujet depuis 2020 et des réponses obtenues grâce à un questionnaire patient réalisé par mes soins, je me focaliserai sur le lien qui peut exister entre COVID-19 et cigarette électronique, notamment concernant son impact sur la santé et son utilisation.

GENERALITES SUR LA CIGARETTE ELECTRONIQUE

En matière de consommation de tabac, les produits sont classés en trois catégories : les produits du tabac, les produits de vapotage et les produits à fumer à base d'autres plantes que le tabac.

Selon la directive européenne 2014/40/UE et l'article L.3513-1 du Code de la Santé Publique (CSP), la cigarette électronique est un dispositif « permettant, via un embout buccal, la consommation de vapeur contenant de la nicotine » (4). Il en existe deux catégories : les e-cigarettes jetables et les e-cigarettes réutilisables. Ces dernières peuvent être rechargées via des cartouches préremplies à usage unique ou grâce à des flacons de recharge « qui renferment un liquide contenant de la nicotine ». (3)

I- Description et fonctionnement de la cigarette électronique

L'idée sous-jacente à l'utilisation des appareils de vapotage est de pouvoir consommer de la nicotine sans avoir à passer par la combustion des feuilles de tabac. Leur fonctionnement repose sur la vaporisation, par un processus de chauffage, d'un liquide de vapotage, aussi appelé e-liquide, qui peut contenir ou non de la nicotine (5,6).

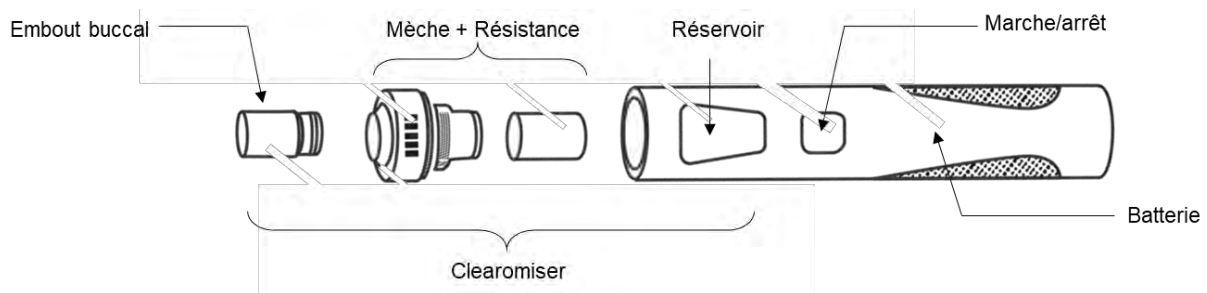


Schéma 1 : Structure générale d'une e-cigarette (4,5)

La cigarette en elle-même se compose de deux principaux éléments : la batterie et le clearomiseur.

La batterie sert à alimenter la résistance. En fonction des modèles de cigarette électronique, elle peut être manuelle, c'est-à-dire que sa mise en service nécessite d'appuyer sur un bouton, ou automatique. Lorsqu'elle est automatique, l'aspiration de l'utilisateur suffit à l'activer.

Le clearomiseur, quant à lui, comprend le réservoir, la résistance, une mèche et un embout buccal. Le e-liquide, contenu dans le réservoir, va se déplacer, par capillarité vers la résistance via cette mèche. Lorsque la batterie est allumée, la résistance va chauffer jusqu'à une soixantaine de degrés Celsius et vaporiser le liquide. Cette vapeur va ensuite être entraînée vers l'embout buccal par l'aspiration de l'utilisateur.

Les toutes premières cigarettes électroniques, commercialisées aux alentours de 2004, utilisaient les ultrasons pour vaporiser les e-liquides. Il faudra attendre 2009 pour qu'un brevet d'e-cigarette utilisant une résistance soit déposé et que les premiers modèles reprenant ce principe soient disponibles à la vente. En presque quinze ans de commercialisation, quatre générations de cigarettes électroniques fonctionnant avec une résistance se sont succédé, chacune ayant apporté leur lot d'améliorations techniques et d'évolutions en matière de design (5).

Commercialisée à partir de 2009, la première génération a une apparence très similaire à celle des cigarettes classiques aussi bien du point de vue de la taille que de la forme. Elles existent sous deux formes : jetables ou réutilisables. Le réservoir était prérempli de liquide et indissociable de la résistance : c'est la partie « consommable » du dispositif, appelée cartouche.

A partir de la deuxième génération, le design s'est éloigné de celui de la cigarette classique pour devenir plus moderne et plus coloré. C'est aussi à partir de cette génération que les cigarettes électroniques sont toutes devenues réutilisables : tous les composants sont devenus des consommables pouvant être remplacés au besoin et le réservoir pouvait être rempli par l'utilisateur avec le liquide de son choix.

La troisième génération, apparue vers 2012, est associée à une nette amélioration de la personnalisation des paramètres de « vapotage » : réglage de la puissance de la batterie et de la résistance, ajustement du volume et de la densité de la vapeur, de la taille de l'entrée d'air... Tout est fait pour que chaque utilisateur ait l'expérience la plus agréable possible et la plus adaptée à ses besoins et à ses envies.

La quatrième et dernière génération, dont les premiers modèles se sont vendus en 2014, s'est contentée d'améliorer les lignes directrices de la troisième en proposant des résistances et des batteries plus puissantes et des réglages toujours plus poussés (puissance et température de la résistance...). Cependant, un tel niveau de personnalisation implique d'avoir des dispositifs de plus en plus perfectionnés. Les

appareils sont donc devenus au fil du temps assez volumineux et lourds et il peut s'en dégager une complexité d'utilisation qui peut effrayer certains consommateurs.

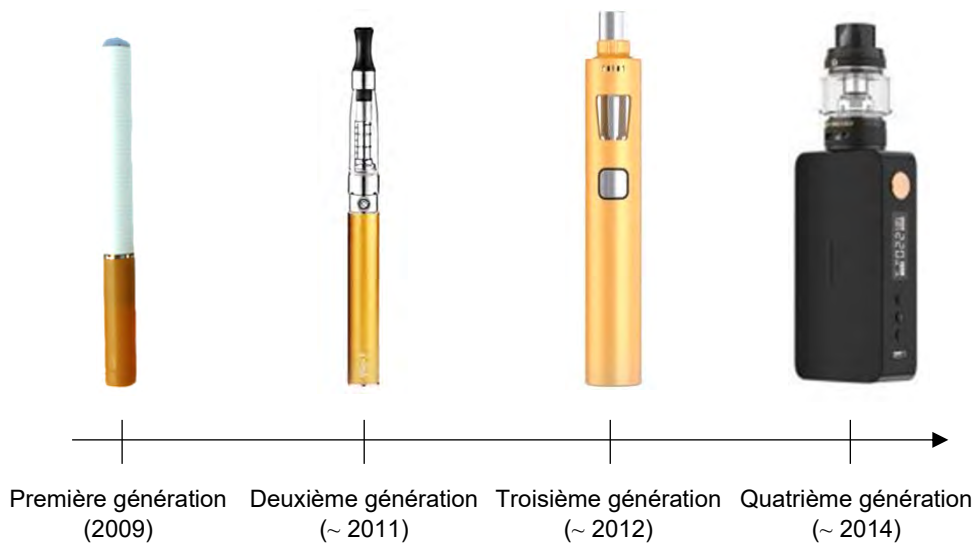


Schéma 2 : Evolution des modèles de cigarettes électroniques au fil des années

En réponse aux problématiques en lien avec la dernière génération, les industriels ont remis au goût du jour les cigarettes de la première génération en reprenant leurs caractéristiques principales et en actualisant leur forme.

De nos jours, il est donc possible d'acheter des cigarettes électroniques « pods » reprenant l'association batterie et cartouche préremplie remplaçable ainsi que le format compact et facile d'utilisation de la première génération de e-cigarette, tout en adoptant une esthétique plus « design et moderne » (5). Ces derniers mois, on a également assisté à l'apparition des « puff cigarettes », des cigarettes jetables et préremplies de e-liquide (7). Elles contiennent environ huit cents bouffées de produits soit l'équivalent de la quantité de nicotine contenue dans un paquet de cigarette classique. Avec leurs designs colorés et leurs e-liquides aux saveurs sucrés, ces puff cigarettes sont prisées par un public jeune (bien souvent mineur, malgré l'interdiction de vente des produits de vapotages aux enfants/adolescents). Le problème est que ces nouveaux usagers n'ont jamais consommé de nicotine auparavant ce qui n'était pas vraiment le cas de la première génération de cigarettes électroniques (qui concernait plutôt des fumeurs souhaitant se sevrer du tabac). En plus du problème de santé publique que peuvent représenter ces cigarettes, s'ajoute une problématique d'ordre environnementale, car contrairement aux autres produits de vapotages,

considérés comme relativement « écoresponsables » puisque chaque pièce est remplaçable, les puff cigarettes remettent à la mode des produits jetables.

II- Composition des e-liquides

Les e-liquides sont tous composés d'un mélange en proportions variables de propylène glycol, de glycérol, d'eau et d'alcool. A cette formulation de base peuvent être ajoutés, entre autres, de la nicotine et divers arômes (8).

Dans la pratique, les e-liquides peuvent contenir plusieurs dizaines de composants différents, qui n'ont pas toujours été ajoutés de façon volontaire par les fabricants. En 2018, la direction générale de la santé (DGS) a saisi l'ANSES afin d'avoir une meilleure connaissance de la composition des liquides de e-cigarettes. L'objectif était double : mieux appréhender les effets sur la santé des consommateurs et avoir un meilleur contrôle de leur conformité. A cette occasion, une analyse de liquides de vapotage a été réalisée par chromatographie liquide haute performance et spectrométrie de masse. Il s'est avéré que des composants ne figurant pas sur la liste des ingrédients déclarés à l'ANSES, ont été retrouvés (9). Il a été supposé par les auteurs du rapport que ces composants sont probablement issus de réactions chimiques ayant eu lieu à posteriori entre les substances volontairement incorporées dans la formule.

Par ailleurs, une liste noire ou « blacklist » de substances, établie dans la directive 2014/40/UE et transposée dans l'article L.3513-7 du CSP, interdit de les ajouter à la formule des e-liquides commercialisés dans l'Union Européenne.

A. Le propylène glycol

Le propylène glycol ou 1,2-propanediol est un liquide incolore, de viscosité modérée, peu volatile, sans odeur ou goût particulier (10). C'est un composé que l'on retrouve très fréquemment dans les liquides réfrigérants, et dans les produits alimentaires, cosmétiques ou pharmaceutiques où il sert de solvant, d'émulsifiant, de conservateur et/ou d'humectant.

Dans les liquides de cigarette électronique, le propylène glycol est utilisé comme solvant et exhausteur de goût, c'est-à-dire qu'il accentue les arômes. C'est aussi lui qui est responsable de la sensation d'irritation de la gorge provoquée par l'inhalation de e-liquide vaporisé. Les études montrent que c'est un composé peu toxique pour l'homme et qu'il est essentiellement responsable d'irritations cutanéo-muqueuses observées chez les professionnels qui le manipulent. Toutefois, il convient de noter que peu d'études ont analysé sa toxicité lorsqu'il est chauffé et utilisé de manière chronique par voie inhalée comme c'est le cas chez les consommateurs de cigarette électronique. Phillips et al font partie des quelques équipes ayant étudié les effets d'une exposition chronique inhalée chez le rat : ils ont conclu que le propylène glycol, associé à d'autres molécules comme la nicotine ou au glycérol, était peu toxique lors de ce type d'exposition (11).

B. La glycérine végétale

La glycérine végétale, autrement appelée glycérine, glycérol ou propan-1,2,3-triol, est un liquide incolore, visqueux et inodore (12). Elle entre dans la composition de nombreux fluides industriels, sert d'additif alimentaire, d'humectant dans les produits du tabac et est un excipient très répandu dans l'industrie pharmaceutique. Comme pour le propylène glycol, elle est peu toxique pour l'homme mais les données concernant l'exposition chronique par voie inhalée sont trop peu nombreuses pour conclure à une totale innocuité. D'après Phillips et al, en association avec les autres composants des e-liquides, la glycérine végétale posséderait même un faible potentiel toxique par voie inhalée et de façon chronique (11).

La glycérine végétale (VG) est utilisée dans les liquides de vapotage pour rendre la vapeur plus dense et plus visible. Elle est associée au propylène glycol dans des proportions variables : en fonction de l'expérience de vapotage souhaitée, le consommateur peut choisir des e-liquides avec plus ou moins de glycérol et de propylène glycol (PG). En pratique, ce sont les liquides avec un ratio de 70/30 en faveur du PG et ceux avec un mélange 50/50 de PG et de VG qui sont les plus vendus (8). Il est aussi intéressant de noter que plus les liquides sont concentrés en nicotine, plus le ratio PG/VG est en faveur du propylène glycol (8).

C. La nicotine

Alcaloïde extrait des feuilles de *Nicotiana tabacum*, plante de la famille des solanacées, la nicotine est un liquide huileux, incolore, à l'odeur et au goût âcre (13).

1. Pharmacodynamie de la nicotine

La nicotine est un agoniste des récepteurs cholinergiques de type nicotinique (11,12), qui sont pentamériques, inotropes et perméables aux cations sodium, potassium et calcium. Leur distribution est ubiquitaire dans l'organisme : on les retrouve au niveau des jonctions neuromusculaires, de la rétine, de la médullosurrénale et dans de nombreuses zones du cerveau. Ce sont les récepteurs situés dans l'aire tégmentale ventrale (ATV) qui sont responsables du haut pouvoir addictif de la nicotine (11). En effet, l'ATV est une structure cérébrale impliquée dans le circuit de la récompense (15). L'activation de ce circuit aboutit à la libération finale de dopamine, le messager chimique du plaisir. On retrouve, dans cette zone, les corps cellulaires des neurones dopaminergiques de la voie mésocorticolimbique, sur lesquels sont situés les récepteurs nicotiniques. Lorsque la nicotine va se lier à ses récepteurs, le canal ionique s'ouvre et un flux de sodium, de potassium et de calcium se crée. Cet influx ionique va entraîner une dépolarisation neuronale qui va avoir pour conséquence directe l'activation des canaux calciques voltage dépendants de la terminaison axonale. L'entrée massive de calcium, va déclencher la libération de dopamine dans la fente synaptique. La fixation de la dopamine à ses récepteurs post-synaptique va permettre l'activation du reste du circuit de la récompense et va être responsable des effets bénéfiques de la nicotine (stimulation, anxiolytique...) mais aussi des effets délétères à savoir l'addiction. A noter que ce mécanisme existe également lors de l'exposition à d'autres drogues. Il résulte de cette addiction l'apparition d'un syndrome de sevrage, se caractérisant entre autres par de l'anxiété, de l'irritabilité, une perturbation du sommeil, des troubles de la concentration et du comportement alimentaire, et survenant lorsqu'un fumeur souhaite ralentir ou stopper sa consommation.

Les effets cardiovasculaires et métaboliques de la nicotine sont dus à la fixation de cette dernière aux récepteurs nicotiques des cellules chromaffines de la médullosurrénale (11). Elles sont responsables de la libération d'adrénaline dans la circulation sanguine. Le fonctionnement est le même que celui vu précédemment avec les neurones dopaminergiques. La liaison de la nicotine sur son récepteur permet l'ouverture du canal et le passage des ions sodium. S'en suit une dépolarisation qui active les canaux calciques voltage dépendants et provoque le relargage d'adrénaline dans la circulation sanguine. On observa alors une augmentation de la tension artérielle, du rythme cardiaque, une vasoconstriction et une augmentation de la glycémie.

2. Pharmacocinétique de la nicotine

La nicotine est très fortement absorbée au niveau de la muqueuse buccale et des alvéoles pulmonaires lorsqu'elle est consommée par voie inhalée. Du fait de son caractère lipophile, on observe également une forte absorption par voie cutanée (11,12,14).

La nicotine passe bien évidemment la barrière hématoencéphalique (BHE) mais aussi la barrière placentaire et elle est excrétée dans le lait maternel. En effet, chez les femmes grandes fumeuses, des concentrations de nicotine allant jusqu'à 0,5 mg/L ont été retrouvées dans le lait maternel (11). La capacité de distribution élevée de la nicotine pose un problème chez la femme enceinte et allaitante car elle augmente le risque d'avortements spontanés et les nourrissons exposés, ont généralement un poids de naissance plus faible que les nourrissons non exposés (12).

La nicotine subit une forte métabolisation hépatique : elle est transformée en une vingtaine de métabolites différents dont la cotinine, qui reste active d'un point de vue pharmacologique (même si moins puissante que la nicotine). La demi-vie plasmatique de la nicotine varie entre 1 et 3 heures tandis que celle de la cotinine atteint facilement les 20 heures (12,14).

Enfin, l'élimination se fait majoritairement par voie rénale : on retrouve dans les urines aussi bien les formes métabolisées de la nicotine que la nicotine sous forme inchangée (12,14).

3. Toxicité de la nicotine

Les intoxications aiguës à la nicotine provoquent des nausées-vomissements, des crampes abdominales et dans les cas les plus sévères, de l'agitation et des convulsions (11). Ces symptômes ont été rapportés chez des personnes ayant ingéré de la nicotine à la dose de 0,3 mg/kg (17). Chez d'autres, il aura fallu atteindre les 6 mg/kg pour que ces mêmes symptômes apparaissent. A savoir que la dose létale de nicotine a été estimée entre 6,5 et 13 mg/kg. Lors d'une exposition chronique, la nicotine favorise le développement de pathologies cardiovasculaires (athérosclérose, pathologies coronariennes, artériopathie oblitérante des membres inférieurs) et pulmonaires (bronchopneumopathie obstructive) (12,14).

4. La nicotine dans les e-liquides

Les liquides de recharge pour cigarette électronique vendus en France ont des concentrations en nicotine allant de 0 mg/ml à 20 mg/ml (4). A l'heure actuelle, les e-liquides les plus consommés sont ceux ayant une concentration faible à modérée (3, 6 et 12 mg par ml de nicotine) (9). Néanmoins, depuis deux ou trois ans, avec l'essor des kits de vapotage « Do It Yourself », on constate une nette augmentation de la vente des « boosters », des e-liquides sans arôme, atteignant la concentration maximale en nicotine, qui sont utilisés comme « matière première ».

Si, au début de la commercialisation des cigarettes électroniques, la nicotine était toujours utilisée sous sa forme de base faible pour la formulation des liquides de vapotage, au fil des années, des liquides avec des sels de nicotine dans leur composition ont fait leur apparition (8). Utiliser la nicotine dans sa version protonée présente deux avantages. Premièrement, un produit de vapotage à base de sels de nicotine est moins irritant pour les voies respiratoires supérieures. Deuxièmement, la biodisponibilité de la nicotine est meilleure car les sels de nicotine sont moins dénaturés que la nicotine sous forme de base faible qui doit subir de nombreux processus de transformation avant de pouvoir être utilisée comme ingrédient dans les e-liquides. Ces liquides occupent encore une place faible sur le marché car ils s'adressent à un public de « niche » au sein des fumeurs. En effet, nombreux sont les fumeurs qui, lorsqu'ils remplacent la cigarette classique par la cigarette électronique,

recherchent justement la sensation d'irritation au niveau de la gorge (aussi appelée « throat hit ») or elle disparaît avec la consommation de sels de nicotine.

D. Les arômes

En ce qui concerne les arômes, une très grande variété de choix est disponible : tabac classique, fruits, menthol, sucreries... Certains sont extraits de plantes (menthe, vanille, agrumes...) et d'autres sont issus de la chimie de synthèse (8,15). Par exemple, le butyrate d'éthyle ou l'acétate d'isoamyle sont des composants qui donnent un parfum fruité (8). Les amides de synthèse WS-5 et WS-23 procurent une sensation de fraîcheur à l'utilisateur. A savoir que les substances donnant un arôme mentholé, qu'elles soient d'origine naturelles ou non, sont présentes dans presque 75% des produits commercialisés actuellement en France. Les arômes ont une double utilité : permettre au consommateur de personnaliser le plus possible son expérience de vapotage en fonction de ses désirs et masquer le goût amer de la nicotine.

E. Les édulcorants

Autre composant ayant pour objectif de masquer l'amertume de la nicotine, ce sont les sucres ou les édulcorants (8). Dans cette catégorie, on retrouve des sucres classiques comme le fructose, le galactose ou le sirop de maïs, les édulcorants d'origine naturelle comme le stévia et de réglisse et les édulcorants de synthèse que sont le sorbitol ou le xylitol. Petit à petit, on constate que les édulcorants prennent la place des sucres dans la composition des e-liquides.

III- Cigarette électronique et réglementation

Si on compare aux autres produits permettant de consommer de la nicotine, la cigarette électronique est un produit très jeune. Commercialisé en Europe depuis 2010, les premières directives encadrant la mise sur le marché et les conditions de vente des dispositifs de vapotage n'ont été votées qu'en 2014 et réellement appliquées qu'à partir du 20 mai 2016 (16).

A. Législation européenne

1. Dossier de déclaration des produits de vapotage

La directive 2014/40/UE du parlement européen et du conseil du 03 avril 2014, relative au rapprochement des dispositions législatives, réglementaires et administratives des états membres en matière de fabrication, de présentation et de vente des produits du tabac et des produits connexes, impose, aux fabricants et importateurs de produit de vapotage, la constitution d'un dossier de déclaration (8,16). Ce dossier doit comporter des informations sur le déclarant (identité et coordonnées de l'entreprise qui va commercialiser le produit), sur le produit (type, présentation du produit, masse, volume, concentration et composition du e-liquide, caractéristiques techniques de la cigarette électronique...), sur les données toxicologiques des composants des e-liquides, sur les émissions de nicotine et de composés produits dans des conditions normales d'utilisation et sur les dates de lancement et/ou de retrait du marché. Ce dossier de déclaration doit être transmis au minimum six mois avant la mise sur le marché du produit concerné (4). De plus, les entreprises commercialisant le produit de vapotage s'engagent à transmettre tous les ans les données de vente et les études de marché réalisées. Toutefois, il est à noter, qu'en dépit du caractère obligatoire de la transmission de ce dossier aux autorités compétentes du pays où le produit sera commercialisé, il ne s'agit pas d'un dossier d'autorisation de mise sur le marché.

Les produits de vapotage soumis à la directive 2014/40/UE concernent les cigarettes électroniques jetables, les cigarettes électroniques rechargeables et les cigarettes électroniques remplissables. Les catégories cigarettes rechargeables et

remplissables englobent à la fois le dispositif et les recharges (qu'ils soient vendus ensemble ou séparément) (3,8,16).

2. Concentration maximale autorisée pour les e-liquides

La directive européenne 2014/40/UE fixe, par ailleurs, à 20 mg/ml la concentration maximale en nicotine des produits de vapotage commercialisés au sein de l'union européenne. Elle plafonne également le volume des contenants de e-liquides à 10 ml pour les flacons de recharges et à 2 ml pour les cartouches (3,8). S'il dépasse les 20 mg/ml en concentration de nicotine ou s'il se revendique comme étant un outil d'aide au sevrage tabagique (article L.5121-2 du Code de la santé publique), un e-liquide peut avoir le statut de médicament. Pour avoir le statut de médicament, le fabricant doit obtenir une autorisation de mise sur le marché (AMM) pour commercialiser son produit qui rentrera alors dans le monopôle pharmaceutique. De plus, dans ce cas, le dispositif qui servira à l'administration de ce liquide obtiendra le statut de dispositif médical (et donc devra remplir toutes les obligations relatives à ce statut comme le marquage CE par exemple). Ce n'est le cas d'aucun produit de vapotage commercialisé à l'heure actuelle (20).

B. Législation française

La législation française reprend les grands principes instaurés par la directive européenne de 2014. Ces principes ont été transposés, via l'ordonnance 2016-623, au titre 1er du livre V de la troisième partie du Code de la Santé Publique (CSP) ce qui correspond aux articles L.3513-1 et suivants du CSP (3).

Il faut toutefois noter une petite subtilité par rapport à la législation européenne. Les articles du CSP relatifs aux produits de vapotage ont été regroupés sous l'intitulé « Dispositions propres aux produits du vapotage contenant de la nicotine ». Un tel intitulé sous-entend, qu'en France, l'obligation déclarative ne porte que sur les produits contenant de la nicotine. De ce fait, un flou juridique se crée car dès lors que l'article n'est pas commercialisé avec de la nicotine, cette obligation de déclaration disparaît. En d'autres termes, cela signifie qu'un industriel souhaitant mettre sur le marché

français uniquement une cigarette électronique, qui peut contenir de la nicotine mais qui n'est pas vendue avec, n'a pas l'obligation d'en faire la déclaration aux autorités compétentes.

En plus de tout ce qui concerne l'obligation déclarative pour les produits de vapotage, la concentration maximale autorisée en nicotine et le volume maximal des produits, on retrouve dans le CSP les règles encadrant les conditions de vente et d'utilisation de la cigarette électronique, ainsi que les mentions autorisées ou interdites sur les produits de vapotage (3,8).

1. Publicité pour les produits de vapotage

D'après l'article L3513-4 du CSP, « toute propagande ou publicité pour les produits de vapotage, qu'elle soit faite de façon directe ou indirecte, est strictement interdite » (3).

Quelques exceptions existent cependant et concernent les cas suivants :

- La publicité, imprimée ou en ligne, réservée aux professionnels du milieu (fabricants, distributeurs et revendeurs)
- Les affiches publicitaires que l'on retrouve à l'intérieur des boutiques commercialisant les produits de vapotage (à la condition que ces affiches ne soient pas visibles depuis l'extérieur).

2. Utilisation des dispositifs de vapotage dans les lieux accueillant du public

Tout comme il est interdit de fumer des produits du tabac dans l'espace public, il est également prohibé de vapoter dans les établissements scolaires, les établissements destinés à l'accueil/à la formation et à l'hébergement des mineurs, dans les moyens de transport publics et dans les lieux de travail fermés et couverts à usage collectif (3).

3. Etiquetage des liquides de recharge

Pour ce qui est de l'étiquetage des produits, les produits de vapotages doivent tous comporter les éléments suivants : la composition intégrale de e-liquide, sa concentration en nicotine et la quantité diffusée par dose, le numéro de lot, la mention « tenir hors de portée des enfants », un avertissement sur les dangers pour la santé de l'utilisation de la nicotine (3,16). De plus, les liquides de recharge de cigarettes électroniques sont soumis aux dispositions du règlement (CE) n°1272/2008 portant sur la classification, l'étiquetage et l'emballage des mélanges dangereux (règlement CLP) (16). Ainsi, lorsqu'un e-liquide contient entre 0,25% et 1.66% m/m de nicotine, le pictogramme nocif ou irritant doit figurer sur le flacon accompagné de la mention « attention, nocif en cas d'ingestion ». Lorsque la concentration en nicotine dépasse les 1,67% m/m, c'est le pictogramme « toxicité aigue » qui doit apparaître sur le packaging avec la mention « danger, toxique en cas d'ingestion ». Des conseils sur la bonne façon de manipuler et de conserver le produit et la marche à suivre en cas d'ingestion font également parti des mentions obligatoires pour l'étiquetage.

Enfin, il est strictement interdit pour un fabricant, un exportateur ou un revendeur de produits de vapotage de suggérer à travers l'emballage de son produit, que ce dernier a des effets bénéfiques sur la santé (vitalisant, énergisant, curatif) ou sur l'environnement, de promouvoir sa consommation en minimisant les risques sur la santé, de le faire ressembler à un produit cosmétique ou alimentaire, ou de mettre en avant de quelque manière que ce soit un avantage économique via sa consommation. (3,16)

4. Rôle de l'ANSES vis-à-vis des produits de vapotage

En France, l'autorité chargée de recueillir, d'analyser et de transmettre le dossier de déclaration est l'agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail (ANSES) (8).

L'ANSES a deux missions principales vis-à-vis des produits de vapotage. Premièrement, elle a un rôle d'information auprès du grand public qui consiste en une mise à disposition sur son site internet de la liste des produits de vapotage disponibles

sur le marché français depuis plus de 6 mois. Elle doit également fournir la composition de ces produits et mettre à jour mensuellement l'entièreté de ces informations.

Deuxièmement, l'ANSES s'est vu confier par la direction générale de la santé (DGS), une mission d'expertise à savoir la production d'un bilan des déclarations des produits présents sur le marché et l'actualisation de ce dit bilan de façon annuelle.

Enfin, le contrôle des produits déjà commercialisés et de la sanction des contrevenants en cas d'infraction, est une mission gérée par la DGS et non par l'ANSES.

5. Conditions de vente

Comme pour les produits du tabac, il est interdit de vendre des produits de vapotage aux mineurs et une pièce d'identité doit être demandée lors de l'achat afin de s'assurer que le client est bien majeur (3).

S'ils n'ont pas le statut de médicament, les produits de vapotage sont interdits à la vente en pharmacie. La vente par internet ou par distributeurs automatiques est possible mais cela pose un problème pour la vérification de l'âge de l'utilisateur (3).

TOXICITE DE LA CIGARETTE ELECTRONIQUE

La consommation de cigarettes classiques est dangereuse pour la santé, c'est un fait avéré. Nombreuses sont les études à avoir établi le lien entre tabagisme et développement de cancers, de maladies cardio-vasculaires et respiratoires. En France, en 2020, le tabagisme a été la cause de 75 000 décès, dont 45 000 (soit 60%) par cancer (21). On estime, en effet, que 80% des cancers pulmonaires, 70% des cancers des voies aériennes et digestives supérieures et 35% des cancers de la vessie sont provoqués par le tabagisme. Du côté des pathologies cardiaques, selon l'OMS, 20% des décès par infarctus du myocarde sont imputables au tabac (22). Enfin, 85% des bronchopneumopathies chroniques obstructives sont diagnostiquées chez des fumeurs. Mais, si la toxicité de la cigarette traditionnelle est bien connue de tous, que sait-on de celle de son homologue électronique ? Depuis leur commercialisation au début des années 2000, les cigarettes électroniques sont présentées comme une alternative moins nocive aux cigarettes traditionnelles, notamment en raison de l'absence de composés toxiques issus de la combustion du tabac. Cette allégation est-elle vraiment fondée ? Les recherches effectuées ces vingt dernières années mettent-elles en évidence un lien entre l'usage de e-cigarettes et l'existence un problème de santé publique ? C'est à travers une revue systématique des travaux publiés sur la toxicité de la cigarette électronique que nous allons tenter de répondre à ces questions.

I- Toxicité du dispositif et des liquides de recharge

Les cigarettes conventionnelles contiennent de nombreuses substances chimiques. Ces éléments sont, d'une part, naturellement présents dans *Nicotiana tabacum* (nicotine, arsenic absorbé via la terre, pesticides) et, d'autre part, générés lors de sa combustion (benzène, acroléine, ammoniac, formaldéhyde...). On trouve également les agents de saveurs, de texture et de conservation ajoutés par les industriels pour améliorer l'aspect et le goût de leur produit. C'est en tout environ quatre mille substances, dont certaines cancérigènes, qui entrent dans la composition des cigarettes classiques. A l'inverse, comme décrit précédemment, la composition des e-liquides peut se résumer à une dizaine de substances avec une grande

proportion de glycérine et de propylène glycol et à priori, pas de composés favorisant l'apparition de cancers. Sur le papier, la cigarette électronique semble donc un moyen plus sûr que les cigarettes classiques. Mais qu'en est-il réellement de l'innocuité des produits de vapotage une fois que ceux-ci ont été chauffés et sont restés au contact des éléments métalliques du dispositif ? Les composants des e-liquides sont-ils sans dangers lorsque les consommateurs y sont exposés de façon chronique par voie inhalée (d'autant plus lorsque l'on sait qu'il existe des kits de mélange de e-liquides à faire soi-même où les concentrations des divers composés sont encore plus variables) ?

A. Toxicité liée aux e-liquides

Afin d'identifier les composés générés lors de la décomposition par chauffage des liquides de vapotage, plusieurs études se sont intéressées à la composition des vapeurs émises lors de leur consommation. Parmi elles, une étude polonaise de 2013 a analysé les composés présents dans les aérosols des douze marques de e-liquides les plus populaires et les plus consommées en Pologne (23). Tout d'abord, un sondage a été effectué auprès de dix consommateurs de cigarettes électronique, pour connaître leurs habitudes de vapotage. Les données, ainsi obtenues, ont permis de paramétrer de la façon la plus réaliste possible le dispositif permettant de « fumer » les liquides de cigarette électronique. Ensuite, la vapeur générée a été récoltée dans des tubes permettant de piéger les composants très volatils grâce à un solide adsorbant et dans un solvant organique liquide pour les autres. L'analyse de ces échantillons a mis en évidence quatre grands types de composés que nous allons détailler ci-après : les composés carbonylés, les composés organiques volatils, les nitrosamines spécifiques de la dégradation de la nicotine et les métaux lourds.

1. Les composés carbonylés

Les composés carbonylés ont été détectés par chromatographie liquide haute performance (HPLC) couplée un détecteur à UV à barrette de diodes (23).

Pour rappel, l'HPLC est une technique de séparation utilisant deux phases non miscibles à savoir une phase mobile dont le rôle est de faire migrer les constituants de l'échantillon à analyser le long d'une phase stationnaire, qui va retenir les composés en fonction de leur affinité pour cette dernière. Ainsi, les constituants de l'échantillon seront caractérisés par un temps de rétention : plus ils ont d'affinité pour la colonne, plus ils mettront de temps à être élués jusqu'au bout. Les mécanismes de rétention varient en fonction du type de phase stationnaire utilisée. Dans cette étude, c'est une chromatographie solide-liquide qui a été réalisée avec, pour phase stationnaire, une colonne apolaire composée de gel de silice sur lequel est greffé une chaîne de dix-huit carbones et pour phase mobile, un mélange polaire d'eau et d'acétonitrile (23). Le détecteur à UV à barrettes de diodes mesure l'absorbance à 365nm des composés élués pour permettre leur identification.

Finalement, trois composés carbonylés ont été identifiés en quantités significatives dans les vapeurs des marques de e-liquides testées : l'acroléine, le formaldéhyde et l'acétaldéhyde. En 2019, Dupont et Aubin ont mis en évidence, à travers la revue systématique de cinquante-deux publications portant sur l'étude des vapeurs de cigarettes électroniques, que l'acroléine, le formaldéhyde et l'acétaldéhyde étaient retrouvés de façon quasi systématique dans leur composition (24).

1.1. L'acroléine

1.1.1. Pharmacocinétique

L'acroléine est une substance volatile connue pour être irritante pour les yeux et les muqueuses et toxique pour les voies respiratoires et le foie (25). Lors d'une exposition aiguë par voie inhalée, 80% de la dose d'acroléine est absorbée et passe dans la circulation sanguine. Elle est fortement métabolisée par le foie, qui, par l'intermédiaire d'une enzyme, la glutathion-S-transférase, la conjugue au glutathion, pour donner le S-(2-formyléthyl) -glutathion. Ce composé est, ensuite, soit réduit en

l'acide-S-(3-hydroxypropyl)-mercapturique (HPMA) soit oxydé en l'acide-S-(2-carboxyéthyl)-mercapturique (CEMA). Dans les deux cas, ces métabolites, moins toxiques que l'acroléine dont ils sont issus, sont éliminés par voie urinaire (19,20).

1.1.2. Toxicité

L'acroléine est un aldéhyde, faisant partie des substances polluantes de l'environnement. Elle est hépatotoxique : c'est une substance très réactive qui va notamment interagir avec les groupements thiols présents dans l'organisme. A forte dose, elle va ainsi entraîner une forte mobilisation des réserves hépatiques de glutathion, qui, comme expliqué ci-dessus, est au cœur de son schéma métabolique. Or, le glutathion est indispensable au maintien du potentiel d'oxydo-réduction des cellules car il est impliqué dans les mécanismes de détoxification et d'élimination des espèces réactives de l'oxygène. En provoquant une déplétion en glutathion, l'acroléine va engendrer une nécrose cellulaire, à l'origine de son hépatotoxicité.

L'acroléine est également responsable de dommages à l'ADN en raison de sa forte réactivité vis-à-vis des sites nucléophiles, mais également car elle inhibe des protéines impliquées dans des systèmes de réparation de l'ADN (21, 22, 23).

Quel que soit la voie d'exposition, l'acroléine a une très forte toxicité aiguë mais celle-ci s'observe tout particulièrement lors d'une exposition par voie inhalée. Les voies respiratoires supérieures et inférieures s'irritent, ce qui se traduit chez la personne exposée par une toux, une dyspnée, un bronchospasme et dans les cas les plus graves, un œdème pulmonaire. Lorsque la muqueuse oculaire souffre, elle aussi, d'irritation, la fréquence de clignement des paupières augmente, les yeux sont rouges, la qualité du film lacrymal est altérée et les paupières sont œdématiées (25).

Les données sur la toxicité de l'acroléine, lors d'une exposition chronique chez l'homme, sont inexistantes. Néanmoins, des travaux menés chez la souris et le rat, montrent plusieurs effets délétères tels qu'une réduction du poids corporel, des modifications histopathologiques des voies respiratoires supérieures et de sévères atteintes pulmonaires (inflammation chronique, œdème, hémorragie, métaplasie et hyperplasie) (25).

1.1.3. Acroléine et cigarette électronique

L'acroléine est un des produits issus de la dégradation par chauffage des liquides de cigarettes électroniques. En effet, étant absente ou retrouvée en très faibles quantités dans les liquides n'ayant pas été chauffés, on peut en conclure que c'est lors de leur vaporisation qu'elle se forme (30).

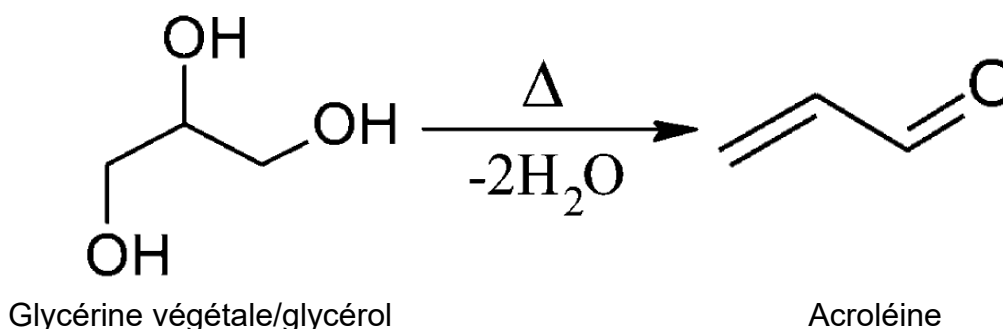


Schéma 3 : Formation de l'acroléine par réaction de déshydratation du glycérol.
D'après Sleiman et al (24).

Plus précisément, c'est la réaction de déshydratation de la glycérine végétale, présente dans les e-liquides, qui génère de l'acroléine. Deux éléments permettent d'appuyer cette affirmation. D'une part, il a été établi que les e-liquides ne contenant que du propylène glycol n'aboutissent pas à la production d'acroléine après chauffage (24, 25). D'autre part, l'augmentation de la concentration en glycérol du liquide vaporisé entraîne une augmentation de la quantité d'acroléine détectée. Néanmoins, il convient de noter que cette concentration initiale en glycérine n'est pas la seule variable entrant en jeu dans le rendement de cette réaction : la topographie des bouffées, le voltage de la batterie (et donc, par extension, la température de la résistance), la présence d'arômes ou de nicotine sont autant de facteurs influant sur la concentration finale des aérosols en acroléine (18, 24, 26, 28).

La topographie des bouffées est un terme regroupant les caractéristiques physiques du comportement du fumeur à savoir le nombre de bouffées, leur volume, leur durée et l'intervalle qui les sépare (24). Sala et son équipe ont cherché à savoir dans quelle mesure l'ensemble de ces paramètres, et plus particulièrement la durée d'une bouffée, affecte la production d'acroléine (33). Pour cela, ils ont utilisé un

dispositif permettant de générer des aérosols à partir de deux cigarettes électroniques de deuxième génération remplies d'un liquide composé de nicotine concentrée à 16 mg/ml, et d'un mélange de 60% de propylène glycol et de 40% de glycérol. La « machine à fumer » a été programmée afin d'obtenir la topographie des bouffées suivante : des bouffées, d'un volume de 70 ml et de durée variable (2, 5 et 10 secondes), espacées de 20 secondes chacune, ont été tirées par la machine lors de séances de vapotages de 5 bouffées. La composition des vapeurs ainsi obtenues a été analysée au moyen d'un spectromètre de masse couplé à un chromatographe en phase gazeuse. Il en est ressorti qu'en augmentant la durée des bouffées de e-liquide, la quantité d'acroléine produite augmentait de façon significative. Autrement dit, plus la bouffée est longue, plus le liquide est chauffé longtemps par la résistance et donc plus la quantité de glycérol déshydraté en acroléine est importante.

Toujours à l'aide d'une machine reproduisant le vapotage et d'un spectromètre de masse associé à une chromatographie en phase gazeuse, deux études, respectivement allemande et japonaise, ont confirmé que le nombre de bouffées consommées, ainsi que l'intervalle les séparant, étaient aussi des facteurs affectant la quantité d'acroléine présente dans les aérosols de cigarettes électroniques (29, 30). En effet, il est apparu que, lors des premières bouffées, la quantité d'acroléine était très faible (voire négligeable) mais que, passé un certain cap, cette quantité augmentait de façon exponentielle et proportionnellement au nombre de bouffées consommées. Bien entendu, ce nombre change en fonction du type d'e-liquide utilisé et du reste de la topographie des bouffées mais ce constat rejoint le fait que plus le liquide est chauffé longtemps, plus les vapeurs sont concentrées en acroléine et donc plus le potentiel toxique de la cigarette électronique est grand.

Le voltage et la puissance de la batterie sont deux autres paramètres influençant la production d'acroléine car ils sont intimement liés à la température de la résistance. Or, l'acroléine étant issue de la dégradation par chauffage de la glycérine végétale, il semble logique de dire que plus cette température va croître, plus les aérosols auront une teneur élevée en acroléine. C'est en tout cas cette relation de cause à effet que plusieurs équipes de chercheurs se sont attachés à démontrer. En 2017, Wang et al. ont analysé, via une chromatographie liquide haute performance, la proportion en plusieurs composés carbonylés (dont l'acroléine) des vapeurs de deux e-liquides chauffés à des températures allant de 50 à 300°C (31). L'acroléine

commence à être détectable à partir de 270°C et sa concentration augmente au fur et à mesure de l'augmentation de la température de la résistance.

Le même constat a été fait lors d'autres travaux de recherche menés en 2016 (34). Cette fois-ci, les chercheurs ont utilisé des dispositifs de vapotages dont ils ont fait varier la puissance de la batterie entre 5 et 25 watts (W). La composition du e-liquide utilisé était la suivante : 50% de glycérine, 40% de propylène glycol, 6% d'eau, 3% d'arôme tabac et 0,9% de nicotine. Pour chacune des puissances testées, six séries de dix bouffées ont été tirées et l'analyse des aérosols générés a été effectuée par une chromatographie liquide haute performance (HPLC) couplée à un détecteur UV. Comme lors de l'étude décrite précédemment, les résultats ont mis en exergue une concentration croissante des vapeurs en acroléine, proportionnelle à l'augmentation de la puissance de la batterie (et donc par extension, de la température de chauffe de la résistance). De plus, il a également été constaté que c'est aux puissances les plus élevées (à savoir 20W et 25W) que l'acroléine commence à être produite dans des quantités détectables. Ces résultats sont cohérents avec l'étude de Wang car la température de la résistance mesurée lorsque la batterie fournit une puissance de 20W est d'environ 250°C (25, 27).

Enfin, le dernier facteur ayant une incidence sur la production d'acroléine est la présence de certains arômes. Farsalinos et al. ont mesuré la teneur en composés carbonylés (acroléine incluse) des aérosols issus de quatre e-liquides aux parfums différents : un sans arôme (servant de contrôle), un arôme café, un arôme myrtille et un arôme pastèque (37). En dehors de l'arôme, ces e-liquides étaient strictement identiques : mélange de 60% de propylène glycol et de 40% de glycérol et nicotine concentrée à 1,2%. Tous ont été chauffés par une résistance alimentée par une batterie réglée à 10,7 W et pour chaque liquide, la même topographie de bouffée a été appliquée. Comme décrit précédemment, la composition qualitative et quantitative des vapeurs émises a été déterminée par HPLC couplée à un détecteur UV. Le constat est sans appel : la quantité d'acroléine produite est jusqu'à 9 fois plus élevée dans les aérosols des liquides aromatisés que dans ceux du liquide sans saveur. De plus, au sein même des e-liquides aromatisés, il y a des disparités : les e-liquides aux arômes fruités génèrent plus d'acroléine que l'e-liquide arôme café.

En résumé, de nombreux travaux de recherche montrent que le processus de vaporisation des e-liquides engendre une production non négligeable d'acroléine. Or, comme expliqué précédemment, cette dernière est responsable d'effets délétères sur l'appareil oculaire et les voies respiratoires supérieures et inférieures. Il reste, toutefois, un point important encore non abordé sur la toxicité de l'acroléine, à savoir son potentiel cancérigène.

1.1.4. L'acroléine : composé cancérigène ou non ?

Le Centre International de Recherche sur le Cancer (CIRC) a établi quatre groupes dans lesquels les produits chimiques, les mélanges de substances ainsi que les agents physiques et biologiques sont classés en fonction de leur degré de cancérogénicité (24) : le groupe 1 est celui des cancérogènes avérés pour l'homme, le groupe 2A correspond aux agents probablement cancérigènes, le groupe 2B à ceux qui sont des cancérigènes potentiels et le groupe 3 est le groupe des agents sur lesquels il y a des soupçons mais pour lesquels les études sur l'homme et/ou l'animal sont trop peu nombreuses ou ne permettent pas de conclure à une quelconque capacité à induire des cancers. Pour ce qui est de l'acroléine, elle est classée dans le groupe 2A par le CIRC. En effet, les données disponibles sont insuffisantes pour conclure à sa cancérogénicité chez l'homme. Néanmoins, les données obtenues avec les animaux de laboratoire suggèrent que l'acroléine joue un rôle dans le développement de cancers (entre autres, pulmonaires) via sa capacité à induire des mutations génétiques (25).

Il existe plusieurs types de mutations génétiques : les insertions, les délétions et les substitutions nucléotidiques. Ces dernières sont issues des erreurs de réplication commises par l'ADN polymérase, l'enzyme responsable de l'élongation du brin d'ADN. Ces erreurs peuvent être spontanées ou résulter de lésions non corrigées sur le brin d'ADN. Parmi ces dommages, on retrouve les adduits, créés par la fixation d'une molécule exogène sur une base de l'ADN (site nucléophile) par liaison covalente. L'acroléine fait partie des substances capables de générer des adduits de l'ADN, notamment, en se fixant aux guanines pour former la γ -hydroxy-1, N(2)-propano-2'-deoxyguanosine (γ -OH-PdG). C'est la production de cet adduit que Lee et al ont voulu

quantifier dans deux groupes de souris mâles : un groupe a été exposé à de l'air filtré et l'autre a été exposé à de la fumée de cigarette, connue pour contenir de nombreux composés carbonylés dont l'acroléine (27). L'exposition des rongeurs a duré huit ou seize semaines (exposition sub-chronique et chronique), à raison de six heures par jour, cinq jours par semaine. La formation d'adduits à l'ADN a ensuite été évaluée par HPLC et immunohistochimie dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire ainsi que dans différents tissus (pulmonaires, cardiaques, hépatiques et vésicaux). Des niveaux de γ -OH-PdG, significativement plus élevés que dans le groupe contrôle, ont été retrouvés dans le liquide de lavage broncho-alvéolaire mais aussi dans les tissus pulmonaires et vésicaux des souris ayant respiré la fumée de cigarette quotidiennement pendant seize semaines. En d'autres termes, l'inhalation chronique d'acroléine, peut générer la formation d'adduits de l'ADN des cellules situées sur le site d'exposition mais aussi à distance de ce dernier. Ces résultats révèlent une absorption non négligeable de ce composé au niveau pulmonaire.

Si elles ne sont pas réparées, ces lésions de l'ADN et les mutations qui en découlent, peuvent affecter l'expression des gènes par modulation de leur transcription et être à l'origine de modifications de certaines protéines suite à la traduction de l'ARN messenger. En effet, la modification des triplets de bases peut engendrer trois types de mutations : une mutation faux sens, c'est-à-dire le remplacement d'un codon par un autre donnant un acide aminé différent au niveau de la protéine, une mutation silencieuse correspondant également au remplacement d'un codon par un autre à ceci près que l'acide aminé obtenu in fine dans la protéine reste le même ou encore, une mutation non-sens à savoir l'apparition d'un codon stop qui créera une protéine tronquée. Lorsque ces mutations surviennent sur les oncogènes ou les gènes suppresseurs de tumeurs, les protéines chargées en temps normal de stopper le développement d'une cellule si celle-ci est trop endommagée, sont dysfonctionnelles et le processus de carcinogénèse se met en place.

Il a été mis en évidence par Feng et son équipe que l'acroléine induisait des mutations sur l'un de ces gènes suppresseurs de tumeurs, le gène p53 (28). L'expression de ce gène donne naissance à la protéine du même nom, qui est un facteur de transcription. Lorsque la cellule est soumise à un stress quelconque et que son matériel génétique est endommagé, la concentration de cette protéine va très fortement augmenter. P53 va venir se fixer dans la zone régulatrice des gènes régulant

le cycle cellulaire, lesquels sont impliqués dans les systèmes de réparation de l'ADN ou dans le déclenchement de l'apoptose. Ainsi, le cycle cellulaire va être bloqué en phase G1 (au lieu de passer à la phase S de réplication) et les systèmes de réparation vont être activés. Si l'ADN de la cellule est trop endommagé, alors p53 active la voie de l'apoptose. Il a été montré à de multiples reprises que les versions mutées de la protéine p53 sont retrouvées dans de nombreux cancers (foie, poumons, peau...). L'équipe de Feng a cartographié la distribution des adduits de l'ADN caractéristiques d'une exposition à l'acroléine dans le but de déterminer à quel point cette dernière pouvait altérer le fonctionnement de la voie p53 (28). En incubant l'ADN issu de cellules de l'épithélium bronchique et des fibroblastes pulmonaires humains exposés à de l'acroléine avec l'endonucléase UvrABC, capable d'exciser spécifiquement les γ -OH-PdG formées, il a été montré que les adduits apparaissaient sur des séquences codantes du gène p53, souvent mutées dans les cancers pulmonaires induits par la cigarette. Ces mutations sont retrouvées en grande partie dans les îlots CpG où les guanines mutées induisent des inversions entre les guanines et les thymines. Dans le contexte d'une exposition à l'acroléine, la probabilité que ces inversions ne soient pas réparées est grande car l'activité des systèmes de réparation de l'ADN est réduite par cette substance (27). Or, l'absence de correction de lésions générées va conduire à la formation de protéines p53 dysfonctionnelles pouvant favoriser le développement de cancers suite à l'accumulation de mutations.

Comme nous l'avons brièvement évoqué précédemment, il existe des systèmes de réparation pouvant intervenir sur les lésions survenues sur le brin d'ADN. En effet, toutes les erreurs de l'ADN polymérase et les lésions provoquées par des substances génotoxiques n'aboutissent pas automatiquement à des mutations. Parmi ces systèmes de réparation, on retrouve le Nucleotide Excision Repair (système NER) qui a pour rôle de corriger les adduits de l'ADN et les pontages intra-brins et inter-brins. Or, il semblerait que l'acroléine ne se contente pas d'endommager l'ADN via la formation d'adduits, mais qu'elle inhibe aussi les systèmes de réparation (27). Ainsi, des plasmides préalablement exposés à des rayonnements UVC ou à du peroxyde d'hydrogène, ont ensuite été incubés avec un lysat cellulaire issu des poumons des souris du groupe « air filtré » et du groupe « fumée de cigarette ». Après digestion de ces plasmides par l'enzyme de restriction Hind III, l'ADN obtenu a été soumis à une électrophorèse sur gel d'agarose, une technique permettant de séparer les molécules

selon leur poids moléculaire en les soumettant à un courant électrique. Les résultats de cette électrophorèse ont montré que l'ADN des plasmides incubés avec le lysat cellulaire des souris exposées à l'acroléine a été moins bien réparé que celui des plasmides incubés avec le lysat cellulaire des souris contrôles. Autrement dit, l'activité des systèmes de réparation est altérée dans des cellules qui ont préalablement été exposées à de la fumée de cigarette.

Dans le même temps, les chercheurs ont également analysé l'expression des protéines Xeroderma Pigmentosum C (XPC) et 8-Oxoguanine DNA glycosylase (OGG1), par Western blot, dans les lysats cellulaires issus des poumons des souris des différents groupes (27). L'objectif de cette expérience était de savoir si la fumée de cigarette induisait ou non l'expression de ces deux enzymes, nécessaires au bon déroulement du processus de réparation. Xeroderma Pigmentosum C est une protéine dont le rôle est de détecter les lésions distordant la double hélice de l'ADN et d'initier leur réparation par le système NER. La protéine OGG-1, quant à elle, est chargée d'exciser les 8-oxoguanine, des guanines endommagées par les radicaux libres de l'oxygène et incapables de s'apparier avec l'adénine, leur base complémentaire. Cette enzyme intervient avec le Base Excision Repair (BER), un autre système de réparation qui entre en jeu lorsqu'une base aberrante est incorporée à la séquence du brin d'ADN. En tant que protéine à activité de glycosidase, OGG-1 va intervenir au tout début de la réparation, en coupant la liaison β -glycosidique entre le sucre et la base, ce qui va permettre aux autres enzymes impliquées d'incorporer la bonne base. Les Western Blot d'XPC et d'OGG-1 ont révélé une réduction significative de ces deux protéines dans chez les souris exposées à la fumée de cigarette par rapport à celles non exposées (27).

En résumé, l'acroléine serait responsable, aussi bien lors d'une exposition sub-chronique que chronique, d'une diminution de l'expression des protéines XPC et OGG-1. Ces dernières étant indispensables à la mise en place des systèmes BER et NER, leur dysfonctionnement a pour conséquence une réduction de la réparation des lésions de l'ADN et donc une augmentation des mutations au niveau du matériel génétique des cellules concernées. Etant donné la capacité de l'acroléine à former des adduits de l'ADN, on peut facilement imaginer que la diminution de l'expression de XPC et d'OGG-1, résultent de mutations générées suite à des lésions non corrigées sur les gènes codant pour ces protéines, ce qui a eu pour effet la production de leurs versions dysfonctionnelles et/ou tronquées. On assisterait donc à la mise en place d'un cercle

vicieux où l'acroléine engendrerait à la fois des dommages sur les gènes impliqués dans la cancérogénèse mais aussi sur les gènes des systèmes de réparations. Non réparées, les aberrations dans les séquences d'ADN s'accumuleraient et avec elles les mutations, ce qui aboutirait à la production d'un grand nombre de protéines dysfonctionnelles pour arriver, in fine, à une transformation des cellules. Toutefois, les arguments en faveur du potentiel mutagène et cancérigène de l'acroléine n'ont été apportés que par des analyses effectuées sur des animaux exposés à de la fumée de cigarette. Or, la quantité d'acroléine contenue dans cette dernière est 10 fois plus importante que dans les aérosols d'e-cigarette (38). La question qui se pose alors est de savoir si la concentration en acroléine des vapeurs d'e-liquides est suffisante pour entraîner des lésions de l'ADN et potentiellement des mutations.

En 2017, Lee et al ont mesuré l'activité des protéines XPC et OGG-1 ainsi que les quantités de γ -OH-PdG produites dans les différents organes de souris exposées trois heures par jour, cinq jours par semaine pendant trois mois aux vapeurs d'un e-liquide sans arôme contenant 10 mg/ml de nicotine, et un mélange de 50% de propylène glycol et 50% de glycérol (29). A la suite de ces douze semaines d'exposition, des cellules pulmonaires, cardiaques et vésicales de ces souris ont été récoltées et analysées, d'une part par une technique d'immunohistochimie pour la quantification de γ -OH-PdG et d'autre part par Western Blot pour analyser l'expression des protéines du système BER et NER. Les données obtenues ont ensuite été comparées à celles obtenues chez des souris ayant respiré de l'air filtré uniquement. Comme pour la cigarette classique de hauts niveaux de γ -OH-PdG ont été mis en évidence dans les cellules pulmonaires, cardiaques et vésicales des souris exposées aux vapeurs de e-liquide. Pour ce qui est des protéines XPC et OGG-1, leur expression est également significativement réduite chez les souris qui ont été en contact avec les aérosols produits par la cigarette électronique.

L'ensemble de ces résultats prouvent que l'acroléine est présente dans les aérosols de cigarette électronique dans des quantités suffisantes pour induire des mutations et initier le processus de carcinogénèse.

Enfin, un dernier élément en faveur du potentiel cancérigène de l'acroléine est l'initiation du processus de transformation tumorale au niveau de l'épithélium bronchique et de l'urothélium chez les souris (27). En conditions physiologiques, les cellules ne peuvent subir qu'un nombre bien défini de multiplications (au-delà duquel les processus d'apoptose et de senescence se déclenchent). De plus, ces cellules possèdent une capacité appelée « inhibition de contact » impliquant qu'une cellule arrête de se multiplier lorsqu'elle touche les parois des cellules avoisinantes. Cette capacité permet d'éviter que les cellules ne forment des amas lors de leur prolifération. Quand une cellule subit une transformation tumorale, elle perd ces deux caractéristiques. Afin d'établir si l'acroléine peut initier cette transformation, sa capacité à induire une inhibition de contact a été testée sur des cellules issues d'épithélium bronchique et vésical de souris. Après exposition à l'acroléine, les cellules ont été mises en culture sur un gel d'agar-agar avec un milieu contenant tous les facteurs de croissance nécessaires à la multiplication cellulaire. Pour une même surface de culture, le nombre de colonies cellulaires se chevauchant et ayant perdu leur inhibition de contact est significativement plus élevé lorsque ces dernières ont été préalablement incubées avec de l'acroléine (que ce soit pour les cellules bronchiques ou de la vessie). Cela signifie qu'une exposition à cette substance carbonylée favorise l'acquisition des caractéristiques nécessaires à la transformation d'une cellule normale en cellule cancéreuse.

1.2. Le formaldéhyde

1.2.1. Toxicité

Le formaldéhyde, aussi connu sous le nom de méthanal ou formol, est un gaz incolore très irritant pour les muqueuses oculaires, et celles des voies respiratoires supérieures et inférieures. Il provoque de l'asthme professionnel chez les travailleurs qui y sont exposés quotidiennement.

Il est aussi reconnu pour être un cancérigène avéré (classé catégorie 1 par le CIRC depuis 2004) (39). Lors d'une exposition chronique, le formaldéhyde favoriserait la formation de cancer, notamment nasopharyngés (33). La capacité du formol à générer des pontages ADN-protéines (et notamment des pontages ADN-histones)

serait à l'origine du développement de ces cancers. En réagissant avec la fonction amine des bases adénosine ou guanine de l'ADN, il se forme respectivement, les adduits N₆-hydroxyméthyladénosine et N₆-hydroxyméthylguanosine. Ceux-ci génèreront, par la suite, un pontage avec les histones via la fonction amine de ces dernières. Les histones sont des protéines autour desquelles la double hélice d'ADN s'enroule. Elles jouent un rôle central dans les processus de réplication et de transcription. En effet, ce sont elles qui compactent et décompactent la chromatine pour interdire ou autoriser aux enzymes l'accès au brin d'ADN pour le répliquer et le transcrire. Or, la formation de liaisons covalentes entre les histones et le brin d'ADN, empêche le bon déroulement de ce processus de compaction/décompaction et, en conséquence, peut amener à la production de protéines dysfonctionnelles ou à l'absence de production de certaines protéines, conduisant in fine, à la mort de la cellule ou au développement de cancers.

1.2.2. Pharmacocinétique

Le formaldéhyde est très bien absorbé au niveau de la peau et des voies respiratoires (32, 34). C'est une molécule de petite taille avec une structure très simple : elle réagit très facilement avec les protéines et les acides nucléiques environnants, dont elle peut altérer la structure en formant des adduits. Cette grande réactivité est la cause de son volume de distribution très faible. Le formol va être métabolisé par association au glutathion pour former l'hydrométhylglutathion, lui-même oxydé par la formaldéhyde désydrégénase pour donner le S-formylglutathion. Après hydrolyse, le glutathion est régénéré et de l'acide formique sous sa forme ionisée est libéré. Ce formiate est majoritairement éliminé sous forme de CO₂ (après une étape d'oxydation) au niveau pulmonaire et, dans des quantités beaucoup plus faibles, dans les urines.

1.2.3. Le formaldéhyde dans la cigarette électronique

Le formaldéhyde est un des composés carbonylés mis en évidence dans les aérosols de cigarettes électroniques et plus particulièrement dans ceux issus de liquides contenant une forte proportion de propylène glycol (17, 18, 29). En 2013, Hutzler et al. ont analysé la composition de vingt-huit e-liquides vendus en Allemagne, avant et après vaporisation (35). Leur objectif ici était double : vérifier que la composition des liquides était cohérente par rapport aux déclarations du fabricant et évaluer si leur vaporisation menait à la formation de composés toxiques. L'analyse des aérosols, obtenus par chauffage des e-liquides à différentes températures, a été faite grâce à un spectromètre de masse couplé à une chromatographie en phase gazeuse (GC-MS). Cette technique permet de séparer et d'identifier les composés volatiles/gazeux présents dans un échantillon, et de déterminer leur masse molaire et leur concentration. Cette analyse a montré que plus la concentration en propylène glycol du e-liquide est importante, plus la quantité de formaldéhyde obtenue in fine est grande. A partir des données disponibles dans la littérature et de l'analyse par GC-MS des produits issus du chauffage d'une solution de propylène glycol pure, le schéma réactionnel menant à la formation de formaldéhyde a été proposé (30) :

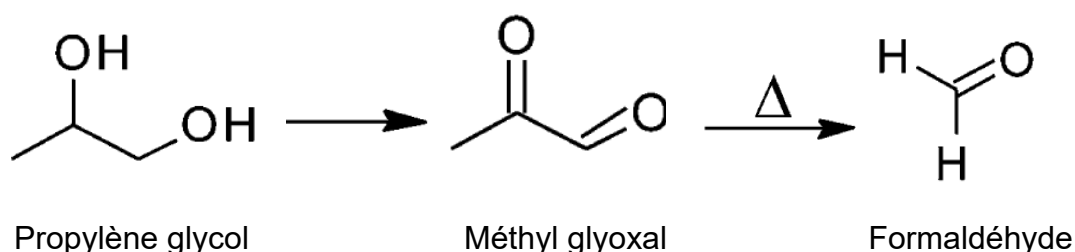


Schéma 4 : Formation du formaldéhyde par chauffage du propylène glycol. D'après Sleiman et al (24).

Comme pour l'acroléine, l'influence de la composition du e-liquide (présence ou non de nicotine, d'arômes), de la topographie des bouffées et de la température de chauffage de la résistance a été évaluée (24). Dans les mêmes conditions expérimentales que celles décrites plus haut pour l'acroléine, il a été établi que la quantité de formaldéhyde produite augmentait avec le nombre de bouffées (24), leur durée (30) et la présence d'arômes dans la formule de liquides de cigarettes électroniques (31, 35). Pour ce qui est de la température de la résistance, là aussi les

résultats sont similaires à ceux retrouvés pour l'acroléine : en augmentant la température du e-liquide (via l'augmentation de la tension et de la puissance de la batterie), on augmente la quantité de formaldéhyde produite (35). A noter que ce dernier est généré à partir d'une température plus faible que l'acroléine à savoir environ 215°C (31).

1.3. L'acétaldéhyde

1.3.1. Toxicité

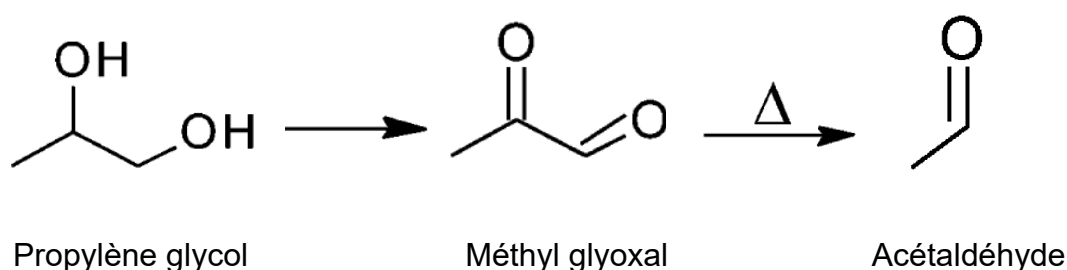
L'acétaldéhyde, ou éthanal, est, à l'instar des deux autres composés carbonylés présentés plus haut, un irritant de la sphère oculaire, ORL et respiratoire (42). Le CIRC l'a classé dans le groupe 2B, celui des cancérigènes possibles pour l'homme (36, 37). En effet, plusieurs études sur les animaux ont révélé qu'une exposition chronique par voie inhalée à ce composé accroît le risque de développer un cancer du nez ou du larynx. Toutefois, ces travaux de recherche sont trop peu nombreux pour amener une conclusion ferme et définitive quant au potentiel cancérigène de l'éthanal. De plus, les données disponibles chez l'homme ne permettent absolument pas d'établir de lien de cause à effet entre l'exposition à cette substance par voie respiratoire et la survenue d'un cancer.

1.3.2. Pharmacocinétique

L'acétaldéhyde est absorbé au niveau de la muqueuse nasale et des bronches (36, 37). Son passage dans la circulation sanguine et sa distribution dans l'organisme sont faibles car il réagit très fortement avec les sites nucléophiles expliquant que la majorité de la dose absorbée reste localisée au niveau du site d'exposition. Son métabolisme se fait par le biais de l'aldéhyde déshydrogénase, une enzyme hépatocytaire qui va oxyder l'éthanal en acide éthanoïque (ou acide acétique). Ce dernier, une fois sous sa forme ionisée, va être dégradé en CO₂ et en eau, qui seront respectivement éliminés par les poumons et les reins.

1.3.3. L'acétaldéhyde dans la cigarette électronique

L'acétaldéhyde a, lui aussi, été mis en évidence dans plusieurs études analysant la composition des vapeurs issues d'un bon nombre d'e-liquides disponibles dans le commerce (17, 24, 29, 38). Sa concentration était plus élevée dans les aérosols issus d'un liquide contenant une forte proportion de propylène glycol. Comme le formaldéhyde décrit précédemment, un schéma réactionnel conduisant à la formation d'acétaldéhyde à partir du propylène a été proposé par Sleiman et son équipe (30) :



*Schéma 5 : Formation de l'acétaldéhyde par chauffage du propylène glycol.
D'après Sleiman et al (24).*

L'influence de l'augmentation de la température de chauffe des e-liquides est également la même que pour les autres composés carbonylés étudiés auparavant : l'augmentation de la tension ou de la puissance de la batterie, conduisant à une élévation de la température de la résistance, va de pair avec l'augmentation de la production d'acétaldéhyde (25, 27). De même, l'allongement de la durée des bouffées et la présence d'arômes sont des facteurs menant à une production accrue d'éthanal (28, 31, 35).

Tous les travaux de recherche présentés jusqu'ici soulignent que le processus de vaporisation des e-liquides engendre une production non négligeable de composés carbonylés et que cette dernière dépend de beaucoup de paramètres. Or, d'un individu à un autre, la façon d'utiliser la cigarette électronique (type de liquide, topographie des bouffées, température de chauffe) varie énormément, et avec elle, la teneur en substances carbonylées présentes dans les aérosols. L'ensemble de ces substances

ont des effets délétères variables sur les organismes qui y sont exposés : les trois composés sont des irritants du système respiratoire et oculaire, le formaldéhyde est un cancérigène avéré et plusieurs éléments suggèrent que l'acroléine est elle aussi un agent cancérogène. Ainsi, leur présence dans les aérosols de cigarette électronique vient souligner le fait que l'utilisation de ce dispositif est loin d'être sans danger.

2. Les composés organiques volatils

Autre catégorie de composés toxiques retrouvés dans les aérosols de cigarette électronique : les composés organiques volatils. Parmi eux, le toluène et le benzène, ont été détecté par GC-MS dans une vingtaine de liquides de vapotage (27).

2.1. Le toluène

2.1.1. Toxicité

Le toluène est un hydrocarbure aromatique volatil. Les symptômes d'une intoxication au toluène varient en fonction du temps d'exposition et de sa concentration dans l'air (45). Pour des expositions aiguës ou sub-chroniques, ils peuvent aller de la simple irritation des voies aériennes supérieures et des yeux à des symptômes neurologiques plus sévères comme la confusion, les troubles de la coordination et de l'équilibre, l'altération des fonctions cognitives ou les paresthésies accompagnées d'une faiblesse musculaire.

Lors d'expositions chroniques, le toluène provoque principalement un syndrome psycho-organique associant troubles cognitifs, diminution de la concentration et des performances intellectuelles et troubles de la personnalité sans modifications de l'électroencéphalogramme. Plusieurs études ont également souligné l'altération du spectre auditif avec perte des fréquences basses et du spectre visuel avec confusion des couleurs chez les travailleurs exposés au toluène (40). Néanmoins, aucun lien avéré de cause à effet n'a pu être démontré entre ces troubles et l'intoxication chronique au toluène, les investigations ayant été menées sur des personnes également exposées à d'autres solvants organiques. De même, aucune génotoxicité

ou carcinogénicité du toluène n'a été prouvée : les tests de mutagénicité sont négatifs et les effets hématotoxiques observés sont liés au benzène, une substance présente au titre d'impureté dans le toluène.

En revanche, il a pu être prouvé que le toluène est reprotoxique (40) : il augmente significativement le risque de fausses couches, de retard de croissance intra-utérin, de malformations diverses du cœur, de la face, des membres et de troubles neurologiques/comportementaux (retard d'acquisition de la parole, troubles de l'attention et hyperactivité entre autres).

2.1.2. Pharmacocinétique

Le toluène est très bien absorbé au niveau pulmonaire : environ 50% de la dose absorbée est retrouvée dans la circulation sanguine (40). Sa fixation à l'hémoglobine permet sa distribution dans l'organisme et notamment les tissus très vascularisés et riches en lipides à savoir le cerveau, la moelle osseuse, le foie, les reins et le tissu adipeux.

Concernant sa métabolisation, il subit, dans un premier temps, une phase de fonctionnalisation durant laquelle plusieurs isoformes de cytochromes P450 (2E1, 2B6, 1A2, 1A1) vont l'oxyder successivement en alcool benzylique puis en benzaldéhyde et enfin en acide benzoïque afin de le rendre hydrophile. Dans un second temps, l'acide benzoïque obtenu va être majoritairement conjugué à la glycine pour former de l'acide hippurique, un métabolite hydrosoluble, éliminé par les reins.

2.2. Le benzène

2.2.1. Toxicité

Outre un fort pouvoir irritant et des effets toxiques neurologiques semblables à ceux du toluène, le benzène est surtout connu pour être un agent hématotoxique (43, 44). Il induit chez les personnes exposées une aplasie médullaire se traduisant par une pancytopénie et une moelle osseuse hypo cellulaire. Plus concrètement, les patients qui en sont atteints souffrent d'anémie, de troubles de la coagulation dus à

une thrombopénie et sont plus susceptibles de contracter des infections à cause de la leucopénie. A l'arrêt de l'exposition, ces troubles sont réversibles. Néanmoins, ils peuvent aussi être le signe précurseur du développement d'une hémopathie maligne, dans la plupart des cas, une leucémie myéloïde. C'est un cancérogène avéré pour l'homme (groupe 1 de la classification du CIRC). En effet, le benzène est un agent intercalant de l'ADN du fait de sa structure plane. Il entraîne ainsi des changements dans la structure tridimensionnelle du brin d'ADN et favorise les erreurs de réplication, qui, si elles ne sont pas ou mal réparées aboutiront à l'apparition de mutations.

Le benzène est également reprotoxique : des troubles du cycle menstruel ont été observés chez les femmes exposées et des altérations quantitatives du sperme ont été retrouvées chez les hommes (43, 44).

2.2.2. Pharmacocinétique

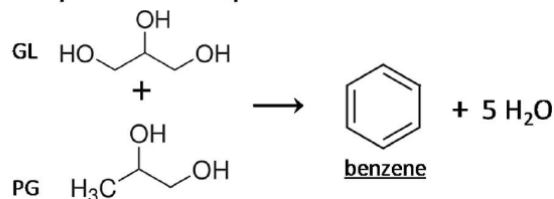
Du fait de leurs structures quasi identiques, le benzène possède une pharmacocinétique très similaire à celle du toluène (43, 44) : ce dernier possède un groupement méthyl en position para du cycle par rapport au benzène. L'absorption du benzène est très bonne quelle que soit la voie d'exposition (cutanée, orale ou respiratoire). A l'image du toluène, il se distribue aussi très bien dans les tissus riches en lipides. Avant d'être éliminé par voie urinaire, le benzène subit une métabolisation hépatique en deux phases. Une première phase de fonctionnalisation, assurée par le cytochrome P450 2E1, permet d'oxyder le benzène en époxybenzène puis en benzène oxépine. Après un réarrangement électronique, du phénol est obtenu et est à nouveau transformé par le cytochrome P450 2E1 en diverses substances (catéchol, hydroquinone, 1,2,4-benzènetriol). Ces dernières vont subir une phase de conjugaison les rendant hydrosolubles et éliminables par le rein.

2.2.3. Le benzène dans la cigarette électronique

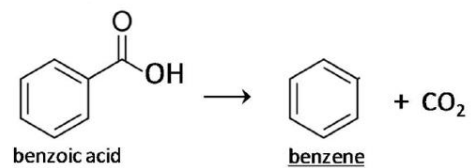
Le benzène, une substance très proche du toluène en termes de structure, a également été détecté dans les liquides et leurs aérosols de plusieurs marques de cigarettes électroniques (49). Les e-liquides testés par Pankow et al étaient constitués

d'un mélange de glycérol et de propylène glycol en proportions égales, de nicotine concentrée à 12mg/ml et de différents arômes (menthe, fruits, tabac, crème brûlée). Dans un premier temps, la recherche de composés volatils organiques a été effectuée par HPLC couplée à un détecteur UV. Les données obtenues ont mis en évidence qu'avant même d'être vaporisés, les liquides contenaient du benzaldéhyde et de l'acide benzoïque, deux métabolites du toluène, à une concentration pouvant atteindre les 2 mg/ml. Ces composés sont notamment retrouvés dans les e-liquides aromatisés contenant de la vanilline et de l'éthylvanilline (50). Dans un second temps, ce sont les aérosols issus du panel de liquides testés qui ont été analysés. Pour se faire, des séries de six bouffées d'un volume de 50 millilitres et d'une durée de cinq secondes ont été générées par une cigarette électronique dont la batterie a été réglée sur des puissances allant de 6 à 25W. Les résultats de la CPG-SM ont montré que du benzène commence à se former à des puissances moyennes (dès 13W) et qu'à l'instar des composés carbonylés, plus la résistance chauffe, plus la quantité de benzène produite est importante.

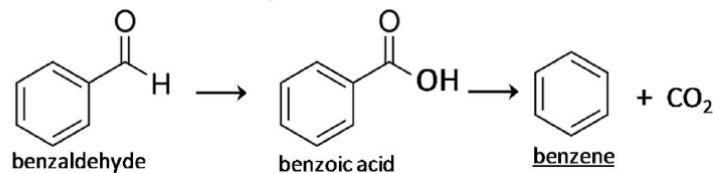
a. dehydration and cyclization



b. decarboxylation



c. oxidation then decarboxylation



d. disproportionation (Cannizzaro Reaction) then decarboxylation

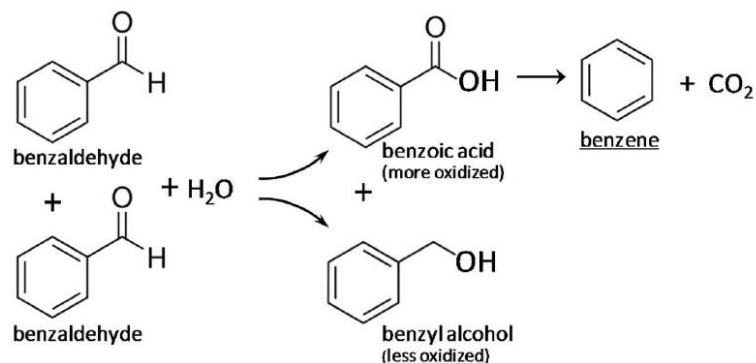


Schéma 6 : Différentes voies de synthèse du benzène. D'après Tierney et al (42).

Jusqu'ici, seules les substances produites par la vaporisation du propylène glycol, de la glycérine végétale et des arômes ont été répertoriées. Toutefois, il est à noter que la plupart des liquides de vapotage consommés contiennent de la nicotine. Or, il a été largement établi que la combustion du tabac menait à la formation de nitrosamines (29). La vaporisation de la nicotine aboutit-elle au même résultat ?

3. Les nitrosamines spécifiques de la dégradation de la nicotine

3.1. Toxicité

Goniewicz et al. ont recherché la présence de ces nitrosamines dans les aérosols de cigarette électronique à l'aide d'une chromatographie liquide ultra performance (version améliorée de l'HPLC) associée à une spectrométrie de masse (23). Deux composés appartenant à cette famille de molécules issues de la dégradation par chauffage de la nicotine ont ainsi été retrouvés dans les vapeurs de vingt-cinq des vingt-huit liquides testés : la N'-nitrosornicotine (NNN) et la 4-(méthylnitrosoamino) 1-(3-pyridyl) 1-butanone (NNK).

La NNN et la NNK sont toutes deux issues de la nitrosation de la nicotine et sont classées dans le groupe 1 des substances cancérigènes par le CIRC. Nombreux sont les travaux de recherche à avoir mis en exergue le lien entre l'exposition au NNN/NNK et la survenue de cancers des sphères ORL et respiratoire, de l'œsophage et du pancréas chez l'animal (45, 46). Pour ce qui est de l'homme, les données disponibles sur l'exposition à ces nitrosamines et sur leur métabolites tendraient à suggérer qu'elles font parties des substances responsables de l'apparition de cancer chez les fumeurs (52). Elles ont une bonne distribution dans l'organisme et sont métabolisées par l'ensemble des cytochromes P450 de la sous famille 2A, via des réaction d' α -hydroxylation (53). Ce sont les métabolites issus de par cette réaction qui sont reconnus comme ayant un fort pouvoir cancérigène (46, 48, 49). En effet, ils réagissent très fortement avec l'ADN et s'y lient de façon covalente.

Parmi les métabolites de la NNN et de la NNK, on peut citer le pyridyloxobutyl qui réagit avec l'oxygène en position 7 et l'azote en position 2 du cycle de la guanine mais aussi avec l'oxygène en position 2 de la thymine et de la cytosine pour former un adduit pouvant provoquer des erreurs de réplication (52).

Le 4-hydroxyl-1-(3-pyridyl) -1-butanone (HPB) est un autre métabolite des NNN et NNK capable d'alkyler l'ADN. Grâce à l'analyse par CLHP-SM de cellules buccales récoltées chez des personnes fumeuses et non fumeuses, il a été prouvé que, chez les personnes fumeuses, la quantité d'adduits à l'ADN générés par l'HPB est largement plus importante que chez les personnes non fumeuses (52). Ces adduits ont également été retrouvés dans les tissus pulmonaires de patients fumeurs atteints d'un cancer du poumon et ce, dans des concentrations beaucoup plus élevées que chez les personnes fumeuses non atteintes d'un cancer et les personnes non fumeuses (55).

3.2. Le NNN et le NNK dans la cigarette électronique

Les niveaux de NNN et de NNK sont-ils aussi élevés chez les vapoteurs que chez les personnes consommatrices de cigarettes traditionnelles ? pour répondre à cette question, les teneurs salivaires et urinaires de NNN ont été mesurées dans trois groupes : un groupe de vingt vapoteurs, ayant un usage quotidien exclusif de la cigarette électronique depuis au moins trois mois, un groupe de vingt fumeurs, consommant au moins dix cigarettes classiques par jour depuis au minimum six mois et un groupe de dix-neuf non-fumeurs/non-vapoteurs, servant de groupe contrôle (51). Les échantillons de salive et d'urine ont été récoltés chez chacun des sujets à jeun et n'ayant pas fumé/vapoté depuis vingt minutes avant le prélèvement. L'analyse a été effectuée par CLHP-SM. Il est ressorti de cette étude, d'une part, que les niveaux salivaires de NNN étaient significativement plus élevés chez les vapoteurs que dans le groupe contrôle et d'autre part, qu'ils étaient jusqu'à six fois plus élevés chez les fumeurs que chez les vapoteurs. Pour ce qui est des concentrations urinaires en NNN, elles étaient très faibles chez les vapoteurs (à la limite de la valeur minimale détectable par CLHP-SM).

Ces résultats nous montrent que les consommateurs de cigarette électronique sont, eux aussi, exposés aux nitrosamines issues de la dégradation de la nicotine. Néanmoins, par rapport à leurs homologues fumeurs, les taux de NNN et NNK absorbés par les vapoteurs restent bien inférieurs.

4. Les radicaux libres de l'oxygène

Il est aujourd'hui bien démontré que les fumeurs sont soumis, du fait de la consommation de cigarettes, à un stress oxydatif qui contribue à un vieillissement cellulaire accéléré (56). Mais qu'en est-il des vapoteurs ? Sont-ils eux aussi exposés à ces espèces réactives de l'oxygène (ERO) ? Il faut savoir, qu'en temps normal, notre organisme fabrique ces ERO. Commençons par un bref rappel des mécanismes aboutissant à la production de ces radicaux libres de l'oxygène.

Le dioxygène est un élément indispensable à la production d'adénosine triphosphate (ATP), sorte de « carburant » de l'organisme fournissant l'énergie nécessaire à de nombreux processus de l'organisme (signalisation cellulaire, transport actif d'ions/de molécules à travers les membranes cellulaires, division cellulaire, mobilité du cytosquelette...). La phosphorylation oxydative est l'un des moyens par lequel l'ATP va être régénéré : elle se produit dans les mitochondries, au niveau de la membrane interne et fonctionne grâce aux chaînes de transport des électrons, qui nécessitent d'être alimentées en oxygène (57). A l'issue de ce processus, des ERO, comme les radicaux superoxydes, sont générées. Leur élimination se fait par diverses enzymes (superoxydes dismutases, catalases, glutathion peroxydase) qui vont permettre de transformer les ERO en eau. La production d'ERO se fait aussi via les NAD(P)H oxydases, présentes au niveau des membranes cellulaires. En conditions physiologiques, l'équilibre oxydant/antioxydant, ou balance redox, est maintenu de façon que la concentration en ERO ne soit pas néfaste pour les cellules. Les ERO sont, de par leur grande réactivité, capables d'induire des lésions de l'ADN en altérant des bases ou en générant des adduits de l'ADN. Ils peuvent aussi peroxyder les lipides et oxyder les protéines entraînant ainsi leur dysfonctionnement. L'homéostasie entre oxydant et antioxydant peut être rompue assez rapidement, soit à cause d'une production excessive d'ERO soit par une diminution des capacités antioxydantes. La rupture de cet équilibre redox est appelée stress oxydant ou stress oxydatif.

Goel et al ont recherché la présence de radicaux libres de l'oxygène dans les aérosols de e-liquides dans les conditions suivantes : deux cigarettes électroniques ont été remplies soit avec des e-liquides commerciaux, soit avec du propylène glycol ou du glycérol pur, et ont été utilisées selon les habitudes de vapotage retrouvées chez

les consommateurs de cigarettes électroniques (58). Les vapeurs générées ont, par la suite, été analysées par un spectroscope basé sur le principe de la résonance paramagnétique. Pour rappel, les ERO ont la capacité d'absorber puis de réémettre l'énergie d'un rayonnement électromagnétique lorsqu'ils se trouvent dans un champ magnétique. Des taux d'ERO allant jusqu'à $10,3 \times 10^{13}$ radicaux par bouffées de e-liquides avec une cigarette réglée à 3,3 volts ont été observés. Ces concentrations sont moindres par rapport à ce qui est retrouvé dans la fumée de cigarette classique. Nonobstant, si on met en parallèle ces résultats avec la topographie des bouffées d'un utilisateur lambda de cigarette électronique, son exposition quotidienne aux radicaux libres de l'oxygène peut être jusqu'à dix fois plus importante que celle d'un non vapoteur simplement exposé à la pollution de l'air.

De leur côté, Lerner et al ont voulu connaître l'influence des arômes et de la présence de nicotine sur la production de radicaux libres de l'oxygène (59). Pour cela, les vapeurs d'un liquide nicotiné arôme tabac, d'un liquide sans nicotine arôme tabac et enfin d'un liquide sans nicotine arôme menthe ont été immergés dans un bain de 2',7' dichlorofluorescéine diacétate (H_2 -DCF-DA), une forme réduite de fluorescéine utilisée comme indicateur d'ERO. La fluorescence émise lors de l'oxydation de ce réactif permet de quantifier les ERO présents dans les aérosols analysés. Sans surprise, la fluorescence détectée est significativement plus importante dans les vapeurs des trois e-liquides que dans l'air ambiant, traduisant une concentration en ERO plus forte. En revanche, il s'est avéré que la présence de nicotine n'exerçait aucune influence sur la production d'ERO contrairement aux arômes. De plus, un accroissement significatif de la teneur en radicaux libres a été observé dans les aérosols du e-liquide mentholé par rapport à celui arôme tabac. En d'autres termes, en fonction de l'arôme choisi, le vapoteur s'expose à un stress oxydant plus ou moins grand. Il convient malgré tout de souligner que la composition du liquide n'est pas le seul paramètre ayant une incidence sur la production de radicaux libres. L'équipe de Lerner a également analysé les composants du clearomiseur avec le réactif H_2 -DCF-DA réduit. Une fois de plus, la fluorescence émise était accrue par rapport au test effectué sur l'air ambiant (servant de contrôle), prouvant ainsi que le dispositif de vapotage lui-même est une source d'ERO.

Des résultats similaires ont été trouvés dans une autre étude, à ceci près, que la présence d'ERO a aussi été recherchée directement dans les e-liquides (pas seulement dans leurs vapeurs) (60). Des e-liquides ayant préalablement été au contact du clearomiseur ou directement issus du flacon dans lequel ils sont commercialisés ont été testés avec le bain de H₂-DCF-DA réduit. Les résultats ont montré une fluorescence (et donc une concentration en ERO) nettement plus importante dans les e-liquides ayant été en contact avec le dispositif de vapotage que dans ceux qui ne l'ont pas été.

En résumé, de nombreux travaux de recherche ont montré que les substances entrant dans la composition des e-liquides ainsi que les vapeurs générées par le chauffage de ce dernier ne sont pas la seule source de toxicité : la cigarette électronique en elle-même peut être à l'origine de la fabrication de composés néfastes. On peut se demander si d'autres éléments nocifs pour l'organisme peuvent résulter du contact entre les e-liquides et la cartouche de l'appareil.

B. Toxicité liée aux éléments composant la cigarette électronique

Outre la présence de composés carbonylés, de nitrosamines et de substances organiques volatiles, des métaux lourds tels que le cadmium, le plomb et le nickel ont été détectés dans les vapeurs des douze e-liquides testés par Goniewicz et al (23). Or, il semblerait que la présence de ces métaux ne soit pas la conséquence du chauffage de liquides : ils sont retrouvés dans les e-liquides avant vaporisation et lorsqu'ils ont été au contact des éléments du cartomiseur.

Beauval et al ont utilisé la spectrométrie de masse à plasma à couplage inductif pour déterminer la concentration en quinze métaux différents de cinquante-quatre liquides, nicotinés ou non, commercialisés en France et ainsi évaluer leur potentiel néfaste sur la santé (61). La spectrométrie de masse est une méthode permettant de séparer en fonction de leur rapport masse/charge des molécules en phase gazeuse préalablement chargées positivement ou négativement. Le plus souvent, cette ionisation est effectuée au moyen d'un courant électrique mais, dans la technique mise en œuvre dans l'étude citée ci-dessus, c'est une torche à plasma par induction qui va s'en charger : elle va ioniser le gaz par chauffage à induction via une bobine

électromagnétique. Cette méthode analytique permet la détection des métaux d'un échantillon, même s'ils sont présents en quantités extrêmement faibles. A l'issue de cette analyse, il s'est avéré que les liquides testés contenaient des concentrations non négligeables en antimoine, en zinc, en cobalt, en mercure, en plomb, en cadmium et en arsenic. Toutefois, il est important de noter qu'aucun de ces éléments n'a été retrouvé dans des quantités supérieures à celles fixées par les normes de l'association française de normalisation (AFNOR).

Plusieurs facteurs peuvent expliquer la présence de ces métaux dans les e-liquides (62). Si ces e-liquides contiennent de la nicotine par exemple, certains métaux comme le plomb, le cadmium ou le nickel pourraient provenir de la *Nicotiana tabacum*, qui lors de sa croissance aurait accumulé les éléments présents dans la terre (ces derniers se retrouvant ainsi dans la nicotine qui en est extraite).

Autre source potentielle de nickel et de chrome, les résistances utilisées dans les dispositifs de vapotages. En effet, elles sont au contact direct du e-liquide pour le chauffer et peuvent au fil du temps et des utilisations répétées s'altérer et libérer le nickel et le chrome qui les composent. Certaines cigarettes électroniques possèdent une partie que l'on appelle un cartomiseur : c'est une partie qui a la même fonction que le clearomiser à la différence qu'ici, la résistance est entourée de fibre (en silice le plus souvent) pour permettre son imprégnation par l'e-liquide. Williams et al ont disséqué vingt-deux cartomiseurs commercialisés par le leader du marché aux Etats Unis (63). La résistance était, dans ces cartomiseurs, représentée par trois fils : deux étaient épais, en cuivre recouvert d'argent et le troisième plus fin, fait d'un alliage de nickel et de chrome. L'observation de ces fils au microscope électronique à balayage a révélé que, par endroit, l'enrobage en argent était endommagé et que le cuivre était à nu, directement au contact de la fibre de silice imbibée de e-liquide. Dans quatre des vingt-deux cartomiseurs, les fibres de silice étaient teintées de vert par endroit, faisant penser à la production de vert de gris, liée à l'oxydation du cuivre. Une analyse au spectroscope X à dispersion d'énergie (EDS), technique utilisant les rayons X caractéristiques d'un échantillon exposé à un faisceau d'électrons pour identifier les éléments chimiques, a confirmé qu'il s'agissait bien de cuivre. Des tâches noires ont également été observées sur les fibres de silice d'une dizaine de cartomiseurs. L'analyse EDS a conclu à la présence d'étain (alliage utilisé pour souder les trois fils de la résistance entre eux) et de nickel.

Le nickel, le cadmium et le lithium peuvent aussi provenir des batteries alimentant les cigarettes électroniques (62).

L'ensemble de ces métaux peuvent être très nocifs pour les organismes en fonction des concentrations d'exposition : ils peuvent provoquer des dommages à l'ADN, être reprotoxiques, neurotoxiques, hépatotoxiques, responsables d'anémies, d'asthme, de cancers du poumon, des sinus et de la cavité orale, altérer la fonction rénale (62)... Dans la publication de Williams et al, il a été souligné que les liquides issus des cartomiseurs contenant des particules d'étain inhibaient la prolifération et l'adhésion de fibroblastes humains (caractéristiques nécessaires à leur survie), de façon significativement plus importante que les liquides sans particules d'étain et que cette cytotoxicité était dose-dépendante (63).

Néanmoins, toutes les études menées sur la quantification des métaux lourds dans les cigarettes électroniques s'accordent sur le fait que les concentrations retrouvées dans les e-liquides et leurs vapeurs sont bien moins importantes que dans les cigarettes traditionnelles (55, 56). De plus, l'impact de l'exposition au cuivre (nu ou oxydé), à l'étain, au nickel et au plomb sur la santé via les aérosols de cigarette électronique doit être encore approfondi pour réellement conclure : pour l'heure, on ne peut qu'émettre des conjectures par rapport à ce que l'on sait déjà des effets de ces métaux lourds sur l'organisme (par d'autres voies d'expositions et par la voie inhalée avec la fumée de cigarette).

II- Effets des e-liquides sur les organismes vivants

En passant en revue la composition des liquides de cigarettes électronique, nous avons pu entrepercevoir leur potentiel toxique pour la santé. Toutefois, cette dangerosité reste en grande partie « théorique » c'est-à-dire qu'à partir de ce que l'on connaît du potentiel toxique d'une substance, nous avons préjugé de ses effets néfastes sur la santé des vapoteurs. Nous allons maintenant nous intéresser aux études qui ont porté sur le lien entre le vapotage et son impact sur l'organisme.

A. Sphère cardiovasculaire

Le tabagisme actif est responsable d'un bon nombre de conséquences désastreuses sur le système cardiovasculaire. Tout d'abord, il favorise la formation de plaques d'athérome via, d'une part, une inflammation chronique des vaisseaux sanguins et d'autre part, une diminution du taux de HDL-cholestérol. Ensuite, il perturbe le processus de coagulation : il augmente les concentrations plasmatiques en fibrinogène et, en raison de l'augmentation du taux de monoxyde de carbone (CO) circulant, rend le sang plus épais. En effet, le CO a une affinité supérieure à celle de l'oxygène pour l'hémoglobine, ce qui va entraîner une hypoxie. En réponse à l'hypoxie, l'organisme va mettre en place des stratégies compensatoires comme l'augmentation du nombre de globules rouges ainsi que l'augmentation de leur volume. Ceci va avoir pour conséquence une augmentation de la viscosité sanguine, qui, en plus de faciliter la formation de caillots, va accroître le travail de la pompe cardiaque. Enfin, fumer altère la capacité de vasoconstriction des artères, ce qui provoque des spasmes. De l'ensemble de ces effets délétères résultent un taux d'infarctus du myocarde et d'AVC chez les fumeurs largement supérieur à celui observé dans la population générale : un quart des décès liés à un accident cardiovasculaire avant 70 ans est imputable au tabac (64). Au vu de ce constat alarmant, de nombreuses équipes de recherche étudient sur le potentiel nocif de la cigarette électronique sur le cœur et les vaisseaux sanguins.

1. Rappels anatomiques sur les artères

Les artères sont composées de 3 couches distinctes : l'intima, la média et l'adventice (de la plus interne à la plus externe). L'intima est composée de fibres de collagène donnant aux vaisseaux sanguins une rigidité suffisante pour qu'ils ne s'affaissent pas sur eux même. Cette couche est recouverte de l'endothélium, un ensemble de cellules ayant deux propriétés principales : antiadhésive, c'est-à-dire empêchant le sang de coaguler sur les parois et sécrétrice. Ce sont, en effet, les cellules endothéliales qui vont libérer les substances vasoconstrictrices (thromboxane, angiotensine II) et vasodilatatrices (oxyde d'azote, prostaglandines) agissant sur la couche musculaire lisse des vaisseaux sanguins, appelée média. Enfin, l'adventice permet aux vaisseaux sanguins de rester en place dans les tissus qu'ils traversent.

2. Conséquences du vapotage sur l'intégrité de l'endothélium

Le tissu endothélial joue un rôle central dans la vasomotricité. C'est pour cette raison que Putzhammer et al ont étudié les effets de liquides de cigarettes électroniques aromatisés sur des cellules endothéliales issues d'un cordon ombilical humain (65). Ces cellules ont été incubées pendant 1 heure, 24 heures ou 48 heures, avec les vapeurs de onze e-liquides, contenant ou non de la nicotine et les arômes les plus populaires sur le marché européen et américain (menthe, arômes fruités, tabac). Plusieurs paramètres ont ainsi été évalués à savoir : la viabilité et la prolifération cellulaires, la production d'ERO et la morphologie des cellules.

La mort cellulaire consécutive à l'exposition aux produits de vapotage a été quantifiée grâce au test d'affinité à l'annexine V et à l'iodure de propidium. L'annexine V est une protéine possédant une forte affinité pour les phosphatidylsérines (PS), des phospholipides présents exclusivement sur le feuillet interne de la membrane plasmique en conditions physiologiques. Lorsque le processus d'apoptose cellulaire débute, ces phosphatidylsérines sont externalisées et peuvent se lier à l'annexine V. En ajoutant de ce composé au milieu de culture, il est donc possible de détecter et quantifier les cellules en phase précoce d'apoptose. L'iodure de propidium, quant à lui, est un agent intercalant qui ne peut pénétrer dans les cellules qu'une fois leur membrane plasmique endommagée. C'est donc un marqueur tardif d'apoptose ou de

nécrose cellulaire. Les résultats de ce marquage ont révélé que, pour les trois durées d'exposition, la viabilité des cellules endothéliales est significativement diminuée avec cinq des onze liquides testés, et ce, indépendamment de la présence de nicotine.

Il a aussi été montré que cinq e-liquides diminuaient de façon significative la prolifération des cellules exposées par rapport au groupe des cellules non exposées. Il semblerait que cette altération des capacités de division cellulaire soit dépendante de la cytotoxicité des liquides.

Concernant la production d'espèces réactives de l'oxygène évaluée par la mesure de l'oxydation intracellulaire du H₂-DCF-DA, il s'avère qu'elle est augmentée par un seul des liquides du panel testé. L'augmentation du stress oxydatif dans les organismes exposés à des e-liquides a aussi été prouvé, in vivo, chez l'homme, dans une étude comparant les niveaux de différents marqueurs sanguins de deux groupes (un de vingt vapoteurs et un de non vapoteurs) (66). Il a été demandé au groupe de vapoteurs de consommer neuf bouffées d'un e-liquide arôme tabac contenant 16 mg/ml de nicotine. Après cette séance de vapotage, des prélèvements ont été effectués dans les deux groupes et les concentrations sanguines de trois molécules ont été mesurées : la 8-iso-prostaglandine F₂α (8-iso-PGF₂α), une prostaglandine produite lors de la peroxydation de l'acide arachidonique des membranes plasmiques, la NOX2-derived peptide (sNox2-dp), un marqueur de l'activité de la NADPH oxydase membranaire et la vitamine E, une molécule capable de réagir avec les radicaux libres et de les stabiliser (propriété antioxydante). Il est apparu que les niveaux de 8-iso-PGF₂α et de sNox2-dp étaient significativement plus importants dans le groupe des vapoteurs que dans le groupe contrôle. De plus, la concentration sanguine en vitamine E était nettement diminuée dans le groupe des vapoteurs. En résumé, ces trois éléments témoignent d'une tendance à un stress oxydatif accru dans les organismes exposés aux e-liquides, et ce dès la première utilisation. Enfin, l'analyse au microscope des cellules exposées met en évidence une rupture des jonctions intercellulaires assurant la cohésion de l'endothélium, et une altération de la structure du cytosquelette (65).

En résumé, les données scientifiques montrent que les e-liquides sont cytotoxiques pour les cellules endothéliales : ils diminuent leurs capacités de prolifération, endommagent leur cytosquelette, favorisent leur mort par apoptose et nécrose, et altèrent la cohésion de l'ensemble de l'endothélium. Cette cytotoxicité résulte, en partie, du déséquilibre redox consécutif au vapotage : les ERO, produits en quantités importantes et trop peu éliminés du fait de la saturation des systèmes antioxydants tels que le glutathion ou la vitamine E, peroxydent les lipides membranaires, détériorant ainsi la membrane plasmique des cellules, et entraînant leur mort.

3. Conséquences du vapotage sur la fonction sécrétoire de l'endothélium

Nous avons vu que la consommation de cigarettes électroniques altérait l'intégrité du tissu endothélial, et nous allons voir qu'elle a également un impact sur sa fonction sécrétoire. Comme dit précédemment, l'endothélium vasculaire produit différentes molécules ayant une action sur la média. L'une d'entre elles, l'oxyde d'azote (NO) est un puissant vasodilatateur. Fetterman et al ont évalué l'impact de la consommation de e-liquides sur l'enzyme produisant le NO, *in vitro* (67). Des cellules endothéliales prélevées chez des individus non-fumeurs/non vapoteurs, ayant consommé des e-liquides mentholés ou non aromatisés, ont été incubées avec un agoniste de la NO synthase endothéliale (eNOS), le A23187 et avec un marqueur fluorescent, le diacétate de 4,5-diaminofluoresceine afin d'évaluer l'activité de cette dernière. La eNOS, ou NOS-1, est une enzyme synthétisant le NO à partir de l'oxygène et de l'arginine au niveau de l'endothélium. Dans les cellules issues de personnes exposées aux e-liquides, qu'ils soient aromatisés ou non, l'activité de la eNOS est significativement diminuée par rapport au groupe contrôle et ce malgré la stimulation par le A23187. L'incubation de cellules endothéliales prélevées chez les non-fumeurs avec des liquides de cigarettes électroniques mentholés a, elle aussi, montré une diminution de cette activité enzymatique et donc de la production de NO. Des expériences ont montré que l'arôme menthe n'est pas le seul à altérer la production de NO. En effet, une diminution de la fluorescence, observée dans des cellules endothéliales aortiques humaines mises en culture avec du A23187, de la vanilline, du

cinnamaldéhyde et de l'eugénol (arômes fréquemment retrouvés dans la composition des e-liquides), traduit une baisse de l'activité de l'eNOS.

Les résultats obtenus par Carnevale tendent également à prouver que la consommation de cigarettes électroniques affecte négativement la biodisponibilité du NO (66). En effet, elle est fortement diminuée dans le groupe des vapoteurs par rapport à celle observée dans le groupe contrôle. Néanmoins, cette étude a aussi montré que la biodisponibilité du NO était largement plus diminuée chez des fumeurs de tabac que chez les vapoteurs, montrant, une fois de plus, que la cigarette électronique, même si elle est à l'origine d'effets délétères sur la santé, reste beaucoup moins toxique que la cigarette traditionnelle.

En réduisant la production et la biodisponibilité d'oxyde d'azote, les e-liquides ne permettent plus une vasodilatation correcte des différentes artères de l'organisme, et favorisent l'apparition de spasmes et donc un défaut d'oxygénation des tissus. S'ils surviennent sur une des artères coronaires chargées de l'alimentation du cœur, ces rétrécissements vasculaires brutaux peuvent conduire à l'infarctus.

4. Induction de pathologies cardiovasculaires par la cigarette électronique

Des lipides, des cellules musculaires lisses et inflammatoires, du tissu conjonctif et des dépôts de calcium sont retrouvés dans les plaques d'athérome. Au début de leur formation, on observe une fixation du LDL cholestérol et du VLDL cholestérol sur les cellules endothéliales. Ces lipoprotéines sont ensuite oxydées dans l'espace sous-endothélial. Dans le même temps, les monocytes sous endothéliaux se transforment en macrophages qui vont phagocyter les lipides oxydés (on va alors parler de macrophages spumeux). Les macrophages spumeux vont s'accumuler sous forme de stries lipidiques formant les lésions athéromateuses précoces. Les cytokines pro-inflammatoires produites par les macrophages vont recruter des cellules musculaires lisses et d'autres macrophages, qui vont entretenir le cycle. Les cellules musculaires lisses vont se multiplier et augmenter la production de la matrice extracellulaire. Finalement, une plaque sous endothéliale, composée de lipides et recouverte d'un tissu conjonctif fibreux, se forme et se calcifie avec le temps. Ces plaques peuvent être stables (elles vont croître avec le temps jusqu'à obstruer la lumière du vaisseau) ou

instables (elles finiront par se rompre et donner des thrombi qui boucheront les artères à distance). Du fait de l'altération de l'endothélium vasculaire, les e-liquides, à l'instar des cigarettes classiques mais dans une moindre mesure, favorisent le développement de l'athérosclérose et donc augmentent le risque d'avoir un infarctus du myocarde.

Une étude de dossier rapporte le cas d'un jeune homme de 24 ans, sans antécédents médicaux, hospitalisé pour une douleur rétrosternale, intense, constrictive, ayant débutée quelques heures avant son arrivée aux urgences (68). L'électrocardiogramme réalisé a révélé un sus décalage du segment ST (ST+), l'échographie cardiaque une fraction d'éjection ventriculaire de 50% et l'analyse sanguine a montré un taux de troponine T quinze fois supérieur à la norme. L'ensemble de ces éléments a conduit les médecins à conclure à un syndrome coronarien aigu ST+. Une fois les déficits en protéines C et S, les mutations du facteur V et le syndrome anti phospholipidique exclus, il a été conclu par l'équipe médicale que la seule origine possible de ce syndrome coronarien aigu ST+ chez un patient aussi jeune, en bonne santé et sans aucun antécédent cardiovasculaire personnel ou familiale, était l'usage quotidien de cigarettes électronique avec des liquides concentrés à 16mg/ml de nicotine.

Les résultats obtenus par différentes équipes, révèlent que l'usage de la cigarette électronique est loin d'être anodin. En endommageant les cellules endothéliales, les e-liquides altèrent à la fois ses propriétés antiadhésives et la vasomotricité de l'ensemble des vaisseaux sanguin de l'organisme, ce qui, à terme, peut conduire au développement des mêmes pathologies cardiovasculaires que celles observées chez les fumeurs. Cependant, il convient de nuancer ces propos. Ainsi, la cigarette électronique, bien qu'entraînant des effets toxiques, demeure une alternative plus sûre que la cigarette classique. Si l'on compare les chiffres d'accidents cardiovasculaires, on remarque qu'une très faible proportion d'entre eux est imputable à la cigarette électronique alors qu'il est admis que 80% des infarctus survenant avant l'âge de 50 ans sont causés par le tabagisme (64). De plus, les effets délétères des liquides de vapotage ont été, pour l'heure, majoritairement mis en évidence in vitro : on ignore si, in vivo, les résultats obtenus seraient identiques.

B. Sphère oculaire

Concernant la toxicité liée à la cigarette classique, il y a un organe auquel on ne pense pas forcément et qui pourtant, est l'un des premiers à être impacté par le tabagisme : ce sont les yeux. En effet, ils sont au contact direct des substances nocives contenues dans la fumée de cigarette et ils y sont à nouveau exposés lorsque ces mêmes substances rejoignent la circulation sanguine. De nombreuses études ont prouvé que le tabagisme favorisait l'apparition de pathologies oculaires : syndrome des yeux secs, cataracte, dégénérescence maculaire liées à l'âge. Comme pour le système cardiovasculaire, des travaux de recherche ont été menés pour connaître l'impact du vapotage sur la santé visuelle et comparer ses effets à ceux de la cigarette traditionnelle.

1. Rappels sur le film lacrymal

Le film lacrymal est un des systèmes protecteurs de l'œil. Il est constitué de trois couches (de la plus interne à la plus externe) : une muqueuse interne, une couche aqueuse intermédiaire et une couche lipidique externe. La muqueuse interne, composée de mucus, ancre le film lacrymal à la cornée et en lisse la surface. La couche aqueuse, quant à elle, est composée d'eau, d'électrolytes, d'enzymes et d'anticorps. Elle assure une double fonction de nutrition et d'oxygénation de la partie non vascularisée de la cornée et de défense contre les infections. Enfin, la couche lipidique est produite par les glandes de Meibomius, situées à la base des cils. Composée de phospholipides, elle permet d'éviter l'évaporation de la couche aqueuse et de lubrifier la face interne de la paupière afin qu'elle glisse correctement sur la surface de l'œil.

2. Lien entre la cigarette électronique et le syndrome des yeux secs

Le syndrome des yeux secs s'observe lors d'un déséquilibre entre la formation et la dégradation du film lacrymal (69). L'hyposécrétion lacrymale est liée à une involution des glandes lacrymales. Cette dernière peut être due à des médicaments, à

des dérèglements hormonaux ou à l'âge. L'instabilité lacrymale correspond à une hyperévaporation du film lipidique externe. Ces étiologies sont multiples : dysfonctionnement des glandes de Meibomius, inflammation chronique de la conjonctive, exposition à des conservateurs de type chlorure de benzalkonium, utilisation de lentilles de contact, chirurgies de l'œil... Les symptômes décrits par les patients sont les suivants : yeux secs/rouges, avec une sensation de brûlure et/ou de démangeaison, une sensibilité à la lumière, un larmolement excessif, des paupières enflammées, une vision trouble et une sensation de corps étranger dans l'œil. Le tabagisme est un des principaux facteurs exogènes déclenchants ou aggravant du syndrome des yeux secs et de nombreuses études semble indiquer que les vapeurs de e-liquides auraient les mêmes effets délétères sur le film lacrymal que la fumée de cigarette (70).

Il a été montré que le propylène glycol et les arômes des e-liquides provoquent la peroxydation des lipides de la couche externe, ce qui l'endommage (70). Comme dit précédemment, l'instabilité du film lipidique est un des facteurs menant au développement d'un syndrome des yeux secs. L'analyse de la concentration en lipides peroxydés à la surface des yeux a d'ailleurs été proposée comme outil permettant d'évaluer la sévérité du syndrome des yeux secs chez un individu donné (71). Dans cette étude, trois marqueurs de la peroxydation lipidique ont été recherchés :

- L'hexanoyl-lysine (HEL), produit issu de la réaction entre la lysine et un lipide hydroperoxydé n-6 apparaissant dans les premières phases de la peroxydation.
- Le 4-hydroxy-2-nonenal (HNE), un α/β aldéhyde insaturé formé en fortes proportions lors de la peroxydation des membranes lipidiques.
- Le malondialdéhyde (MDA), un composé généré lors de la dégradation des acides gras saturés en acides gras essentiels. Etant un marqueur de la phase tardive de la lipoperoxydation, le MDA est couramment utilisé pour détecter les réactions entre les lipides et les radicaux libres.

Un dosage immuno-enzymatique quantitatif (test ELISA sandwich), a été réalisé sur des échantillons de larmes, prélevés dans deux groupes : un groupe « contrôle » où les personnes étaient en bonne santé et un groupe de personnes atteintes d'un syndrome des yeux secs. Des anticorps primaires anti-HEL, anti-HNE et anti-MDA ont été fixés au fond des puits d'une plaque et les échantillons lacrymaux y ont été ajoutés. Après une étape de rinçage des puits, des anticorps secondaires marqués avec une peroxydase ont été incorporés dans les puits et l'activité enzymatique de la peroxydase

a été mesurée. Les concentrations en HNE et en MDA obtenues étaient significativement plus élevées dans les larmes des sujets atteints d'un syndrome des yeux secs que dans le groupe contrôle. Ces résultats témoignent donc d'une peroxydation des lipides de la couche externe du film lacrymal plus importante en cas de syndrome des yeux secs.

Pour déterminer s'il existe une corrélation entre la concentration en lipides peroxydés à la surface de l'œil et la sévérité du syndrome, l'état du film lacrymal des personnes du groupe « yeux secs » a été évalué et comparé à celui des personnes du groupe contrôle sur la base de plusieurs critères :

- La quantité de liquide lacrymal produite, diminuée chez les personnes atteintes du syndrome des yeux secs
- La stabilité du film lacrymal, diminuée chez les personnes atteintes du syndrome des yeux secs
- La clairance des larmes, diminuée chez les personnes atteintes du syndrome des yeux secs
- La sensibilité cornéenne, identique dans les deux groupes
- La densité des cellules calciformes, diminuée chez les personnes atteintes des yeux secs.

De plus, les niveaux en HNE et en MDA des échantillons lacrymaux sont significativement corrélés à l'ensemble de ces paramètres. Autrement dit, plus la concentration en lipides peroxydés à la surface de l'œil est importante, plus les paramètres cités ci-dessus font état d'un film lacrymal fortement altéré.

Chez les consommateurs de cigarette électronique, l'instabilité du film lacrymal observée résulte également de l'exposition aux aldéhydes et aux radicaux libres de l'oxygène qui vont, eux aussi, endommager le film lipidique et donc provoquer une hyperévaporation de la couche aqueuse (70). Une étude malaisienne de 2019, qui a évalué l'état du film lacrymal chez des vapoteurs et des non vapoteurs, est arrivée aux mêmes conclusions (72). Les participants ont été soumis aux tests suivants :

- « L'Ocular Surface Disease Index » (OSDI), un questionnaire de douze items permettant d'estimer, via un score, la sévérité du syndrome des yeux secs et son impact sur la vision du patient dans la vie quotidienne
- Le temps de rupture lacrymal, un test évaluant la stabilité du fil lacrymal

- Le test de Schirmer qui quantifie la production de larmes chez un individu pendant cinq minutes et la coloration de la surface de l'œil à la fluorescéine, une autre méthode permettant de visualiser l'intégrité du film lacrymal.

L'ensemble des résultats de ces tests montre du doigt une production de larmes réduite et de mauvaise qualité ainsi qu'une sécheresse modérée à sévère chez les vapoteurs contrairement à ce qui est rapporté dans le groupe témoin des non vapoteurs. De plus, l'altération des paramètres évaluant la qualité du film lacrymal et les symptômes ressentis par les patients sont corrélés avec le voltage auquel la cigarette électronique est utilisée. Or, nous avons vu précédemment, que plus ce voltage était important, et par extension, plus la température à laquelle le e-liquide est chauffé, plus la production de composés toxiques (aldéhydes, composés volatiles organiques, radicaux libres) et irritants pour les yeux, est conséquente. Il est ainsi possible de conclure que la cigarette électronique, à l'instar du tabac traditionnel, est un facteur favorisant le développement du syndrome des yeux secs.

3. Toxicité de la cigarette électronique sur les structures de l'œil

La fonction de sécrétion des larmes et la surface de l'œil ne sont pas les seules parties de l'appareil oculaire à être endommagées par l'usage des cigarettes électroniques. La revue systématique des articles parus entre les années 1990 et 2020 met en évidence les effets néfastes des e-cigarettes sur d'autres parties de l'œil (70).

Au niveau de la cornée, la nicotine et l'acroléine induisent une inflammation chronique pouvant amener à une légère coloration/opacification de la cornée, provoquant des troubles de la vision (début du processus de développement de la cataracte).

Concernant la choroïde, membrane richement vascularisée faisant office de « chambre noire » du globe oculaire et chargée de la nutrition de la rétine et de l'iris, la nicotine contenue dans les cigarettes électroniques serait responsable d'une vasoconstriction altérant l'afflux sanguin (et donc de nutriments) ainsi que d'une réduction de son épaisseur. De plus, les effets de la cigarette électronique sur le système cardiovasculaire, en particulier sa capacité à altérer la vasodilatation par modification du métabolisme du NO, sont également en faveur d'une mauvaise

vascularisation des structures de l'œil et par extension, peuvent aggraver des pathologies comme les rétinopathies diabétiques.

La rétine est, elle aussi, affectée négativement par la nicotine. En effet, via l'interaction de cette dernière avec les récepteurs de l'acétylcholine, un premier neurone va libérer du glutamate, lequel va induire, chez un deuxième neurone la libération de GABA conduisant, in fine, à la libération de dopamine. Chez les êtres humains, la dopamine régule le fonctionnement des photorécepteurs rétiniens et l'adaptation de la vision en fonction de la luminosité. Cette caractéristique est indispensable au bon fonctionnement du cycle circadien. Or, il a été prouvé qu'un dérèglement de ce cycle pouvait favoriser le développement de pathologies cardiovasculaires, métaboliques (diabète, obésité), altérer le bon fonctionnement du système immunitaire et même promouvoir l'apparition de cancers.

Enfin, la nicotine semble provoquer un nystagmus, à savoir des mouvements involontaires de l'œil, chez les vapoteurs.

4. Induction de cancers de l'œil chez les utilisateurs de cigarette électronique

Pour finir, le vapotage pourrait favoriser, sur le long terme, la survenue de cancers oculaires. C'est en tout cas ce que rapporte une étude de cas américaine de 2020 (73). Un jeune homme de 22 ans, consommateur de e-liquides aromatisés à la menthe depuis 5 ans, est amené à consulter un ophtalmologiste pour une vision flou unilatérale, sans douleur oculaire avec une légère opacification de la cornée supérieure de l'œil droit. Le prélèvement cornéen effectué, à la suite de l'absence de réponse au traitement antiviral prescrit par le spécialiste, n'a révélé aucune infection bactérienne, virale ou mycosique en cours. Au bout d'une année sans amélioration des symptômes, une kératectomie superficielle est réalisée et a révélé une néoplasie intraépithéliale conjonctivale de haut grade. Cette formation de cellules pré-cancéreuses au niveau de la conjonctive peut évoluer en carcinome épidermoïde en l'absence de traitement. Le développement de ce genre de pathologies malignes pourrait être favorisé notamment par les aldéhydes émis lors de la vaporisation des liquides de cigarettes électroniques, qui comme expliqué précédemment, sont, pour certains, des substances cancérigènes avérées.

C. Sphère auditive

Au cours des dix dernières années, plusieurs travaux de recherche ont conclu que le tabagisme favorisait une perte réversible de l'audition, notamment des hautes fréquences du spectre auditif (74). Autrement dit, les fumeurs seraient plus susceptibles de ne plus percevoir les sons aigus au fur et à mesure des années. Tous les mécanismes conduisant à cette surdité partielle ne sont pas encore élucidés mais pour l'heure, il semblerait que la toxicité des substances contenues dans les cigarettes ainsi que l'hypoxie, provoquée par l'action combinée de l'augmentation des taux de CO sanguins et la vasoconstriction induite par la nicotine, soient responsables d'une altération des cellules cillées de la cochlée. Si dans les années qui viennent, ces hypothèses se vérifient, il est fort probable qu'une nocivité des e-liquides vis-à-vis de la sphère auditive soit, elle aussi, mise en évidence.

1. Rappels anatomiques sur l'appareil auditif humain

L'oreille est composée de trois parties : l'oreille externe, l'oreille moyenne et l'oreille interne. Le pavillon et le conduit auditif (oreille externe) permettent de capter les ondes sonores et de les concentrer vers le tympan. Derrière la membrane tympanique, se trouve la caisse du tympan comprenant le marteau, l'enclume et l'étrier, trois osselets chargés de transmettre le son jusqu'à l'oreille interne. Cette dernière est composée de la cochlée qui va transformer le signal mécanique en signal électrique qui sera, ensuite, acheminé au cerveau par le nerf auditif et celui du vestibule, jouant un rôle dans l'équilibre.

2. Cigarette électronique et audition

Le potentiel cytotoxique de e-liquides, non nicotinés et aromatisés a été mis en évidence, *in vitro*, sur des cellules épithéliales de l'oreille moyenne (75). Song et al ont incubé ces cellules avec soixante-treize liquides commercialisés par douze fabricants différents. Ces liquides ont été répartis en cinq groupes en fonction de leurs arômes : tabac, café, fruits, menthe, confiseries. La viabilité cellulaire a été évaluée dans ces

différents groupes grâce au « Cell Counting Kit-8 » (CCK-8). Le CCK-8 est un test colorimétrique mesurant la quantité de sels de tétrazolium réduite en formazan par les NAD(P) déshydrogénases cellulaires. Le formazan est un composé de couleur orangée : ainsi, à l'aide d'un spectrophotomètre UV-visible, il est possible de détecter la concentration de ce dernier dans le milieu de culture. La concentration en formazan est proportionnelle au nombre de cellules viables en phase de prolifération. Il est apparu, à l'issue du test CCK8, que la viabilité cellulaire était fortement diminuée dans les groupes de cellules exposées aux e-liquides par rapport au groupe contrôle. Il a aussi été démontré que cette cytotoxicité dépendait de la dose de e-liquide et de son arôme. En effet, la concentration inhibitrice 50 (CI50), c'est-à-dire, la concentration nécessaire pour inhiber 50% d'un processus biologique, était significativement plus faible dans le groupe des liquides mentholés que dans les autres.

De la mort des cellules ciliées de la cochlée résulte une perte d'audition : il semblerait donc, qu'à l'instar de la cigarette traditionnelle, les dispositifs de vapotage induisent une surdité partielle, dose et arôme dépendante.

D. Sphère oropharyngée

Chez un fumeur, la bouche est le tout premier organe à être au contact direct des milliers de substances nocives composant la fumée de cigarette. Il n'est donc pas surprenant de constater que les effets délétères du tabagisme sur la santé bucco-dentaire sont nombreux : parmi eux, on peut citer la perte du goût/de l'odorat, l'halitose, l'hyposialie, l'apparition de caries et de parodontites, l'usure prématurée et accrue des dents, une prédisposition aux candidoses, des retards de cicatrisation et enfin le développement de cancers. Là encore, la question de la toxicité de la cigarette électronique vis-à-vis de la cavité buccale se pose et plusieurs équipes de recherche ont voulu y répondre.

Ji et al ont incubé des kératinocytes humains, issus de la muqueuse buccale, avec des aérosols de liquides plus ou moins concentrés en nicotine et avec différents arômes (76). L'effet cytotoxique de ces liquides a été évaluée par un test de viabilité cellulaire à l'ATP. Lorsque l'intégrité de la membrane plasmique est compromise (lors

de l'apoptose ou de la nécrose cellulaire par exemple, les protéines contenues dans le cytoplasme de la cellule sont relarguées dans le milieu de culture. Parmi elles, se trouve une enzyme, l'adénylate kinase, chargée de convertir l'ADP en ATP. En ajoutant au milieu de culture une autre enzyme, la luciférase, capable d'oxyder la luciférine en hydrolysant l'ATP en AMP et ainsi de produire un signal lumineux, il est possible de déterminer la concentration en ATP dans le milieu de culture et donc d'estimer la cytotoxicité d'un composé. A l'issue de ce test à l'ATP, la fluorescence détectée dans le milieu de culture des cellules exposées aux vapeurs de cigarettes électroniques était beaucoup plus importante que dans le milieu de culture du groupe contrôle, témoignant d'une viabilité cellulaire réduite dans le groupe exposé. Toujours avec un test à la luciférine, la concentration intracellulaire en glutathion a été déterminée afin de savoir si la cytotoxicité des e-liquides pouvait être liée à une saturation des capacités antioxydantes des cellules exposées. Une diminution significative des concentrations en glutathion a été mise en évidence dans ces cellules. L'ensemble de ces résultats souligne que les e-liquides provoquent un stress oxydant dans les kératinocytes de la cavité buccale qui y sont exposés et induisent ainsi leur mort.

Ce constat, Sancilio et al l'ont également fait sur des fibroblastes gingivaux humains exposés à des liquides nicotinéés ou non (77). Ces fibroblastes ont été incubés avec des concentrations en e-liquides allant de 0 mg/ml (groupe contrôle) à 5 mg/ml de nicotine sur une période allant de 0 heures à 72 heures. Plusieurs paramètres ont été mesurés : la production de radicaux libres de l'oxygène, l'expression de la protéine Bcl2 associated X (Bax), capable d'induire l'apoptose et la viabilité cellulaire. La production d'ERO a été estimée par analyse, en microscopie optique, de la fluorescence émise par l'oxydation du H₂-DCF-DA. Après 24 heures d'incubation, la concentration en radicaux libres de l'oxygène était significativement augmentée dans les groupes de fibroblastes exposés, par rapport au groupe contrôle et ce, indépendamment de la teneur en nicotine du milieu de culture. De plus, la quantité d'ERO détectée augmentait en fonction du temps. L'expression de Bax, mesurée par cytométrie en flux, était aussi, accrue dans les groupes de cellules exposés aux différents e-liquides après 24 heures. Enfin, le test MTT, un test de viabilité cellulaire reposant sur le même principe que le test CCK8, a montré une augmentation de la mortalité des fibroblastes exposés par rapport aux fibroblastes non exposés après 48

heures d'expérience. Tous ces résultats indiquent que la cytotoxicité liée aux liquides de vapotage et observée dans les populations de cellules de la cavité buccale résulte très certainement du stress oxydant excessif auquel ces cellules sont soumises.

L'arôme est également un facteur faisant varier la dangerosité des e-liquides. Comme dans les études citées précédemment, la viabilité des cellules de la muqueuse oropharyngée, prélevées chez des individus en bonne santé, est réduite de façon plus ou moins importante dans les groupes exposés aux e-liquides par rapport au groupe contrôle (78). De plus, le nombre de cellules vivantes est significativement plus faible après exposition à des liquides aromatisés (menthe, fruits...) qu'après exposition à leurs homologues arôme tabac. Welz et al sont partis du postulat que la cytotoxicité des e-liquides était la conséquence directe de la capacité de ces derniers à provoquer des cassures de l'ADN. Ils ont alors effectué, sur ces cellules oropharyngées, un test des comètes, technique permettant de mesurer les cassures de l'ADN (qu'elles soient simple ou double brin). Après incubation avec l'agent d'intérêt, les cellules sont incorporées dans un gel d'agarose et lysées par un agent alkylant de façon à séparer l'ADN du noyau et des autres éléments cellulaires (membranes, ARN, protéines...). L'ADN est incubé dans un tampon d'électrophorèse (pH basique) ce qui permet de détendre l'hélice et de dénaturer l'ADN. Une électrophorèse sur gel d'agarose est ensuite effectuée et du bromure d'éthidium, un agent intercalant fluorescent qui permet de colorer l'ADN est ajouté. Lors de l'observation au microscope, si l'ADN est non fragmenté, on voit alors uniquement la tête de la comète, traduisant que l'ADN de la cellule est intact et que l'agent testé n'est pas génotoxique. Si l'ADN est fragmenté en revanche, on observera la tête et la queue de la comète, ce qui signifie que l'agent testé est génotoxique (plus il l'est, plus la queue de la comète est longue et grande). La fragmentation de l'ADN était significativement plus élevée dans les groupes de cellules exposés à la cigarette électronique que dans le groupe contrôle et on peut même ajouter que l'ADN était plus fortement endommagé dans les groupes e-liquides aromatisés que dans le groupe e-liquide tabac. Une fois de plus, cette génotoxicité et cytotoxicité semblent indépendantes de la teneur en nicotine des liquides (79). En effet, il n'a été retrouvé aucune différence significative entre les groupes « liquides avec nicotine » et « liquides sans nicotine » quant à la réduction de la viabilité cellulaire, à la taille des queues des comètes et au nombre de foyers γ -H2AX fluorescents (témoins des cassures doubles brins de l'ADN). La teneur en nicotine d'un

e-liquide n'est donc en rien un indicateur de sa génotoxicité contrairement à la présence d'un arôme qui semble provoquer plus de cassures de l'ADN.

Tous ces résultats suggèrent fortement que les e-liquides sont cytotoxiques car ils sont générateurs d'un stress oxydant important que les systèmes de détoxification de la cellule ne peuvent pas prendre en charge ce qui conduit à des dommages de l'ADN pouvant entraîner la mort cellulaire par apoptose ou nécrose. Physiologiquement, l'équilibre entre réplication et mort cellulaire doit être finement régulé afin de maintenir l'homéostasie tissulaire. Dans le cas où cet équilibre est rompu en faveur de l'apoptose, la cicatrisation peut être retardée et les lésions au niveau du tissu touché peuvent s'accumuler. Les lésions de la muqueuse buccale ont été étudiées chez des vapoteurs et des anciens fumeurs, afin de déterminer, d'une part, si la cigarette électronique induit des lésions chez ces utilisateurs et d'autre part, si les lésions sont retrouvées avec la même fréquence que chez les fumeurs (80). Un total de quatre-vingt-dix patients, quarante-cinq vapoteurs et quarante-cinq anciens fumeurs, ont participé à cette étude et ont été soumis à un examen buccal avec réalisation de frottis ou de biopsies si besoin. Les résultats montrent qu'un peu plus de la moitié des personnes incluses dans cette étude présentent des lésions buccales et parmi elles, les deux tiers font parties du groupe des vapoteurs. Trois types de lésions sont significativement plus fréquentes chez le vapoteurs que chez les ex-fumeurs : la stomatite nicotinique, qui correspond à l'inflammation des glandes salivaires liée à la consommation de nicotine, la langue râpeuse et la perlèche, une inflammation de la commissure des lèvres se manifestant par des fissures au coin des lèvres, sur fond érythémateux et d'origine infectieuse (bactérienne ou mycosique).

Dans certains cas, les lésions de l'ADN peuvent survenir sur des oncogènes, des gènes suppresseurs de tumeurs ou les gènes des télomérases : la cellule ne s'engagera alors pas dans la voie de l'apoptose mais pourra accumuler des mutations pouvant aboutir à un processus de transformation tumorale. Deux cas de cancers de la cavité orale ont été imputés ces dernières années à l'utilisation chronique de cigarette électronique (81). Le premier cas est celui d'un patient de 66 ans, sans antécédent médicaux particuliers, consommateur quotidien de cigarettes électroniques depuis treize ans, ayant consulté un otorhinolaryngologiste pour une perte de poids importante et inexplicquée, une dysphagie et une xérostomie

(sècheresse buccale). L'examen de sa bouche a révélé plusieurs zones indurées et une paresthésie de la langue compatibles avec la sècheresse buccale dont se plaint le patient. Des masses entourées de zones hyperkératosiques ont également été observées lors de cet examen. Au niveau de la biologie, une augmentation des niveaux sériques de ferritine, d' α -antitrypsine et d' α -antiglucoprotéine ont été retrouvées : ces trois paramètres sont des marqueurs souvent associés à des stades tardifs de cancers oraux. À la suite d'une biopsie, un carcinome basocellulaire basaloïde squameux a été diagnostiqué. Le deuxième cas concerne un homme de 59 ans consultant pour une ulcération de la lèvre inférieure ne cicatrisant pas depuis 9 mois. A l'auscultation, les signes vitaux sont normaux et aucune adénopathie cervicale n'est retrouvée. Comme pour le patient précédent, la biologie montre une augmentation de la ferritine, de l' α -antitrypsine et de l' α -antiglucoprotéine. La biopsie confirmera le diagnostic de carcinome basocellulaire squameux.

Il convient toutefois de nuancer l'ensemble des conclusions tirées de ces études : une équipe italienne a réalisé un test des micronoyaux sur des cellules buccales prélevées sur soixante-cinq patients répartis en trois groupes : fumeurs, non-fumeurs/non-vapoteurs et vapoteurs (82). La prévalence des micronoyaux était significativement plus basse dans le groupe des vapoteurs par rapport à celui des fumeurs et il n'y avait aucune différence statistiquement significative entre la prévalence des micronoyaux dans le groupe des vapoteurs et celui des non-fumeurs/non-vapoteurs. Ainsi, la cigarette électronique semble moins mutagène, moins génotoxique que la cigarette classique.

E. Sphère respiratoire basse

S'il y a bien un organe sur lequel l'innocuité de la cigarette électronique fait débat, ce sont les poumons. En effet, l'impact potentiel sur l'appareil respiratoire est ce à quoi on pense en premier lorsque l'on évoque la toxicité de ce dispositif. Ce questionnement est tout à fait légitime puisque l'on sait que la cigarette traditionnelle aggrave des pathologies telles que l'asthme, et est impliquée dans le développement de la bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) et des cancers du poumon.

Nous allons voir ci-après ce que rapportent les études scientifiques sur la toxicité de l'e-cigarette.

1. Cigarette électronique et clairance mucociliaire

L'épithélium bronchique est constitué de plusieurs types cellulaires à savoir, les cellules basales jouant un rôle nutritif, les cellules caliciformes chargées de sécréter le mucus et les cellules ciliées qui assurent, en partie, la clairance mucociliaire. Plusieurs équipes de recherche se sont intéressées sur la question de la cytotoxicité des e-liquides vis-à-vis de l'épithélium pulmonaire et de leur impact sur l'évacuation du mucus. Parmi elles, Garcia-Arcos et al ont exposé, pendant 24 heures, des cellules épithéliales bronchiques humaines à des vapeurs de e-liquides contenant des concentrations de 0 à 36 mg/ml de nicotine (83). Ils ont ensuite évalué le nombre de cellules ciliées et leur fréquence de battement, via des anticorps monoclonaux anti-tubuline marqués. Après 8 heures d'exposition, il s'est avéré que la fréquence de battement des cils était significativement plus faible dans les groupes de cellules incubées avec les e-liquides nicotinés par rapport au groupe contrôle. Ce phénomène est dépendant de la concentration en nicotine du liquide : plus elle est élevée, moins les cils battent. Par ailleurs, le nombre de cellules ciliées présentes dans le milieu de culture n'étant pas modifié, cela suggère que la diminution de la fréquence de battement n'est pas due à une amplification de la mort cellulaire. Toutefois, les auteurs ignorent les raisons de cette diminution de la fréquence de battement ciliaire. On pourrait supposer qu'elle résulte d'une altération des cils présents à la surface des cellules (comme c'est le cas avec l'exposition à la fumée de cigarette). Au vu de ces résultats, il semblerait que les vapeurs de e-liquides diminuent la clairance mucociliaire par altération du fonctionnement des cellules ciliées. Or, une mauvaise évacuation du mucus peut vite devenir problématique pour le maintien d'une bonne fonction respiratoire. L'une des fonctions du mucus est en effet de piéger les organismes pathogènes pour les évacuer avant qu'ils ne puissent proliférer et induire une maladie infectieuse chez le sujet exposé. Si le mucus stagne dans les bronches, le terrain devient propice au développement d'infections bactériennes, virales ou mycosiques. De même, avec la diminution de la clairance mucociliaire, tous les composés

chimiques irritants, les particules et les allergènes resteront plus longtemps au contact de l'épithélium bronchique, favorisant ainsi une inflammation du tractus respiratoire.

Garcia-Arcos et al ont également étudié les effets des e-liquides sur les mucines, des glycoprotéines de haut poids moléculaire, entrant dans la composition du mucus et notamment les effets sur la mucine MUC5AC que l'on retrouve aussi bien chez l'homme que chez les souris (83). L'observation au microscope à fluorescence de la protéine MUC5AC, préalablement marquée avec un fluorochrome, chez des souris exposées à des aérosols de cigarettes électroniques contenant de la nicotine a mis en évidence une augmentation de la production de mucus dans leurs voies respiratoires inférieures par rapport aux souris contrôle. De plus, une analyse par PCR en temps réel a montré une expression accrue du gène *Muc5ac* (codant pour la mucine du même nom) chez ces souris et une augmentation de l'activité du facteur de transcription SPDEF, régulant de façon positive le gène *Muc5ac*, a été mise en évidence dans les expectorations d'utilisateurs de cigarettes électronique. L'ensemble de ces résultats suggère, qu'en réponse à « l'agression » que représente l'inhalation des vapeurs de e-liquides, les cellules caliciformes produisent plus de mucus. La réduction de la fréquence de battement ciliaire entraîne une accumulation du mucus dont la production est accrue favorisant la stagnation des agents pathogènes, allergènes et irritants au niveau des bronches et donc, in fine, une altération de la fonction respiratoire.

La clairance mucociliaire est un phénomène dépendant, d'une part, de l'activité des cellules ciliées et d'autre part de l'hydratation du mucus. Cette dernière est assurée par diverses protéines transmembranaires qui vont permettre le passage de l'eau du milieu intracellulaire vers le milieu extracellulaire. Parmi ces protéines, on retrouve le Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator ou canal CFTR. Cette protéine transmembranaire, qui fonctionne comme un canal, est présente au niveau de nombreuses cellules de l'organisme et notamment les cellules de l'épithélium pulmonaire. Elle permet le passage des ions chlore de l'espace intracellulaire vers l'espace extracellulaire. Un gradient de concentration en ions chlorure est ainsi créé et permet d'attirer l'eau à l'extérieur des cellules et d'hydrater le mucus pour qu'il soit correctement évacué. Chez les individus possédant des canaux CFTR défectueux, on observe le développement de pathologies comme la mucoviscidose. On sait que le tabagisme altère le fonctionnement du canal CFTR : le

mucus est moins hydraté, plus visqueux et s'évacue moins bien provoquant l'encombrement bronchique observé chez les fumeurs, notamment ceux atteints de bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO). Pour ce qui est de la cigarette électronique, il a été montré que l'acroléine, produite lors de la vaporisation des e-liquides, réduisait le flux d'ions chlore transitant par les canaux CFTR des cellules épithéliales humaines (84). Cette perte de flux peut s'expliquer d'une part par la réduction de la conductance ionique, c'est-à-dire la facilité avec laquelle les ions chlorures passent la membrane plasmique, et d'autre part par des canaux CFTR rendus dysfonctionnels par des mutations génétiques provoquées par l'acroléine et inhibant ainsi le passage des ions. Ces résultats sont confirmés par l'étude de Lin et al (85) qui a montré que le transport des ions chlorure via le canal CFTR est diminué suite à une exposition des cellules épithéliales à du glycérol pur et des e-liquides vaporisés. Cette réduction du flux ionique n'est pas observée lors de l'incubation des cellules avec des liquides non vaporisés ce qui signifie que c'est bien une substance produite lors de la dégradation thermique des liquides qui est à l'origine de cette dysfonction des canaux CFTR. L'acroléine étant impliquée dans l'altération de ces canaux et étant générée en quantité non négligeable lors de l'aérosolisation des e-liquides, on peut fortement suspecter que cette dernière est impliquée dans la diminution du flux d'ions chlorures.

Le transport des ions sodium semble également affecté de façon négative par l'utilisation de la cigarette électronique (85). Au pôle apical des cellules de l'épithélium pulmonaire se trouvent des transporteurs ENaC, chargés de faire passer les cations sodium du milieu extracellulaire vers l'intérieur de la cellule. A l'instar du canal CFTR, ENaC permet de réguler la quantité de mucus tapissant les voies respiratoires. Si ce transporteur est inhibé, alors le sodium n'est plus absorbé par la cellule et le mucus s'accumule. Le transporteur Na^+/K^+ ATP-dépendant est un autre transporteur cellulaire chargé de générer des flux d'ions sodiques. Situé au pôle basal des cellules, il permet d'évacuer les ions sodium s'accumulant dans les cellules vers la circulation sanguine. La mesure des flux de sodium sur des cellules épithéliales bronchiques humaines a permis de mettre en évidence une diminution du transport du sodium, aussi bien par ENaC que par les transporteurs Na^+/K^+ ATP dépendants après exposition à des vapeurs de cigarette électronique. Comme pour le canal CFTR, on

peut imaginer que les composés toxiques comme l'acroléine altèrent les gènes codant pour ces protéines, ce qui aboutit à leur dysfonctionnement.

En résumé, l'usage de la cigarette électronique conduit à une diminution de la clairance mucociliaire reposant sur trois phénomènes : diminution de la fréquence de battement des cils présents sur les cellules ciliées, production accrue de mucus en réponse à l'agression de l'épithélium et épaissement du mucus due à l'altération des systèmes permettant le maintien de son hydratation. Cette diminution de clairance peut favoriser la vulnérabilité de l'appareil respiratoire aux toxiques et aux agents infectieux.

2. Cigarette électronique et cytotoxicité vis-à-vis de l'épithélium bronchique

Les effets d'une exposition des cellules de l'épithélium bronchique humain à de la vapeur de cigarette électronique a été évaluée par Scheffler et al (86). Des cellules, prélevées sur deux donneurs humains volontaires, ont été incubées avec des e-liquides nicotinés (concentration allant jusqu'à 24 mg/ml) ou non, du propylène glycol pur, de la glycérine pure et de la fumée de cigarette classique. La production de radicaux libres et la viabilité cellulaire ont été mesurés par des techniques de marquage à la luciférine. Ces tests ont montré qu'une augmentation de la production de radicaux libres et une diminution de la viabilité cellulaire dans les groupes exposés aux e-liquides, au propylène glycol pur et à la glycérine pure par rapport au groupe exposé à l'air libre et ce, indépendamment de leur concentration en nicotine, prouvant une nouvelle fois, l'existence d'un effet délétère des excipients des e-liquides.

Autre excipient semblant être un facteur potentialisant la toxicité des liquides : les arômes. L'évaluation de la viabilité cellulaire par le test MTT sur une lignée de cellules de l'épithélium pulmonaire (CALU3) a montré que cette dernière était significativement plus faible dans les groupes de cellules exposées à des e-liquides aromatisés que dans les groupes de cellules exposées seulement à un mélange de propylène glycol et de glycérine (87).

Toutefois, il convient de nuancer ces résultats car la cigarette classique est jusqu'à huit fois plus toxique pour les cellules et entraîne une production cinq fois plus importante de radicaux libres que son homologue électronique (86).

3. Cigarette électronique et matrice extracellulaire

La matrice extracellulaire (MEC) pourrait être qualifiée de « ciment intercellulaire » : c'est elle qui assure l'organisation et la fonctionnalité de chaque tissu. Elle est constituée de diverses macromolécules (collagène, élastine, glycoprotéines, protéoglycanes) synthétisées par les fibroblastes et dégradées par les métalloprotéases. Lorsque l'homéostasie de cette matrice est perturbée, c'est tout le fonctionnement des tissus qui est remis en cause. C'est pour cette raison que l'impact de l'utilisation de la cigarette électronique sur cette dernière a été étudiée.

Lerner et al ont incubé, pendant 24 heures, des fibroblastes pulmonaires issus d'un fœtus humain avec du propylène glycol pur, du glycérol pur, des e liquides arôme tabac, cannelle, raisin et contenant ou non de la nicotine (59). Ils ont, ensuite, analysé la morphologie de ces fibroblastes avec un microscope en contraste de phase et estimé la viabilité cellulaire par cytométrie en flux. Il est ressorti de ces analyses que les connexions intercellulaires étaient moins nombreuses et plus altérées dans les cellules ayant été en contact avec les e-liquides et leurs divers composants purs que dans la condition contrôle : les formations en fuseau, caractéristiques de fibroblastes, sont quasiment absentes dans ces cultures. De plus, on observe également la présence de nombreuses vacuoles dans le cytoplasme de ces fibroblastes. Ces changements sont exacerbés par la présence de nicotine et d'arômes dans les liquides. L'usage de la cigarette électronique a donc un effet négatif sur la morphologie des fibroblastes, pouvant ainsi altérer le bon déroulement de la synthèse des composants de la matrice extracellulaire.

Concernant les mécanismes de dégradation de la MEC, des altérations imputables aux e-liquides ont été observées. Une PCR quantitative réalisée sur le lysat des tissus pulmonaires des souris exposées de façon chronique soit à un e-liquide sans nicotine soit à un liquide concentré à 18 mg/ml de nicotine, a mis en évidence une augmentation de l'expression des gènes codant pour certaines protéases de la matrice extracellulaire dans le groupe nicotine (83). Parmi elles, les « matrix metalloproteinase » (MMP) 9 et 12, ont respectivement un rôle de gélatinase et d'élastase, c'est-à-dire qu'elles peuvent dégrader la gélatine et l'élastine de la MEC. Chez ces mêmes souris du groupe e-liquide nicotiné, une activité accrue de la collagénase est également retrouvée. Ces trois enzymes sont peu exprimées en conditions physiologiques, mais lors du processus d'inflammation, et plus précisément

lors de la réparation tissulaire, une augmentation de leur activité est observée suite à l'activation de leurs gènes par des cytokines telles que l'IL-1 β et le TNF α . Si l'inflammation devient chronique, elles vont être continuellement actives et la MEC sera dégradée plus rapidement que ce qu'elle ne sera synthétisée, provoquant ainsi des plaies chroniques, des retards de cicatrisation et une altération permanente des tissus. Au niveau pulmonaire, une expression anarchique des métalloprotéases est à l'origine d'un emphysème et d'une bronchiectasie, une dilatation non réversible du calibre bronchique.

Un constat similaire a été fait chez l'homme après analyse de l'expression de métalloprotéases provenant du liquide de lavage bronchoalvéolaire prélevé chez des individus non-fumeurs, vapoteurs et fumeurs de tabac (88). Les concentrations et l'activité des protéases MMP-2 et MMP-9 du groupe « vapoteur » est significativement plus élevée que dans le groupe « non-fumeur » et a un niveau équivalent de ce qui est observé dans le groupe « fumeur ». A l'inverse, l'expression des antiprotéases, les protéines chargées de « contrer » les métalloprotéases, est inchangée quel que soit le groupe étudié.

Les effets d'une exposition sub-chronique à la cigarette électronique sur le remodelage de la matrice extracellulaire pulmonaire, ont également été étudiés par Wang et al (89). Trois groupes de souris ont été exposées pendant un mois à raison de deux heures par jour, cinq jours par semaine soit à de l'air filtré, soit à un e-liquide contenant un mélange de propylène glycol (PG) et de 25 mg/ml de nicotine, soit à un e-liquide contenant uniquement du PG. Après trente jours d'exposition, les concentrations en collagène et fibronectine, deux composants essentiels de la matrice extracellulaire, étaient fortement réduites dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire des souris exposées aux deux types de e-liquides.

La conséquence sur le long terme de l'altération de la synthèse de la matrice extracellulaire et de sa dégradation accrue pourrait être le développement d'une BPCO chez l'individu consommateur de e-cigarette. La BPCO est une bronchite chronique, irréversible et d'évolution très lente. Elle se caractérise, entre autres, par la formation d'un emphysème, c'est-à-dire une fusion des alvéoles pulmonaires provoquée par leur perte d'élasticité et le rétrécissement bronchique. Cette atteinte du parenchyme pulmonaire altère la qualité des échanges gazeux : le sang est moins bien oxygéné et le patient souffre progressivement de dyspnée. 80% des BPCO sont consécutives au

tabagisme (90) : au vu des effets des e-liquides sur la MEC, on peut facilement imaginer qu'à l'instar du tabagisme mais dans une moindre mesure le vapotage pourrait également conduire au développement de cette maladie.

4. Cigarette électronique et inflammation chronique des voies respiratoires

L'inflammation chronique des voies aériennes inférieures est une caractéristique retrouvée dans les deux grandes pathologies pulmonaires que sont la BPCO et l'asthme. S'il est acquis que le tabagisme actif participe à l'entretien de cette inflammation, qu'en est-il du vapotage ?

Pour un début de réponse, reprenons les résultats obtenus par Garcia-Arcos et son équipe (83). Des souris ont été exposées quotidiennement, pendant deux semaines (exposition sub-chronique) ou quatre mois (exposition chronique), à des aérosols d'un mélange de propylène glycol et de glycérine et de e-liquides contenant 18 mg/ml de nicotine ou non. L'homogénat issu des poumons montre une augmentation significative de l'expression des cytokines IL-1 β , IL-6, Cxcl10 et Cxcl2 dans le groupe des souris exposées à de la nicotine par rapport au groupe sans nicotine et ce que ce soit pour une exposition sub-chronique ou chronique.

Pour rappel, les interleukine 1 (IL-1) et 6 (IL-6) sont des cytokines pro-inflammatoires sécrétées par les cellules en réponse à une agression. L'IL-1 stimule l'expression des molécules d'adhésion à la surface des cellules endothéliales ce qui permet aux leucocytes circulants (PNN, PNE, monocytes et lymphocytes NK) de rejoindre le site de l'inflammation. Elle agit également au niveau de l'hypothalamus, et plus précisément sur les centres de régulation de la température corporelle (induisant ainsi de la fièvre). L'IL-6 est produite par les cellules de l'immunité résidentes (macrophages et cellules dendritiques) : elle induit le processus de phagocytose et la modification de l'endothélium. Les chimiokines sont une classe particulière de cytokines chargées du recrutement des cellules de l'inflammation : via la formation d'un gradient de concentration, elles permettent l'acheminement des cellules cibles vers le site de l'inflammation. CXCL10 recrute les monocytes et les NK et CXCL2, les polynucléaires neutrophiles.

L'augmentation de la production d'IL-6 est aussi retrouvée en cas d'exposition aiguë à la cigarette électronique (91). Onze souris ont été réparties en trois groupes et, en fonction de ce dernier, ont été exposées six heures par jour pendant trois jours à de l'air ambiant (contrôle), à de la cigarette électronique et à de la cigarette classique. Le profil d'expression de différentes cytokines pro-inflammatoires (IL-1 β , IL-6 et TNF α) a été établi par RT-PCR à partir des ARN messagers récupérés dans les lysats des cellules pulmonaires des trois groupes de souris. Sur ces trois cytokines, seul l'ARN messenger codant pour la cytokine IL-6 est augmenté de façon significative dans les poumons des souris du groupe cigarette électronique. Ces résultats sont concordants avec ceux obtenus par l'équipe de Lerner (59), qui a retrouvé, via un test ELISA effectué sur le liquide de lavage bronchoalvéolaire des souris, une production accrue des cytokines IL-1 β , IL-6 et de la chimiokine CXCL8 (aussi appelée interleukine 8) dans les différents groupes exposés de façon aiguë à des vapeurs de e-liquides par rapport au groupe témoin. Cette augmentation de l'IL-6 et de l'IL-8 a également été observée dans les cellules de l'épithélium pulmonaire humain incubées avec des e-liquides. De plus, il a été montré par la même occasion, que les arômes exercent une influence sur la réponse inflammatoire des cellules. En effet, la quantité d'IL-8 était beaucoup plus importante dans le groupe de cellules exposées au liquide arôme cannelle que dans les autres groupes de cellules.

Wang et al ont aussi montré que la nicotine avait un effet sur la production de cytokines pro-inflammatoires au niveau pulmonaire (89). En effet, le liquide de lavage bronchoalvéolaire de souris exposées à un e-liquide nicotiné, était plus riche en cytokines pro-inflammatoires que celui des souris du groupe « air filtré » et « e-liquide sans nicotine ». De même, le nombre de cellules de l'inflammation (macrophages, polynucléaires neutrophiles, lymphocytes TCD4 et lymphocytes TCD8) est significativement plus important dans le liquide de lavage bronchoalvéolaire du groupe de souris exposées aux aérosols d'un liquide avec nicotine que dans le groupe des souris ayant respiré les vapeurs d'un liquide sans nicotine.

L'augmentation des cytokines pro-inflammatoires a aussi été mise en évidence in vitro dans des cultures de cellules humaines de l'épithélium bronchique et cutané (92). A l'instar des autres études, l'incubation des cellules a été faite avec des liquides contenant ou non des arômes et avec ou sans nicotine. Vingt-sept cytokines ont été recherchées dans le milieu de culture de chaque groupe de cellules à l'aide d'une

technique d'immunofluorescence en multiplex. Une augmentation significative de plusieurs cytokines pro-inflammatoires (IL-1, IL-6, IL-8, TNF α) a été constatée dans les groupes exposés aux vapeurs de la cigarette électronique (y compris sans nicotine) par rapport au groupe contrôle, exposé à l'air filtré.

Des analyses histologiques réalisées sur des biopsies pulmonaires de consommateurs de cigarette électronique ont permis de révéler une accumulation de macrophages lipidiques, ainsi qu'un important infiltrat de polynucléaires neutrophiles (93).

Comme évoqué précédemment, l'inflammation chronique des voies aériennes est une caractéristique retrouvée dans plusieurs pathologies du tractus respiratoire, notamment l'asthme. Elle va avoir pour conséquence un épaississement des parois des bronches et responsable d'une diminution de leur calibre. L'air va circuler plus difficilement et le patient va souffrir d'une gêne respiratoire se manifestant, entre autres, par une toux, une respiration sifflante et des crises d'essoufflement. De plus, une personne asthmatique va être plus sensible à des facteurs tels que l'exercice physique, le froid, la fumée de cigarette, les substances allergènes... En réaction à ces agressions extérieures, les bronches vont produire plus de mucus et vont se contracter : c'est ce que l'on appelle la crise d'asthme. Via la production accrue de cytokines entretenant l'inflammation des bronches, la cigarette électronique peut, à l'image de la cigarette traditionnelle, aggraver l'asthme.

5. Cigarette électronique et fonction pulmonaire

5.1. Hyper-réactivité bronchique

L'impact sur la fonction pulmonaire d'une exposition chronique aux vapeurs de e-liquides a été investiguée chez des souris par Larcombe et al (94). Les rongeurs ont été divisés en six groupes : un groupe contrôle ayant respiré de l'air filtré, un groupe exposé à de la fumée de cigarette classique, un groupe aux vapeurs d'un e-liquide sans nicotine, un groupe aux vapeurs d'un liquide avec nicotine et enfin les deux derniers groupes respectivement à des vapeurs de glycérol pur et de propylène glycol pur. Vingt-quatre heures après la dernière exposition, les souris ont été anesthésiées

et placées sous respiration artificielle afin de procéder à un test de réactivité à la méthacholine, un broncho constricteur stimulant les récepteurs muscariniques du système nerveux parasympathique. Cette molécule est généralement utilisée pour déterminer la réactivité bronchique d'un individu. Ce paramètre peut servir au diagnostic de l'asthme en cas d'examens clinique et spirométrique normaux ou à objectiver la sévérité d'un asthme chez un patient. Ici, les souris ont été exposées à différentes concentrations en méthacholine et les paramètres suivants ont été mesurés par oscillation forcée à basse fréquence (technique consistant à appliquer une onde oscillatoire basse fréquence à l'ouverture des voies respiratoires pour mesurer la pression, le débit et le volume qui en résultent et ainsi permettre une évaluation de la fonction pulmonaire de l'organisme) : résistance des voies respiratoires, élastance tissulaire et amortissement des tissus. L'ensemble de ces trois paramètres est plus élevé dans les groupes « glycérol pur », « e-liquide avec nicotine » et « e-liquide sans nicotine » par rapport au groupe contrôle témoignant ainsi d'une plus grande irritabilité des voies respiratoires chez ces souris et donc une plus grande proportion d'individus asthmatiques dans ces groupes. A noter que, d'après Larcombe et al, cette hyper-réactivité bronchique est nicotine-indépendante et beaucoup plus prononcée chez des individus ayant respiré de la fumée de cigarette. Ce constat est cependant à nuancer car Garcia-Arcos et al ont obtenu des résultats similaires à ceux de Larcombe uniquement avec les aérosols générés à partir de liquides nicotinés (83). Seules les souris exposées à un e-liquide concentré à 18 mg/ml de nicotine, ont montré un rapport Débit Expiratoire Maximal au point 50 de la capacité vitale forcée (DEM50)/Capacité vitale forcée (CVF) à la suite du test à la méthacholine dans leur étude.

Chez l'homme, une altération des fonctions pulmonaire, consécutive à la consommation de cigarette électronique, a également été mise en exergue à de multiples reprises par des chercheurs et ce, même pour des expositions aiguës. Une étude a ainsi porté sur les effets d'une utilisation à court terme de la cigarette électronique sur la fonction pulmonaire de personnes non fumeuses, de fumeurs en bonne santé et de fumeurs atteints d'asthme ou de bronchopneumopathie obstructive chronique (BPCO) (95). Pour cela, plusieurs paramètres (résistance des voies respiratoires, conductance des voies respiratoire, symptômes respiratoires, signes vitaux, capacité de diffusion du monoxyde de carbone et NO expiré) ont été évalués après l'inhalation de e-liquide contenant 11 mg/ml de nicotine ou non. Dans tous les

groupes exposés aux vapeurs de e-liquides, avec ou sans nicotine, la résistance des voies respiratoires est augmentée et leur conductance diminuée : c'est une situation que l'on retrouve lors de la bronchoconstriction. Ceci témoigne d'une diminution de la facilité avec laquelle l'air circule dans les voies respiratoires car plus la résistance augmente, plus la personne éprouvera des difficultés à respirer. De même, plus la conductance diminue, moins la respiration est bonne. S'ajoutent à cela une augmentation du rythme cardiaque et une diminution de la saturation en oxygène dans les groupes fumeurs (qu'ils soient en bonne santé ou non) ainsi qu'une toux d'irritation aigue chez l'intégralité des sujets. Ces résultats prouvent que même lors d'une utilisation aigue, les cigarettes électroniques altèrent la fonction respiratoire.

5.2. Etat inflammatoire des bronches

Le NO et le CO expiré sont deux autres paramètres permettant d'évaluer la fonction respiratoire. Ils ont été mesurés lors d'un essai randomisé réalisé pendant un an (96).

Le NO expiré par un individu est un très bon reflet de l'état inflammatoire de ses voies respiratoires, qu'il soit transitoire comme lors d'une infection ou chronique comme chez les personnes souffrant d'asthme ou de BPCO. En effet, les cellules mobilisées lors de l'inflammation produisent une grande quantité de NO via l'activation de la NO synthase par le facteur de transcription NF-KB et l'inflammasome, deux composants de la réponse pro-inflammatoire. La NO synthase est une enzyme formant du NO à partir de l'arginine et de l'oxygène. Elle existe sous plusieurs isoformes (NOS-1, NOS-2, NOS-3) qui diffèrent par leurs fonctions, leurs caractéristiques biologiques et leur localisation dans l'organisme. L'isoforme qui nous intéresse dans ce contexte est NOS-2, présente uniquement en conditions pathologiques (c'est l'activité de cette NO synthase qui est induite par l'inflammasome). Elle permet la production de NO dans des quantités beaucoup plus importantes que les isoformes constitutives et est surtout exprimée par les cellules de l'épithélium bronchique. Toutefois, si le taux de NO expiré permet d'estimer de façon assez fiable l'état d'inflammation pulmonaire chez un individu lambda, en cas de tabagisme actif, l'interprétation de ces taux peut être plus délicate. En effet, on sait que le fait de fumer provoque un état inflammatoire chronique des bronches. Or, chez les fumeurs, il est possible d'avoir des taux de NO

inférieurs à la norme. Cela s'explique par un rétrocontrôle négatif de la NO synthase : la forte production de NO consécutive à la combustion de la cigarette, entraîne une diminution de son activité enzymatique (94).

Le monoxyde de carbone expiré, quant à lui, est un paramètre permettant d'évaluer la qualité de l'oxygénation du sang. En effet, le CO a une plus grande affinité pour l'hémoglobine que l'oxygène. Si la proportion d'hémoglobine couplée au monoxyde de carbone devient plus importante que celle couplée à l'oxygène, alors le patient se retrouvera en état d'hypoxie (c'est ce qui est responsable du décès des personnes intoxiquées au CO). Chez un fumeur, le taux de CO circulant beaucoup plus important que chez un non-fumeur explique la diminution de la saturation en oxygène et les difficultés respiratoires accrues chez ces personnes.

Lors de l'étude prospective évoquée plus haut, des fumeurs en bonne santé ont été divisés en trois groupes (96) : « e-liquide sans nicotine », « e-liquide à 18 mg/ml de nicotine » et « e-liquide à 24 mg/ml de nicotine ». Les taux de NO et de CO ont été mesurés dans l'air expiré à trois reprises (à 12 semaines, à 24 semaines et à 52 semaines). Chez les personnes ayant remplacé définitivement la cigarette classique par la cigarette électronique, le taux de CO a drastiquement chuté en comparaison aux groupes dont les individus continuent de fumer, ce qui se traduit par une amélioration de la fonction respiratoire (les patients ont déclaré être moins essouffés qu'avant). Le taux de NO ayant été multiplié par 3, on peut en déduire que l'arrêt de la cigarette a eu pour conséquence une levée du rétrocontrôle négatif exercé sur la NO synthase. En revanche, il est compliqué, dans ce contexte de conclure sur l'état inflammatoire des bronches puisque l'étude ne présente pas de valeur de NO expiré chez les individus non-fumeurs. De plus, les résultats ont été obtenus uniquement avec les individus ayant complètement arrêté de fumer grâce à la cigarette électronique : ceux qui ont continué à fumer en parallèle du vapotage n'ont pas vu d'amélioration significative de leur santé pulmonaire. Cela prouve d'une part, que le sevrage tabagique peut permettre, dans une certaine mesure, une amélioration de la fonction respiratoire et d'autre part, que la cigarette électronique utilisée de façon chronique, altère moins la santé pulmonaire.

5.3. Fonction pulmonaire

Flouris et al ont évalué la fonction pulmonaire de deux groupes de quinze personnes a été évaluée. Un groupe de fumeurs, qui a, tour à tour, fumé et vapoté, et un groupe de non-fumeurs ayant respiré les aérosols de e-cigarette et les fumées de cigarette ont effectué une spirométrie (97).

La spirométrie est un test permettant d'évaluer le fonctionnement pulmonaire. Différents paramètres sont mesurés lors de cet examen, dont la capacité vitale (CV) et le volume expiratoire maximal seconde (VEMS). La CV correspond à la somme de trois paramètres : le volume courant qui est le volume moyen d'air inspiré et expiré en situation de repos, le volume de réserve inspiratoire (VRI), c'est-à-dire le volume d'air que l'on peut mobiliser entre la fin d'une inspiration normale et d'une inspiration forcée et le volume de réserve expiratoire (VRE), même volume que le VRI mais lors d'une expiration. La capacité vitale est donc le volume maximal d'air qu'un être humain est capable de mobiliser lors d'une respiration forcée. Le VEMS correspond au volume d'air maximal qu'un sujet peut expirer au cours de la 1ère seconde d'une expiration forcée faisant suite à une inspiration forcée. Le rapport VEMS/CV donne un résultat que l'on appelle le coefficient de Tiffeneau. Chez une personne normale, il est supérieur à 80% (le but étant d'expirer en une seconde une quantité d'air qui se rapproche le plus du volume de la CV qui, pour rappel est la quantité d'air maximale mobilisable par un individu lorsqu'il respire de manière forcée). Enfin, le dernier paramètre pouvant être évalué lors d'une spirométrie est le débit expiratoire maximal (DEM). Il est mesuré à différents stades de la CV (25%, 50% et 75%). C'est un débit indépendant de l'effort.

Lors de l'étude de Flouris et al, les fumeurs/vapoteurs actifs ont effectué trois séances de trente minutes de consommation de cigarette classique/électronique. Les fumeurs/vapoteurs passifs, quant à eux, sont restés pendant une heure dans les salles dans lesquelles les fumeurs ont fumé/vapoté. Chaque séance a été espacée d'une semaine et les spirométries ont été faites une heure après exposition. Le e-liquide utilisé dans cette étude contenait 11mg/mL de nicotine, un mélange de 60% de propylène glycol et de 40% de glycérol et un arôme tabac. Les résultats ont montré que le vapotage, qu'il soit actif ou passif, n'a pas eu d'incidence sur le coefficient de Tiffeneau des participants contrairement au tabagisme actif, qui a entraîné une chute de ce coefficient de presque 8% comparé au groupe contrôle (air ambiant). Comme

pour l'étude précédente, le monoxyde de carbone expiré n'a été augmenté que chez les personnes exposées à la cigarette classique (que ce soit de manière active ou passive).

Malgré ces résultats, attention néanmoins à ne pas conclure à une totale innocuité de la cigarette électronique sur la fonction respiratoire car, chez les souris de l'étude de Larcombe et al, l'exposition aux aérosols d'e-liquides a entraîné une diminution de leur capacité résiduelle fonctionnelle (94). Autrement dit, chez ces souris, une réduction du volume d'air restant dans les poumons est observée à la fin d'une expiration normale, lorsque les muscles expiratoires ne sont pas mobilisés.

En conclusion, l'exposition à des aérosols de cigarette électronique entraîne des conséquences négatives sur la physiologie de l'appareil pulmonaire. Premièrement, le vapotage conduit à l'augmentation de la résistance et à la diminution de la conductance des voies respiratoires aussi bien chez des sujets sains que chez des personnes déjà atteintes d'asthme ou de BPCO et ce de façon nicotine-indépendante (95). Deuxièmement, la consommation de e-liquides a un fort impact sur la clairance mucociliaire. D'un côté, il existe une altération de la fréquence de battement des cellules ciliées et un dysfonctionnement des canaux CFTR ainsi que du transport des ions sodium, conduisent à une mauvaise évacuation du mucus. D'un autre côté, l'irritation des voies respiratoires et l'inflammation chronique qui en résultent, entraînent une production accrue de mucus. Enfin, l'augmentation de la réactivité bronchique et l'altération du parenchyme pulmonaire contribuent à entraver la bonne circulation de l'air et provoquent des difficultés respiratoires chez les sujets atteints. L'ensemble de ces éléments favorisent l'apparition d'asthme ou de BPCO chez les vapoteurs (83). Cependant, contrairement à la cigarette classique, l'e-cigarette n'augmente pas les taux de CO sanguins et ne modifie pas significativement les paramètres spirométriques. Elle reste donc moins néfaste que la cigarette traditionnelle sur les fonctions respiratoires.

6. L' EVALI ou « e-cigarette or vaping product use associated lung injury »

Nous allons à présent aborder d'une pathologie propre à la consommation de cigarette électronique : l'« e-cigarette or vaping product use associated lung injury » (EVALI). Fait intéressant, cette pathologie n'est observée que chez des personnes, consommatrices de produits de vapotages, aucun cas n'ayant été à ce jour décrit chez des fumeurs de cigarettes traditionnelles. Généralement, les patients consultent pour une toux persistante, une dyspnée, des nausées/vomissements, une douleur thoracique, de la fatigue, de la fièvre et parfois une perte de poids inexpliquée, le tout évoluant depuis quelques semaines tout au plus (98). Si ces symptômes évoquent une infection pulmonaire, les résultats des cultures microbiologiques reviennent cependant négatifs et les traitements antibactériens, antiviraux, antiparasitaires et antimycosiques sont inefficaces. En revanche, les patients répondent très bien à la corticothérapie, signe que l'EVALI est une pathologie inflammatoire (91, 92).

Les échantillons de tissus pulmonaires et les liquides de lavages bronchoalvéolaires de ces patients montrent une recrudescence de macrophages remplis de lipides (91, 92). Ces lipides peuvent aussi bien être d'origine exogène (inhalation d'e-liquide) qu'endogène (dysfonctionnement du métabolisme lipidique). On ignore également si ces macrophages sont des marqueurs de la maladie ou s'ils jouent un rôle central dans le processus physiopathologique de l'EVALI.

L'EVALI serait causée par l'acétate de vitamine E, un excipient utilisé pour solubiliser dans les e-liquides le tétrahydrocannabinol (THC), un principe actif dérivé du cannabis, utilisé pour ses propriétés hallucinogènes et classé au niveau international comme stupéfiant. En effet, dans la majorité des cas d'EVALI qui ont été rapportés, les patients vapotaient des e-liquides à base de THC (98–101). Les autres cas peuvent s'expliquer par le fait qu'aux Etats Unis, l'acétate de vitamine E est aussi utilisé comme épaississant dans les e-liquides classiques. De plus, on peut souligner le fait qu'aucun cas de cette pathologie n'a été rapporté en Europe, car l'usage de ce genre de e-liquide y est très fortement contrôlé voire interdit en fonction des pays. L'acétate de vitamine E, produit très gras, serait la source exogène des lipides que l'on retrouve dans les amas de macrophages lipidiques des alvéoles pulmonaires (83).

7. Cigarette électronique et cancers pulmonaires

Entre 85 et 90% des cancers bronchopulmonaires sont liés au tabagisme (102). En effet, au vu du nombre de composés cancérigènes contenus dans la fumée de cigarette, les fumeurs s'exposent à un risque accru de contracter un jour un cancer du poumon. Bien qu'elle reste une alternative plus sûre, la cigarette électronique n'est pas sans danger pour ce qui est du potentiel cancérigène. Plusieurs études montrent ainsi que des substances telles que l'acroléine, les dérivés nitrés de la nicotine et les radicaux libres de l'oxygène, qui peuvent générer des adduits à l'ADN, sont présentes en concentration suffisantes dans les vapeurs d'e-cigarettes pour provoquer des mutations. Si ces mutations surviennent sur des gènes clés du fonctionnement du cycle cellulaire, cela peut aboutir à l'apparition de tumeurs. C'est ce qui a été observé dans un groupe de quarante souris, exposées aux vapeurs d'un e-liquide pendant cinquante-quatre semaines à raison de quatre heures par jour, cinq jours par semaine (103). La composition du e-liquide utilisé était la suivante : 36 mg/mL de nicotine, un mélange 50/50 de propylène glycol et de glycérine végétale et aucun arôme. Un adénocarcinome pulmonaire a été diagnostiqué chez un quart des souris de ce groupe (contre seulement une souris dans le groupe contrôle ayant respiré de l'air filtré). Cette expérience montre que l'exposition chronique aux vapeurs de e-cigarettes a donc multiplié par 4 le nombre d'individus ayant développé un cancer pulmonaire. Cependant, l'ensemble des données sur le potentiel carcinogène des e-liquides et de leurs vapeurs n'ont été mises en évidence qu'in vitro (dans des cultures cellulaires) et in vivo, chez des animaux de laboratoire. Des analyses épidémiologiques sont donc nécessaires pour confirmer ces résultats.

F. Sphère urogénitale

Chez les fumeurs, il est fréquent de retrouver dans les urines, des molécules issues de la métabolisation des composés présents dans la fumée des cigarettes classiques. Parmi ces composés, on peut citer le benzanthracène, le benzopyrène, le 1-hydroxypyrene, l'o-toluidine ou encore la 2-naphthylamine (104). Tous étant reconnus comme étant des cancérigènes avérés : le fait que ces substances restent au contact de la vessie et des voies urinaires des fumeurs en général, représente donc

un facteur de risque. C'est dans ce contexte que Fuller et al ont cherché à savoir si la cigarette électronique augmentait le risque de développer un cancer de la vessie comme son homologue conventionnel (104). Pour cela, la composition des urines de treize vapoteurs en bonne santé et dix non vapoteurs a été analysée par CLHP-SM. Les auteurs ont mis en évidence la présence de deux composés reconnus pour leur potentiel cancérigène au niveau de la vessie, le O-toluidine et la 2-naphthylamine, dans des concentrations 1,5 à 2 fois plus importantes dans les échantillons urinaires des vapoteurs par rapport aux non vapoteurs. Le O-toluidine est une amine aromatique néfaste pour les voies urinaires, que ce soit lors d'une exposition aigue où elle est responsable d'une hématurie ou d'une exposition chronique où elle provoque de nombreux symptômes urinaires (dysurie, vidange vésicale incomplète, pollakiurie...) et des cystites (105). Pour ce qui est des effets génotoxiques et cancérigènes, des adduits de l'ADN ont été détectés dans les tissus vésicaux de patients atteints de cancers de la vessie et l'ensemble des études réalisées montrent que l'O-toluidine augmente de façon dose-dépendante le risque de développer ce type de cancers. Elle a été classée dans le groupe 1, cancérigène avéré pour l'Homme, par le CIRC. La 2-naphthylamine, est, elle aussi une amine aromatique possédant les mêmes caractéristiques génotoxiques et cancérigènes que le O-Toluidine (106).

Le 4-(méthylnitrosoamino) -4-(3-pyridyl) -1-butanol (NNAL) est un autre composé cancérigène détectable dans les urines de vapoteurs (103). C'est un dérivé du NNK évoqué précédemment : étant issu de la nitrosation de la nicotine, sa détection est directement liée à la présence de nicotine dans l'e-liquide. Il a été prouvé à de nombreuses reprises que les composés comme le NNN, le NNK et par extension, le NNAL, altèrent d'une part, les fonctions de réparation de l'ADN, et d'autre part, génèrent des adduits de l'ADN. Or, ces deux phénomènes sont impliqués dans les processus de transformation tumorale. Trois étapes ont été identifiées lors de ce processus : l'initiation, la promotion et la progression tumorale. De façon résumée, lors de l'initiation, une lésion majeure se produit au niveau de l'ADN conduisant à une altération (mutation) de sa séquence génétique. L'accumulation progressive d'altérations moléculaires va conférer aux cellules une capacité accrue à proliférer et à échapper aux signaux apoptotiques (c'est l'étape de promotion). Enfin, cette cellule et ses clones acquièrent les caractéristiques d'une cellule cancéreuse : elles se multiplient de façon anarchique, perdent en partie leur caractère différencié et, après

une étape de prolifération locale, deviennent capables de migrer et d'envahir le reste de l'organisme sous forme de métastases (c'est la progression). Ainsi, au fur et à mesure des divisions cellulaires, les anomalies génétiques s'accumulent, c'est de cette façon que les cellules acquièrent leurs caractéristiques de cellules cancéreuses. Ces mutations conduisent à la transformation tumorale lorsqu'elles surviennent sur des gènes clés, comme les gènes suppresseurs de tumeurs ou les oncogènes. L'initiation de cette transformation tumorale, à la suite d'une exposition à des dérivés de la nicotine, a été mise en évidence *in vitro*, sur des cellules issues de différents organes et notamment la vessie (29). Des cellules humaines vésicales de la lignée UROtsa, prétraitées avec de la nicotine ou du NNK, ont été transfectées avec un plasmide dont l'ADN contient la séquence du gène *supF*, un gène codant pour un ARNt suppresseur de tyrosine chez la bactérie *Escherichia coli* et utilisé comme cible pour les agents mutagènes. Ensuite, ces cellules vésicales transfectées ont été exposées à des facteurs de stress, à savoir des rayons UVC ou du peroxyde d'hydrogène. La fréquence de mutations spontanées au niveau du gène *supF* est trois à quatre fois plus importante dans les groupes de cellules avec nicotine et NNK que dans le groupe contrôle. Il est également important de souligner que la nicotine et les dérivés issus de sa nitrosation induisent une augmentation du nombre de colonies cellulaires se développant dans un laps de temps donné (par rapport au groupe contrôle) et que la proportion de ces colonies qui n'est pas ancrée au gel d'agar sur lequel elles sont cultivées y est plus grande. Autrement dit, la nicotine et le NNK favorisent la multiplication anarchique des cellules et la perte de l'inhibition de contact et de l'adhésion à la matrice. Il convient toutefois de nuancer ces propos : à titre d'exemple, la proportion de NNAL retrouvée dans les urines de vapoteur ne représente que 5% de celle présente dans les urines de fumeurs. De plus, avec un e-liquide sans nicotine, le consommateur ne s'expose pas à ces composés cancérigènes (103).

In fine, la capacité des composés de la cigarette électronique à induire des mutations sur des gènes clés du développement cellulaire et à promouvoir la transformation tumorale a entraîné une hyperplasie vésicale (stade précancéreux) chez 57% des souris de l'étude de Tang et al exposées à la cigarette électronique (96). Ces résultats suggèrent un lien entre exposition à la cigarette électronique et cancer qui nécessite d'être approfondi.

G. Système immunitaire

Ces dernières années, un « nouvel » effet néfaste de la cigarette classique a été mis en avant par plusieurs études : il s'agit de la baisse des défenses immunitaires (107). Au niveau systémique, le tabagisme est responsable d'un déficit immunitaire partiel pouvant favoriser le développement d'allergies et de pathologies auto-immunes. D'un point de vue plus local, c'est-à-dire au niveau des muqueuses nasales ou pulmonaires qui sont au contact direct de la fumée de cigarette, on observe une altération de la réponse immunitaire innée et adaptative. Associée aux autres effets délétères induits par le tabagisme (diminution de la clairance du mucus, inflammation chronique), cette diminution des défenses immunitaires peut amener les fumeurs à contracter des infections bactériennes, virales, parasitaires et/ou mycosiques plus sévères et plus difficiles à traiter qu'une personne en bonne santé. Plusieurs équipes de recherche ont cherché à savoir quel impact pouvait avoir la cigarette électronique sur le système immunitaire.

Hwang et al ont incubé des kératinocytes humains de la lignée HaCaT, souvent utilisés comme modèles de l'épithélium nasal, avec une souche de *Staphylococcus aureus* résistante à la méticilline (MRSA) (108). Ces cellules ont été préalablement divisées en trois groupes et exposées soit à de l'air filtré, soit aux aérosols de deux e-liquides contenant 50% de propylène glycol, 50% de glycérine végétale et de la nicotine, concentrée à 8 mg/ml ou 24 mg/ml. Il a été constaté que le nombre de cellules infectées par le MRSA était plus important de 25% dans le groupe e-liquide avec 24 mg/ml de nicotine que dans le groupe contrôle. En comparant le nombre de cellules MRSA positives des groupes exposés aux e-liquides, on remarque que l'augmentation de la teneur en nicotine corrèle avec l'augmentation du nombre de cellules infectées. Il faut savoir que les cellules provenant des épithéliums nasal et respiratoire possèdent des « pattern recognition receptors » ou PRR, qui sont des récepteurs de l'immunité innée reconnaissant les signaux de danger et permettant le déclenchement de la réponse immunitaire. Elles font donc partie intégrante des défenses de l'organisme contre les agents pathogènes. Ainsi la recrudescence de cellules MRSA positives dans les groupes ayant été au contact des vapeurs de e-liquides peut s'interpréter comme un défaut de mise en place de la réponse immunitaire par les cellules épithéliales. Toujours d'après Hwang et son équipe, des résultats similaires ont été trouvés en incubant des macrophages alvéolaires et des polynucléaires neutrophiles avec ces

mêmes e-liquides (100). Néanmoins, il semblerait que la nicotine ne soit pas la seule responsable de la diminution des défenses immunitaires. L'exposition de l'ensemble de ces cellules immunitaires à de la glycérine végétale et à du propylène glycol pur engendre aussi une augmentation du nombre de cellules infectées au MRSA (bien que cette augmentation soit significativement plus faible que dans les groupes « e-liquide »).

In vivo, des indices de l'altération de la réponse immunitaire consécutive à la consommation de cigarette électronique ont aussi été mis en avant. L'analyse de cellules de l'épithélium nasal prélevées sur des non-fumeurs, des fumeurs et des vapoteurs a montré une diminution des taux des ARN messagers codant pour de nombreuses protéines impliquées dans la réponse immunitaire chez les fumeurs et les vapoteurs (109). Il a été établi, dans cette même étude que cette altération est la conséquence de la réduction de l'activité des gènes dont sont issus ces ARN messagers.

L'utilisation de la cigarette électronique semble donc diminuer les défenses de l'organisme en altérant les acteurs de l'immunité innée avec un rôle prépondérant bien que non exclusif de la nicotine. « L'immunodéficience partielle acquise » par le vapotage n'est toutefois pas le seul mécanisme de la sévérité accrue des infections observées chez les utilisateurs de e-cigarette. En effet, cette dernière augmente également la virulence des bactéries comme le MRSA (100) : l'exposition aux aérosols de e-liquides induisent une production accrue de biofilm, un des mécanismes de défense des bactéries face aux agents antibactériens. Elle favorise aussi l'adhérence bactérienne aux kératinocytes et donc le processus d'infection. Ce phénomène est aussi observé avec les pneumocoques après une exposition à des liquides contenant ou non de la nicotine (110).

CIGARETTE ELECTRONIQUE ET COVID-19

I- Lien entre vapotage et infection au SARS-CoV-2

La fin de l'année 2019 marque le début de la pandémie de CoronaVirus Disease 2019 (COVID-19), une maladie respiratoire causée par le SARS-CoV-2, un virus appartenant à la famille des coronavirus (111). Cette infection se manifeste de manière très semblable à la grippe : fatigue, fièvre, toux, maux de gorge, difficultés respiratoires... En revanche, il n'est pas rare d'observer des patients positifs à la COVID-19 souffrant d'anosmie ou d'agueusie (termes désignant respectivement la perte de l'odorat et du goût) (112). La contamination se fait majoritairement par voie aérienne mais elle est également possible par contact avec des gouttelettes de salive contenant le virus. Le SARS-CoV-2 se transmet plus facilement que le virus de la grippe et provoque jusqu'à 3 fois plus de formes sévères que ce dernier (103, 104). Ces formes sévères nécessitent généralement la mise en place d'une oxygénothérapie et peuvent également provoquer des symptômes cardiovasculaires tels que des palpitations ou des douleurs thoraciques. Les personnes âgées de plus de 75 ans, les personnes immunodéprimées et celles atteintes de pathologies chroniques comme le diabète, l'insuffisance cardiaque ou rénale, l'asthme ou la BPCO, sont les populations les plus à risques de développer une forme grave de la COVID-19.

Au vu des effets de la cigarette, traditionnelle ou électronique, sur les poumons d'une part, et d'autre part de l'atteinte respiratoire représentant la forme clinique prédominante de la COVID-19, la question d'un potentiel lien entre tabagisme/vapotage et physiopathologie de l'infection au SARS-CoV-2 s'est naturellement posée. A ce jour, aucun consensus n'a été trouvé.

D'un côté, certaines études affirment qu'il n'y a pas de risque accru chez les vapoteurs de contracter la COVID-19 par rapport à la population générale. C'est le cas par exemple des travaux de Jose et al (113). Ils ont recueilli parmi les personnes hospitalisées entre le 15 septembre 2019 et le 30 novembre 2020 dans la clinique de Mayo (Etats-Unis), celles associant le statut de vapotage et une potentielle infection à la COVID-19. Sur les 69 264 patients concernés, 1888 étaient des vapoteurs et 102

d'entre eux ont été infectés par le SARS-CoV-2. L'analyse statistique réalisée n'a pas établi de lien significatif entre développement de la COVID-19 et vapotage.

D'un autre côté, d'autres travaux de recherche ont mis en avant plusieurs arguments suggèrent que l'usage de la cigarette électronique serait un facteur favorisant une infection au SARS-CoV-2. Ainsi, l'enzyme de conversion de l'angiotensine II (ACE2) a récemment été identifiée comme étant la porte d'entrée du SARS-CoV-2 dans les cellules pulmonaires (114). Or, une régulation positive de l'ACE2 a été observée à la fois chez les souris et chez l'homme suite à une exposition à de la nicotine (82, 104-107). Physiologiquement, l'ACE2, présente dans les poumons, le cœur, les artères et les reins, transforme, par clivage, l'angiotensine II en angiotensine 1-7, une protéine ayant une action vasodilatatrice (115). Du fait de ces effets opposés à l'ACE1, l'ACE-2 régule négativement le système rénine-angiotensine-aldostérone (SRAA) et permet une diminution de la pression artérielle. D'après Masso-Silva et al, l'exposition de souris à des e-liquides non aromatisés et contenant de la nicotine à 24 mg/mL, une heure par jour, pendant un à six mois, conduit à une expression modérément mais significativement accrue d'ACE2 au niveau des poumons (116). Des résultats similaires ont été retrouvés *in vitro*, en quantifiant la présence de la protéine ACE2 par immunofluorescence et en mesurant son expression génique par PCR quantitative après exposition de cellules de l'épithélium bronchique à des e-liquides nicotinéés ou non (117). Là aussi, l'expression du gène ACE2 est significativement accrue suggèrent fortement que la protéine ACE2 est présente en quantité plus importante dans les cellules exposées aux e-liquides que celles qui ne l'ont pas été. Toutefois, si l'on se réfère aux données obtenues *in vivo* par Lee et son équipe suite à l'analyse des taux d'ARN messagers, cette augmentation de l'expression d'ACE2 est retrouvée uniquement chez les fumeurs et pas chez les vapoteurs (118). Pour ce qui est du mécanisme responsable de la régulation positive d'ACE2, la nicotine semble y jouer un rôle important. D'après Wang et al, l'exposition de souris normales ou Wild Type (WT) à des e-liquides nicotinéés mène à une sur-expression de l'enzyme ACE2 à la surface des cellules tandis que, chez des souris déficientes ou knock-out (KO) pour le récepteur nicotinique à l'acétylcholine $\alpha 7$ (nAChR $\alpha 7$), l'expression de cette enzyme est diminuée (89).

D'un point de vue purement clinique, les données récoltées jusqu'à maintenant tendraient à suggérer que le vapotage favorise le développement d'une forme fortement symptomatique de la maladie. Une enquête menée sur 1734 personnes testées positives à la COVID-19 entre le 1^{er} mars 2020 et le 28 février 2021 à la clinique de Mayo (Etats Unis) a révélé que les vapoteurs souffraient généralement d'une symptomatologie plus prononcée que les non vapoteurs (119). En effet, les 289 consommateurs de cigarettes électroniques ont été significativement plus nombreux que les 1445 non vapoteurs à rapporter avoir souffert des symptômes suivants : douleur ou sensation de compression thoracique, myalgies, frissons, anosmie et dysgueusie et céphalées (voir tableau ci-dessous).

Symptômes	Vapoteurs (N = 289)	Non vapoteurs (N = 1445)
Douleur/sensation compression thoracique	47 (soit 16,3%)	150 (soit 10,4%)
Myalgies	114 (soit 39,4%)	459 (soit 31,8%)
Frissons	72 (soit 24,9%)	269 (soit 18,6%)
Anosmie/dysgueusie	108 (soit 37,4%)	434 (soit 30,0%)
Céphalées	141 (soit 48,8%)	599 (soit 41,5%)

Tableau 1 : Récapitulatif des résultats obtenus par McFadden et al (115). Les différences observées entre les vapoteurs et les non-vapoteurs sont toutes statistiquement significatives ($p < 0,05$).

Un nombre accru de syndrome inflammatoire multi systémique, complication rare et sévère de la COVID-19 a également été constaté chez des adolescents vapoteurs (120). Bien que le plus souvent, un enfant ou un adolescent infecté par le SARS-CoV-2 présente peu ou pas de symptômes, dans certains cas sont observés une forte fièvre, une altération très marquée de l'état général, des troubles du rythme cardiaque (hypotension, pouls filant), une polypnée et une détresse respiratoire. Les résultats de l'étude de Brar et al montrent que les adolescents vapoteurs sont plus touchés que les autres par ce syndrome, à cause de l'altération du système immunitaire et de la régulation positive d'ACE2 par l'usage de la cigarette électronique (120).

II- Profil des utilisateurs de la cigarette électronique en France pendant le confinement de mars 2020 et 3 ans plus tard

La pandémie de COVID-19 et toutes les mesures gouvernementales qu'elle a engendrées ont perturbé de bien des façons le quotidien de dizaines de millions de gens pendant plusieurs mois. Cette période très particulière a été une source de stress pour une grande part de la population mais elle a aussi été une « bonne » occasion de remettre en question certaines de nos habitudes de vie. Au cours de cette pandémie, j'ai observé, chez les fumeurs de mon entourage, des changements dans leurs habitudes de consommation. Certains fumaient plus qu'à l'accoutumée en raison du stress et de l'ennui et d'autres avaient réduit leur consommation, que ce soit à cause des restrictions de déplacement, pour des raisons économiques ou par peur d'être plus vulnérable vis-à-vis d'une infection par le SARS-CoV-2. Je me suis alors demandé si l'utilisation de la cigarette électronique avait, elle aussi, été impactée d'une manière ou d'une autre par cette crise sanitaire et si le profil tabagique des vapoteurs est toujours similaire à ce qu'il était avant la pandémie. Ce questionnement a été le point de départ de mon projet de thèse et afin d'y trouver des éléments de réponse, j'ai élaboré avec l'aide de ma directrice de thèse madame Fallone et du docteur Boyes le questionnaire de l'annexe 1. Dans cette partie, je vais vous détailler les résultats obtenus.

A. Matériel et méthode

1. Population étudiée

Un questionnaire sur l'usage de la cigarette électronique a été proposé aux patients de deux pharmacies d'une ville thermale des Pyrénées Orientales, Amélie-les-bains ainsi qu'à des étudiants de 6^{ème} année bientôt diplômés de la faculté de pharmacie de Toulouse (promotion 2020-2021). Dans tous les cas, les personnes étaient âgées de 18 à 85 ans et il n'y avait aucun critère d'exclusion.

2. Recueil des données

Le recueil des données a été effectué grâce au questionnaire de l'annexe, rempli de façon anonyme par les répondants. Les trois premières questions ont été posées à tous les participants et ont permis de déterminer leur âge, leur sexe et leur statut tabagique. Ils se sont ensuite vu proposer une série de question adaptée à ce statut tabagique : les fumeurs ont répondu à quinze questions, les ex-fumeurs à quatorze questions, et les non-fumeurs à cinq questions. Les participants ont été préalablement informés de l'utilisation des données collectées et étaient libres d'y répondre ou non. Le questionnaire a été proposé entre le 02 juillet 2022 et le 23 septembre 2022.

3. Critères de jugement

Le critère de jugement principal était le profil tabagique des utilisateurs de cigarette électronique. Plusieurs critères de jugement secondaires ont été étudiés : fréquence d'utilisation de la cigarette électronique, motivations d'utilisation, types de liquides utilisés et influence de la crise de la COVID-19 son usage.

4. Analyse des données récoltées

L'analyse descriptive des données obtenues a été faite au moyen du logiciel Excel et l'analyse statistique a été effectuée avec le logiciel BioStatTGV. Les tests Chi² et de Fisher ont été réalisés pour la comparaison des variables qualitatives nominales avec un seuil de significativité fixé à 0,05.

B. Résultats

235 personnes ont répondu au questionnaire. Sur l'ensemble de ces réponses, 12 ont été exclues, soit parce qu'elles étaient incohérentes soit parce qu'elles étaient incomplètes. L'analyse des résultats a donc été réalisée sur un total de 223 questionnaires.

1. Profil général des participants

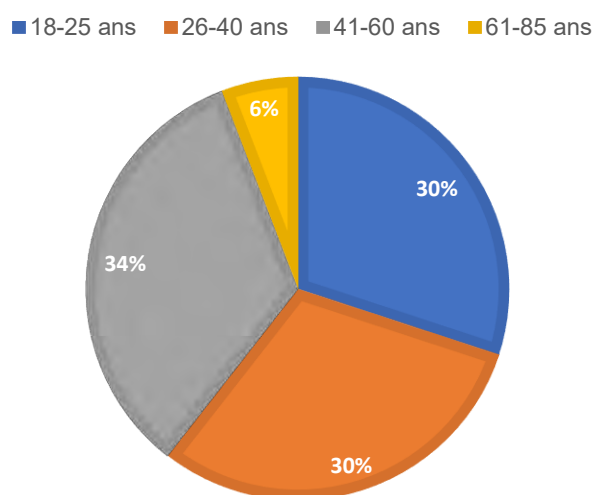


Figure 1 : Répartition des participants en fonction de leur âge

L'âge moyen des participants était de 37 ans et 8 mois. On remarque que la répartition est équilibrée entre les tranches d'âge 18-25 ans, 26-40 ans et 41-60 ans, représentant respectivement 30%, 30% et 34% de notre effectif total (Figure 1). Notre échantillon est donc bien représentatif de la population générale. Par ailleurs, seulement 13 (6%) personnes âgées de 61 à 85 ans ont souhaité répondre à cette enquête. Cela peut s'expliquer par le fait que la cigarette électronique est un dispositif récent, cette tranche d'âge n'a pris l'habitude de vapoter.

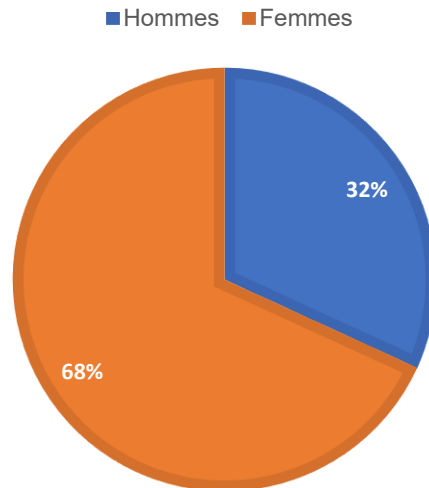


Figure 2 : Répartition des participants en fonction de leur sexe

71 hommes et 152 femmes (respectivement 32% et 68% de l'effectif total) ont répondu à ce questionnaire indiquant un sex ratio était de 0,47 (Figure 2).

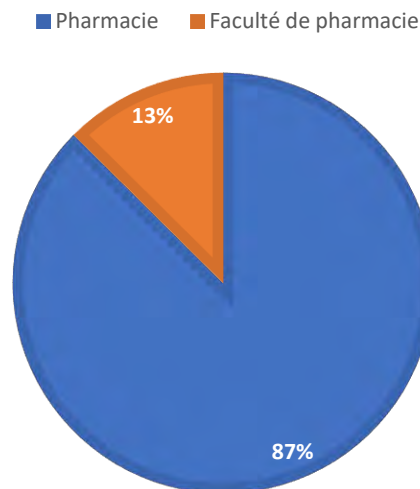


Figure 3 : Répartition des participants en fonction de leur origine (faculté de pharmacie ou officine)

Parmi les participants, 195 (87%) sont issus de la population fréquentant les pharmacies d'Amélie-les-bains et 28 (13%) viennent de la promotion 2020-2021 de la faculté de pharmacie de Toulouse (Figure 3).

2. Profil tabagique des participants

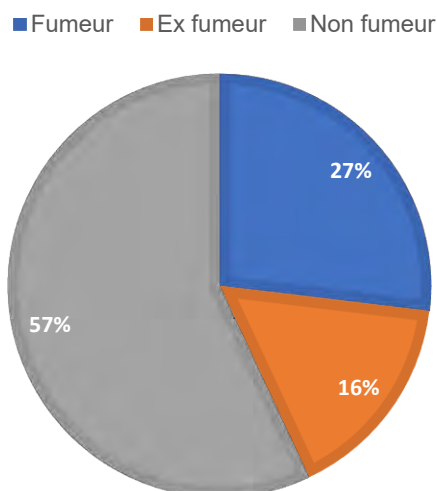


Figure 4 : Répartition des participants en fonction de leur profil tabagique

Sur les 223 répondants, 60 (27%) sont fumeurs, 36 (16%) sont ex-fumeurs et 127 (57%) sont non-fumeurs (Figure 4).

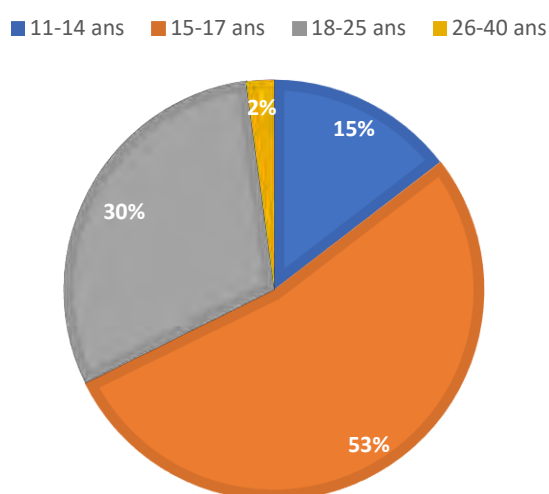


Figure 5 : Répartition des participants fumeurs et ex-fumeurs en fonction de leur âge d'entrée dans le tabagisme

L'âge moyen d'entrée dans le tabagisme est de 17 ans et 6 mois. Plus de deux tiers (68%) des 93 participants fumeurs/ex-fumeurs ont commencé à fumer avant leur 18 ans (Figure 5). Or, légalement, en France, la vente de tabac est interdite aux mineurs. Ces résultats montrent donc que la législation ne suffit pas à contrôler la consommation de tabac par la population.

100% des fumeurs et ex-fumeurs de l'enquête sont entrés dans le tabagisme via la cigarette traditionnelle.

Le nombre moyen de cigarettes classiques consommé quotidiennement chez les fumeurs et ex-fumeurs est de 10,6 cigarettes.

3. Tentatives d'arrêt

Sur les 60 fumeurs ayant répondu à l'enquête, 46 (76,7%) ont fait au moins une tentative d'arrêt dans leur vie.

Lors de leur dernière tentative d'arrêt, 50% des 82 fumeurs/non-fumeurs n'ont utilisé aucun traitement nicotinique de substitution (TNS) et ont voulu arrêter par la volonté seule. Pour ce faire, 21 d'entre eux (25,6%) ont utilisé la cigarette électronique, 1 (1,2%) a testé une technique alternative (hypnose, phytothérapie, gemmothérapie) et 11 (13,4%) ont utilisé plusieurs techniques de substitution en simultané. Parmi ces 11 personnes, 7 ont utilisé la cigarette électronique comme outil de sevrage.

A noter que les TNS comme les gommes à mâcher, les sprays sublinguaux et les pastilles à sucer sont toujours associés à d'autres outils de sevrage par les fumeurs/ex-fumeurs.

4. Profil tabagique des vapoteurs

78 (35%) des participants ont déjà utilisé au moins une fois dans leur vie la cigarette électronique. Parmi ces 78 personnes, 16 (20,5%) ont adopté la cigarette électronique quotidiennement (tableau 2), 15 (19,2%) l'utilisent au moins une fois par mois (tableau 3) et 47 (60,3%) l'ont juste testé une fois (tableau 4).

Tableau 2 : Profil tabagique des vapoteurs quotidiens

Fumeurs	11 (68,8%)
Ex-fumeurs	5 (31,3%)
Non-fumeurs	0 (0%)

Tableau 3 : Profil tabagique des vapoteurs occasionnels

Fumeurs	11 (73,3%)
Ex-fumeurs	2 (13,3%)
Non-fumeurs	2 (13,3%)

Tableau 4 : Profil tabagique des personnes ayant testé une seule fois la cigarette électronique

Fumeurs	16 (34,0%)
Ex-fumeurs	2 (4,3%)
Non-fumeurs	29 (61,7%)

Tableau 5 : Profil tabagique des non-vapoteurs

Fumeurs	22 (15,2%)
Ex-fumeurs	27 (18,6%)
Non-fumeurs	96 (66,2%)

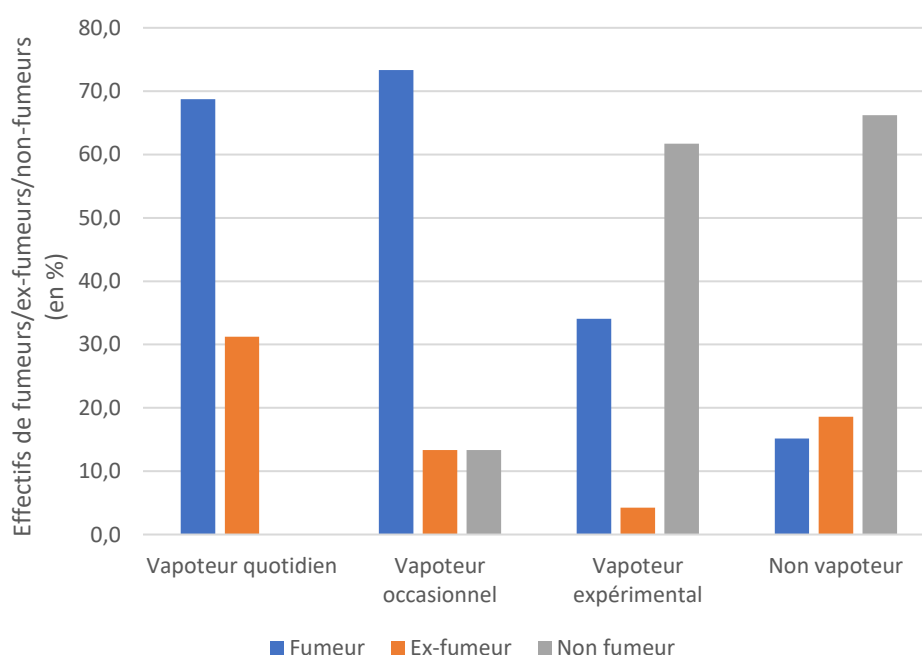


Figure 6 : Impact du statut tabagique sur la fréquence d'utilisation de la cigarette électronique

Ces résultats révèlent que le choix d'utiliser ou non la cigarette électronique est très dépendant du statut tabagique : en effet, statistiquement, il y a plus de vapoteurs (quotidiens et occasionnels) chez les fumeurs/ex fumeurs que chez les non-fumeurs ($p < 0.05$).

De plus, et de façon surprenante, ces résultats permettent de voir que, dans la population interrogée, il y a significativement plus de non-fumeurs ayant expérimenté au moins une fois dans leur vie la cigarette électronique par rapport aux fumeurs ou ex-fumeurs ($p < 0.05$).

Le baromètre de santé publique France sur l'usage de la cigarette électronique, le tabagisme et les opinions des 18-75 ans en 2017 nous donne deux explications au fait que la fréquence d'utilisation de la cigarette électronique soit dépendant du statut tabagique (121). Selon les résultats obtenus lors de cette enquête, 80,4% des fumeurs vapoteurs déclarent que la cigarette électronique les aide/a aidé à réduire leur consommation de cigarettes traditionnelles. Elle est donc plus perçue comme un outil de sevrage par la population que comme un moyen de consommer de la nicotine. De plus, la cigarette électronique est perçue comme plus nocive que la cigarette classique par 11,3% des participants et ce chiffre est en augmentation de 5,1 points par rapport à 2014. Ces deux éléments expliquent que seuls les fumeurs et les ex-fumeurs sont des vapoteurs quotidiens et occasionnels. En revanche, au vu de la méfiance grandissante de la population vis-à-vis de la cigarette électronique, il est étonnant de constater qu'il y ait plus de non-fumeurs ayant expérimenté au moins une fois dans leur vie la cigarette électronique par rapport aux fumeurs ou ex-fumeurs.

5. Causes expliquant que les non-fumeurs n'ont pas poursuivi le vapotage

Comme l'ont montré nos résultats, 29 personnes « non-fumeurs » ont expérimenté l'e-cigarette. Trois raisons ont été citées par ces personnes pour expliquer qu'elles n'ont pas donné suite à cette expérience :

- 16 (55,2%) ne voyaient pas d'intérêt à poursuivre le vapotage, ils ont essayé par simple curiosité
- 8 (27,6%) ont été effrayés par l'absence de recul sur le dispositif et notamment sa potentielle toxicité

- 5 (17,2%) ont associé cela à une expérience désagréable (mauvais goût, mauvaise odeur, irritation de la gorge...)

6. Causes de l'arrêt de la cigarette électronique chez les fumeurs/ex-fumeurs

Les raisons ayant poussé les 18 fumeurs/ex-fumeurs à stopper la cigarette électronique sont un peu différentes des raisons avancées par les non-fumeurs :

- 6 trouvent que le vapotage ne ressemble pas du tout au fait de fumer (33,3%)
- 5 ont mis l'accent sur le fait que ce n'est, selon eux, pas un moyen de sevrage tabagique efficace (27,8%)
- 4 ont trouvé que le vapotage était une expérience désagréable (mauvais goût, mauvaise odeur, irritation de la gorge...) (22,2%)
- 2 regrettent un manque de praticité du dispositif en lui-même (encombrant, nécessite d'être rechargé en liquide, batterie à recharger...) (11,1%)
- 1 a essayé par curiosité (5,6%)

Il y a statistiquement plus de non-fumeurs ayant expérimenté la cigarette électronique par simple curiosité que de fumeurs/ex-fumeurs ($p < 0,05$). En revanche, il n'existe pas de différence significative entre le nombre de non-fumeurs et le nombre de fumeurs/ex-fumeurs ayant trouvé que l'utilisation de la cigarette électronique était une expérience sensorielle désagréable ($p = 0.72$).

7. Raisons expliquant la poursuite de l'utilisation de la e-cigarette

Les 31 participants vapoteurs (quotidiens ou occasionnels) ont justifié leur utilisation de la cigarette électronique pour les raisons suivantes :

- 17 voient en l'e-cigarette le moyen de se sevrer de la cigarette classique (54,8%)
- 9 prennent plaisir à vapoter (29,9%)
- 3 trouvent que le vapotage a moins d'effets indésirables que le fait de fumer (9,7%)

- 2 ont délaissé la cigarette classique au profit de l'électronique pour des raisons économiques (6,5%)

8. Dosage en nicotine des liquides utilisés

17 vapoteurs (54,8%) utilisent des liquides faiblement dosés en nicotine (0 à 3 mg/ml), 13 (41,9%) en consomment des moyennement dosés en nicotine (6 à 12 mg/ml) et 1 seul vapoteur (3,2%) utilise des liquides fortement dosés en nicotine (16 à 20 mg/ml).

9. Tabagisme et vapotage

Concernant la double utilisation de la cigarette classique et de son homologue électronique, 18 fumeurs (81,8%) ont réduit leur consommation de cigarettes classiques et 4 (31,8%) consomment autant de cigarettes classiques qu'avant. Les 7 ex-fumeurs/vapoteurs et les 2 non-fumeurs/vapoteurs qui utilisent exclusivement la cigarette électronique n'ont pas été inclus dans les pourcentages ci-dessus.

10. Tabagisme, vapotage et COVID-19

Au cours de l'enquête, il a été demandé aux ex-fumeurs d'indiquer la date de leur sevrage définitif. Il en résulte que, parmi les 7 ex-fumeurs et vapoteurs, 1 seul d'entre eux a définitivement remplacé la cigarette classique contre la cigarette électronique (en usage quotidien) lors du confinement de mars 2020 lié à la pandémie de COVID-19. Pour ce qui est des 22 fumeurs/vapoteurs, la consommation de cigarette électronique/cigarette classique pendant le confinement s'est répartie de la façon suivante :

- 13 (59,1%) n'ont rien changé à leur consommation de cigarette, qu'elle soit électronique ou classique
- 2 (9,1%) ont remplacé la cigarette classique contre l'électronique (changement temporaire)
- 7 (31,8%) ont diminué la cigarette classique au profit de l'e-cigarette

Les 2 personnes ayant arrêté la cigarette traditionnelle pour la cigarette électronique durant cette période ont par la suite repris la cigarette classique.

Si on compare la consommation pendant et après le confinement :

- L'ex-fumeur a diminué sa consommation de cigarettes classiques au profit de l'électronique durant le confinement et a par la suite totalement arrêté.
- 7 fumeurs ont diminué la cigarette classique au profit de l'électronique pendant le confinement et ont gardé cette habitude par la suite
- 1 (4,5%) fumeur a arrêté durant le confinement et a repris une consommation de cigarette classique égale à sa consommation avant vapotage
- 1 (4,5%) fumeur a arrêté durant le confinement et a repris une consommation de cigarette classique inférieure à celle qu'il avait avant de vapoter
- 13 fumeurs n'ont rien changé à leur consommation de cigarette classique : 10 (76,9%) consomment moins de cigarettes classiques qu'avant de se mettre au vapotage et 3 (23,1%) en consomment autant qu'avant de se mettre au vapotage

C. Discussion

En 2021, en France, 31,9% des personnes de 15 à 75 ans étaient fumeuses (quotidienne ou occasionnelle) (122). Ce chiffre, en baisse constante depuis plusieurs années, semble reparti à la hausse avec la crise de la COVID-19 : en 2019, 30,4% des adultes étaient fumeurs, soit 1,5 point de plus en deux ans (123). Notre enquête, menée sur un échantillon très restreint par rapport aux sondages de Paquereau et al mais représentatif de la population générale semble, quant à elle, montrer une tendance à la baisse de la prévalence du tabagisme (122 et 123). Il serait intéressant de voir dans les années qui viennent si la soudaine augmentation du nombre de fumeur est due à la situation exceptionnelle engendrée par la crise sanitaire de la COVID-19 et si la diminution observée jusqu'alors reprend ou non. Le nombre moyen de cigarettes consommées par jour tendrait à diminuer, lui aussi, d'années en années (12,5 cigarettes consommées par jour en 2019 contre 10,6 aujourd'hui) (113).

En 2021, 38,7% des 18 à 75 ans s'étaient essayés au vapotage (2). A l'heure actuelle, il semblerait que cette proportion de testeurs soit à la baisse mais la taille de

notre échantillon ne permet pas de conclure de façon certaine sur cette tendance. En revanche, le statut tabagique est toujours étroitement lié au choix d'utiliser la cigarette électronique : les vapoteurs sont dans l'écrasante majorité des fumeurs ou des ex-fumeurs. De plus, la cigarette électronique ne constitue toujours pas une porte d'entrée sur le tabagisme (en tout cas, chez les personnes adultes ou jeunes adultes qui étaient la cible du questionnaire présenté ci-dessus) : tous les fumeurs interrogés ont commencé en fumant des cigarettes classiques et les non-fumeurs ayant testé la cigarette électronique n'ont, dans leur grande majorité, pas renouvelé l'expérience. Ce point reste soumis à débat, car si pour l'heure, les chiffres abondent dans ce sens, l'arrivée sur le marché des puff cigarettes, une nouvelle forme de e-cigarette à usage unique associée à des saveurs sucrées et fruitées, pourrait bien finir par changer ce constat auprès des adolescents.

Parlons maintenant de l'impact de la crise COVID sur les habitudes de consommation des cigarettes, aussi bien classique qu'électronique. D'après une étude américaine portant sur 366 fumeurs/vapoteurs, 41,4% n'ont rien changé à leurs habitudes, 28,3 % ont diminué leur consommation de cigarette classique/électronique et 30,3% l'ont augmentée (124). Toujours aux Etats Unis, en Août 2020, sur 1024 adultes, 45% ont gardé le même rythme de consommation, 26% l'ont diminué et 33% l'ont augmenté (125). En France, la part des personnes n'ayant pas modifié leurs habitudes de consommation représentait plus de la moitié de l'échantillon. De plus, aucun fumeur/vapoteur n'a déclaré avoir augmenté sa consommation de cigarette classique. Cette différence peut s'expliquer par la taille de l'échantillon étudié : l'étude américaine a ciblé exclusivement des fumeurs/vapoteurs là où, dans notre échantillon, il n'y avait qu'une petite proportion des 223 personnes répondantes qui correspondait à ce profil. Pour ce qui est de la diminution de la consommation de la cigarette classique, nos résultats semblent corrélés avec de ce qui a été observé chez nos voisins d'outre Atlantique.

Concernant les raisons des modifications de consommation de tabac, nous n'avons pas obtenu suffisamment de réponses pour avancer des explications claires et précises. Néanmoins, en se référant à différents articles, on remarque assez rapidement que les justifications données sont les mêmes quel que soit le pays où l'enquête a été menée. Ainsi, la raison principale donnée par les personnes ayant essayé d'arrêter la cigarette, qu'elle soit classique ou électronique, est que le tabagisme/ le vapotage sont des facteurs de risque augmentant la probabilité de

contracter la COVID-19 (114, 116) . Sur les 366 adultes américains interrogés dans le sondage présenté précédemment, plus de 20% ont arrêté l'un ou l'autre de peur d'être infectés par le SARS-CoV-2. Fin 2020, sur 1251 adolescents américains de 13 à 17 ans participant à une enquête en ligne, 68,34% (soit plus des 2/3 de l'échantillon) pensaient que le vapotage augmentait le risque d'avoir la COVID-19 (115). Cette tendance a aussi été observée au Pays-Bas peu de temps après la fin du premier confinement où 14,1% de fumeurs ont entamé un processus de sevrage par peur de développer cette infection (127). Enfin, une étude turque montre une augmentation significative du taux de patients sevrés entre 2019 et 2020 (passage de 23,7% à 31,1% de personnes ayant arrêté la cigarette) (128).

Les personnes ayant augmenté leur consommation de cigarette classique ont justifié leur comportement par le stress engendré par la situation de crise, l'ennui et le manque d'activité liés au confinement (114). Ainsi, près de la moitié (45,2%) des 1097 adultes polonais questionnés en 2020 dans une étude ont augmenté leur consommation de tabac durant cette période, en réponse au stress qu'ils subissaient. Même justification du côté des 33% d'américains ayant indiqué une consommation de cigarette classique supérieure comparé à avant la crise sanitaire (115).

CONCLUSION

Dès le début de sa commercialisation, l'argument de vente phare de la cigarette électronique prônait un dispositif permettant de consommer de la nicotine sans effets indésirables sur la santé. Cette allégation s'est appuyée d'une part sur la toxicité bien établie et largement démontrée de la cigarette traditionnelle et d'autre part sur l'absence de preuves d'un quelconque danger de l'e-cigarette. Une vingtaine d'années après sa mise sur le marché et quelques milliers d'études plus tard, il est possible d'affirmer que non, le vapotage n'est pas sans danger. Comme présenté dans cette thèse, les e-liquides contiennent, avant même d'être vaporisés, plusieurs substances nocives pour l'organisme comme le benzène ou le toluène. De plus, le processus de chauffage nécessaire à la vaporisation de ces liquides entraîne la formation de composés comme les dérivés carbonylés (acroléine, formaldéhyde, acétaldéhyde) irritants pour les muqueuses et reconnus comme étant des cancérigènes potentiels voire avérés. Le contact permanent des e-liquides avec les éléments métalliques de la cigarette surexpose son utilisateur à plusieurs métaux lourds. Le vapotage engendre un stress oxydant via une production excessive de radicaux libres de l'oxygène que l'organisme ne peut pas prendre en charge et causant des dommages à l'ADN. Par ailleurs, si les e-liquides sont nicotinés, le consommateur va également être exposé aux composés issus de la nitrosation de la nicotine, qui eux aussi, peuvent être impliqués dans le développement de cancers. En plus de la toxicité connue des composants des liquides de vapotage et de leurs aérosols, nombreux sont les travaux de recherche ayant mis en avant leurs conséquences sur les organismes vivants. Ils sont cytotoxiques, engendrent des mutations par altération de l'ADN et des systèmes de réparation. En fonction des organes touchés, les conséquences sont diverses : on peut observer, entre autres, des dysfonctionnements de l'endothélium vasculaire pouvant conduire à des infarctus du myocarde ou des accidents vasculaires cérébraux, le développement du syndrome des yeux secs, d'une surdité, une aggravation d'asthme ou de BPCO et le développement de tumeurs. Plus récemment, il a été pointé du doigt que la cigarette électronique serait un facteur favorisant les infections au SARS-CoV-2 et le développement de formes graves de la COVID-19. Néanmoins, compte tenu de la moindre toxicité de la e-cigarette par rapport à la cigarette classique, les éléments qui viennent d'être énoncés ne deviennent

problématiques que si la cigarette électronique est utilisée par un non-fumeur. Comme nous l'avons vu, les cigarettes classiques contiennent des milliers de composés cancérigènes, reprotoxiques, génotoxiques auxquels s'exposent les fumeurs et ce dans des concentrations bien plus importantes que dans la cigarette électronique. De plus, les preuves en faveur de la nocivité de l'e-cigarette ont majoritairement été mises en évidence dans des études réalisées sur des cellules humaines in vitro ou sur des modèles murins et les conditions expérimentales (dosage des liquides en nicotine utilisés versus dosages autorisés à la vente, topographie des bouffées...), bien qu'essayant de reproduire les usages des vapoteurs, ne permettent pas de conclure de façon ferme et définitive à ce jour. S'il est totalement faux de dire que la cigarette électronique est sans danger et qu'elle peut devenir un véritable problème de santé publique si elle favorise l'entrée dans le tabagisme, elle est un outil de réduction des risques pour les fumeurs car elle leur offre une alternative de consommation de la nicotine plus sûre (voire, in fine, un moyen de se sevrer complètement). A l'heure actuelle, on peut dire que c'est de cette manière qu'elle est utilisée par le grand public : parmi les vapoteurs, on retrouve des fumeurs et des ex-fumeurs. Les non-fumeurs, eux, certes se laissent tenter par l'expérimentation, mais dans la grande majorité des cas, ne poursuivent pas sur la voie du tabagisme. Un des problèmes qui pourrait cependant être soulevé est la tentative par l'industrie du tabac d'attirer les adolescents et les jeunes adultes, par l'entremise de puff cigarettes par exemple, vers une addiction aux produits du tabac. En effet, le tabagisme des collégiens n'a jamais été aussi bas (en classe de troisième : deux fois moins d'expérimentations et quatre fois moins d'usage quotidien en 2021 par rapport à 2010 (129). A 17 ans, l'usage du tabac ainsi que celui de l'e-cigarette sont en baisse (130).

En résumé, même si la crise sanitaire et le confinement liés à la COVID-19 n'ont pas fondamentalement changé les habitudes de consommation de tabac et de cigarette électronique, ils ont tout de même eu un impact, que l'on peut qualifier à la fois de positif et négatif. D'une part, l'idée, partiellement prouvée, que le tabagisme et le vapotage puissent augmenter le risque de contracter une infection au SARS-CoV-2, a permis à certains consommateurs de cigarette classique/électronique à diminuer leur consommation (ou en tout cas, à remplacer la cigarette classique par une alternative moins nocive). D'autre part, le stress et le manque d'activité qui ont découlé du confinement ont poussé une partie des fumeurs/des vapoteurs à augmenter leur usage des produits du tabac et du vapotage.

BIBLIOGRAPHIE

1. Article - Bulletin épidémiologique hebdomadaire [Internet]. [cité 9 sept 2023]. Disponible sur: http://beh.santepubliquefrance.fr/beh/2022/26/2022_26_1.html
2. Statista Infographies [Internet]. 2023 [cité 28 mai 2023]. Infographie: Tabagisme : quelles tendances ? Disponible sur: <https://fr.statista.com/infographie/30103/evolution-de-la-proportion-de-fumeurs-dans-une-selection-de-pays>
3. HCSP. Avis relatif aux bénéfiques-risques de la cigarette électronique [Internet]. Rapport de l'HCSP. Paris: Haut Conseil de la Santé Publique; 2021 nov [cité 22 mars 2022]. Disponible sur: <https://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=1138>
4. Titre Ier : Lutte contre le tabagisme (Articles L3511-1 à L3515-7) - Légifrance [Internet]. [cité 17 mars 2022]. Disponible sur: https://www.legifrance.gouv.fr/codes/section_lc/LEGITEXT000006072665/LEGISCTA000006155126/#LEGISCTA000006155126
5. Kuhm C, Schuurmans MM. Fiche d'information à l'intention des médecins - Fiche n° 6: Cigarette électronique. Prim Hosp Care Médecine Interne Générale [Internet]. 10 oct 2018 [cité 22 mars 2022]; Disponible sur: <https://doi.emh.ch/phc-f.2018.01812>
6. note-synthese-e-cig.pdf [Internet]. [cité 19 mars 2022]. Disponible sur: <https://ceid-addiction.com/wp-content/uploads/2014/10/note-synthese-e-cig.pdf>
7. Ruggia L. Les «nouveaux» produits du tabac: évolutions et conséquences. Bull Médecins Suisses. 25 août 2021;102(34):1076-8.
8. Comparaison de l'aérosol de la cigarette électronique à celui des cigarettes ordinaires et de la chicha - ScienceDirect [Internet]. [cité 22 mars 2022]. Disponible sur: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0761842513000855?via%3Dihub>
9. Produits du tabac et du vapotage : l'Anses publie un panorama inédit des produits vendus en France | Anses - Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail [Internet]. [cité 22 mars 2022]. Disponible sur: <https://www.anses.fr/fr/content/produits-du-tabac-et-du-vapotage-l%E2%80%99anses-publie-un-panorama-in%C3%A9dit-des-produits-vendus-en>
10. PubChem. Propylene glycol [Internet]. [cité 22 mars 2022]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/s.docadis.univ-tlse3.fr/compound/1030>
11. Phillips B, Titz B, Kogel U, Sharma D, Leroy P, Xiang Y, et al. Toxicity of the main electronic cigarette components, propylene glycol, glycerin, and nicotine, in

- Sprague-Dawley rats in a 90-day OECD inhalation study complemented by molecular endpoints. *Food Chem Toxicol*. 1 nov 2017;109:315-32.
12. PubChem. Glycerol [Internet]. [cité 22 mars 2022]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov-s.docadis.univ-tlse3.fr/compound/753>
 13. PubChem. Nicotine [Internet]. [cité 21 mars 2022]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov-s.docadis.univ-tlse3.fr/compound/89594>
 14. NICOPATCHLIB 14 mg/24 h disp transderm - VIDAL eVIDAL [Internet]. [cité 22 mars 2022]. Disponible sur: https://evidal-vidal-fr-s.docadis.univ-tlse3.fr/medicament/nicopatchlib_14_mg_24_h_disp_transderm-163401.html
 15. Tassin JP. Neurobiology of addiction: a new concept proposed. *Inf Psychiatr*. 2007;83(2):91-7.
 16. NICOPASS 1,5 mg past eucalyptus sans sucre - VIDAL eVIDAL [Internet]. [cité 22 mars 2022]. Disponible sur: https://evidal-vidal-fr-s.docadis.univ-tlse3.fr/medicament/nicopass_1_5_mg_past_eucalyptus_sans_sucres-75525.html
 17. Nicotine (FT 312). Généralités - Fiche toxicologique - INRS [Internet]. [cité 14 juin 2023]. Disponible sur: https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_312
 18. Erna Johanna Zegerina Krüsemann. An e-liquid flavor wheel: a shared vocabulary based on systematically reviewing e-liquid flavor classifications in literature.
 19. Cigarette électronique [Internet]. [cité 22 mars 2022]. Disponible sur: <https://www.economie.gouv.fr/dgccrf/Publications/Vie-pratique/Fiches-pratiques/cigarette-electronique>
 20. Cigarette électronique [Internet]. [cité 28 mai 2023]. Disponible sur: <https://www.economie.gouv.fr/dgccrf/Publications/Vie-pratique/Fiches-pratiques/cigarette-electronique>
 21. Le tabac, premier facteur de risque évitable de cancers - Tabac [Internet]. [cité 28 mai 2023]. Disponible sur: <https://www.e-cancer.fr/Comprendre-prevenir-depister/Reduire-les-risques-de-cancer/Tabac/Le-premier-facteur-de-risque-evitable-de-cancers>
 22. Le tabac est responsable de 20 % des décès dus aux cardiopathies coronariennes [Internet]. [cité 28 mai 2023]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news/item/22-09-2020-tobacco-responsible-for-20-of-deaths-from-coronary-heart-disease>
 23. Goniewicz ML, Knysak J, Gawron M, Kosmider L, Sobczak A, Kurek J. Levels of selected carcinogens and toxicants in vapour from electronic cigarettes | *Tobacco Control*. *Tob Control*. 2014;(23):133-9.

24. Dupont P, Aubin HJ. [Exposure of vapers to formaldehyde and acrolein: A systematic review]. *Rev Mal Respir.* 1 sept 2019;36(7):752-800.
25. INRS. Acroléine (FT 57). Généralités - Fiche toxicologique - INRS [Internet]. 2021 [cité 7 mars 2022]. Disponible sur: https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_57
26. PubChem. Acrolein [Internet]. 2004 [cité 7 mars 2022]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7847>
27. Lee HW, Wang HT, Weng M wen, Chin C, Huang W, Lepor H, et al. Cigarette side-stream smoke lung and bladder carcinogenesis: inducing mutagenic acrolein-DNA adducts, inhibiting DNA repair and enhancing anchorage-independent-growth cell transformation. *Oncotarget.* 28 sept 2015;6(32):33226-36.
28. Feng Z, Hu W, Hu Y, Tang M shong. Acrolein is a major cigarette-related lung cancer agent: Preferential binding at p53 mutational hotspots and inhibition of DNA repair. *Proc Natl Acad Sci.* 17 oct 2006;103(42):15404-9.
29. Lee HW, Park SH, Weng M wen, Wang HT, Huang WC, Lepor H, et al. E-cigarette smoke damages DNA and reduces repair activity in mouse lung, heart, and bladder as well as in human lung and bladder cells. *Proc Natl Acad Sci.* 13 févr 2018;115(7):E1560-9.
30. Sleiman M, Logue J, Russell M, Litter M. Emissions from Electronic Cigarettes: Key Parameters Affecting the Release of Harmful Chemicals | *Environmental Science & Technology.* *Environnemental Sci Technol.* 2016;(50):9644-51.
31. Wang P, Chen W, Liao J, Matsuo T, Ito K, Fowles J, et al. A Device-Independent Evaluation of Carbonyl Emissions from Heated Electronic Cigarette Solvents. *PLOS ONE.* 11 janv 2017;12(1):e0169811.
32. Gillman IG, Kistler KA, Stewart EW, Paolantonio AR. Effect of variable power levels on the yield of total aerosol mass and formation of aldehydes in e-cigarette aerosols. *Regul Toxicol Pharmacol.* 1 mars 2016;75:58-65.
33. Sala C, Medana C, Pellegrino R, Aigotti R, Bello FD, Bianchi G, et al. Dynamic measurement of newly formed carbonyl compounds in vapors from electronic cigarettes. *Eur J Mass Spectrom.* 1 avr 2017;23(2):64-9.
34. Geiss O, Bianchi I, Barrero-Moreno J. Correlation of volatile carbonyl yields emitted by e-cigarettes with the temperature of the heating coil and the perceived sensorial quality of the generated vapours. *Int J Hyg Environ Health.* 1 mai 2016;219(3):268-77.
35. Hutzler C, Paschke M, Kruschinski S, Henkler F, Hahn J, Luch A. Chemical hazards present in liquids and vapors of electronic cigarettes. *Arch Toxicol.* 1 juill 2014;88(7):1295-308.
36. Uchiyama S, Senoo Y, Hayashida H, Inaba Y, Nakagome H, Kunugita N. Determination of Chemical Compounds Generated from Second-generation E-

- cigarettes Using a Sorbent Cartridge Followed by a Two-step Elution Method. *Anal Sci.* 2016;32(5):549-55.
37. Farsalinos KE, Voudris V. Do flavouring compounds contribute to aldehyde emissions in e-cigarettes? *Food Chem Toxicol.* 1 mai 2018;115:212-7.
 38. Santé Canada. Lignes directrices sur la qualité de l'air intérieur résidentiel : Acroléine. 2021. 77 p.
 39. INRS. Aldéhyde formique et solutions aqueuses (FT 7). Généralités - Fiche toxicologique - INRS [Internet]. [cité 7 mars 2022]. Disponible sur: https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_7
 40. PubChem. Formaldehyde [Internet]. [cité 7 mars 2022]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/712>
 41. Qu Y, Kim KH, Szulejko JE. The effect of flavor content in e-liquids on e-cigarette emissions of carbonyl compounds. *Environ Res.* 1 oct 2018;166:324-33.
 42. INRS. Acétaldéhyde (FT 120). Généralités - Fiche toxicologique - INRS [Internet]. [cité 7 mars 2022]. Disponible sur: https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_120
 43. PubChem. Acetaldehyde [Internet]. [cité 7 mars 2022]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/177>
 44. Schober W, Szendrei K, Matzen W, Osiander-Fuchs H, Heitmann D, Schettgen T, et al. Use of electronic cigarettes (e-cigarettes) impairs indoor air quality and increases FeNO levels of e-cigarette consumers. *Int J Hyg Environ Health.* 1 juill 2014;217(6):628-37.
 45. INRS. Toluène (FT 74). Généralités - Fiche toxicologique - INRS [Internet]. [cité 7 mars 2022]. Disponible sur: https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_74
 46. PubChem. Toluene [Internet]. [cité 7 mars 2022]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/1140>
 47. INRS. Benzène (FT 49). Généralités - Fiche toxicologique - INRS [Internet]. [cité 3 avr 2023]. Disponible sur: https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_49
 48. PubChem. Benzene [Internet]. [cité 3 avr 2023]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/241>
 49. Pankow JF, Kim K, McWhirter KJ, Luo W, Escobedo JO, Strongin RM, et al. Benzene formation in electronic cigarettes. *PLOS ONE.* 8 mars 2017;12(3):e0173055.

50. Tierney PA, Karpinski CD, Brown JE, Luo W, Pankow JF. Flavour chemicals in electronic cigarette fluids. *Tob Control*. 1 avr 2016;25(e1):e10-5.
51. Bustamente G, Ma B, Yakovlev G, Yershova K, Le CT, Jensen J, et al. Presence of the Carcinogen N'-Nitrosonornicotine in Saliva of E-cigarette Users | *Chemical Research in Toxicology*. *Chem Res Toxicol*. 2018;(31):731-8.
52. Stepanov I, Muzic J, Le CT, Sebero E, Villalta P, Ma B, et al. Analysis of 4-Hydroxy-1-(3-pyridyl)-1-butanone (HPB)-Releasing DNA Adducts in Human Exfoliated Oral Mucosa Cells by Liquid Chromatography–Electrospray Ionization–Tandem Mass Spectrometry. *Chem Res Toxicol*. 18 janv 2013;26(1):37-45.
53. PubChem. N'-Nitrosonornicotine [Internet]. [cité 3 avr 2023]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/12613538>
54. Castonguay A, Stoner G, Schut H, Hecht SS. Metabolism of tobacco-specific N-nitrosamines by cultured human tissues. | *PNAS. Proc Natl Acad Sci*. 1983;80:6694-7.
55. Schlöbe D, Hölzle D, Hatz D, von Meyer L, Tricker AR, Richter E. 4-Hydroxy-1-(3-pyridyl)-1-butanone-releasing DNA adducts in lung, lower esophagus and cardia of sudden death victims. *Toxicology*. 12 mars 2008;245(1):154-61.
56. Baltazare.fr, V guillaume. Syndicat National des Dermatologues-Vénérologues. 2014 [cité 21 juin 2023]. *Peau et tabac*. Disponible sur: <https://www.syndicatdermatos.org/peau-et-tabac/>
57. Migdal C, Serres M. Espèces réactives de l'oxygène et stress oxydant. *médecine/sciences*. 1 avr 2011;27(4):405-12.
58. Goel R, Durand E, Trushin N, Prokopczyk B, Foulds J, Elias RJ, et al. Highly Reactive Free Radicals in Electronic Cigarette Aerosols. *Chem Res Toxicol*. 21 sept 2015;28(9):1675-7.
59. Lerner CA, Sundar IK, Yao H, Gerloff J, Ossip DJ, McIntosh S, et al. Vapors Produced by Electronic Cigarettes and E-Juices with Flavorings Induce Toxicity, Oxidative Stress, and Inflammatory Response in Lung Epithelial Cells and in Mouse Lung. *PLOS ONE*. 6 févr 2015;10(2):e0116732.
60. Lerner CA, Sundar IK, Watson RM, Elder A, Jones R, Done D, et al. Environmental health hazards of e-cigarettes and their components: Oxidants and copper in e-cigarette aerosols. *Environ Pollut*. 1 mars 2015;198:100-7.
61. Beauval N, Howsam M, Antherieu S, Allorge D, Soyez M, Garçon G, et al. Trace elements in e-liquids - Development and validation of an ICP-MS method for the analysis of electronic cigarette refills. *Regul Toxicol Pharmacol*. 1 août 2016;79:144-8.
62. Gaur S, Agnihotri R. Health Effects of Trace Metals in Electronic Cigarette Aerosols—a Systematic Review. *Biol Trace Elem Res*. 1 avr 2019;188(2):295-315.

63. Williams M, Villarreal A, Bozhilov K, Lin S, Talbot P. Metal and Silicate Particles Including Nanoparticles Are Present in Electronic Cigarette Cartomizer Fluid and Aerosol. *PLOS ONE*. 20 mars 2013;8(3):e57987.
64. Les méfaits du tabac sur le cœur et les vaisseaux [Internet]. FFC. 2016 [cité 4 avr 2023]. Disponible sur: <https://fedecardio.org/je-m-informe/les-mefaits-du-tabac-sur-le-coeur-et-les-vasseaux/>
65. Putzhammer R, Doppler C, Jakschitz T, Heinz K, Förste J, Danzl K, et al. Vapours of US and EU Market Leader Electronic Cigarette Brands and Liquids Are Cytotoxic for Human Vascular Endothelial Cells. *PLOS ONE*. 28 juin 2016;11(6):e0157337.
66. Carnevale R, Sciarretta S, Violi F, Nocella C, Loffredo L, Perri L, et al. Acute Impact of Tobacco vs Electronic Cigarette Smoking on Oxidative Stress and Vascular Function. *Chest*. 1 sept 2016;150(3):606-12.
67. Fetterman JL, Weisbrod RM, Feng B, Bastin R, Tuttle ST, Holbrook M, et al. Flavorings in Tobacco Products Induce Endothelial Cell Dysfunction. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. juill 2018;38(7):1607-15.
68. Kivrak T, Sunbul M, Durmus E, Dervisova R, Sari I, Yesildag O. Acute myocardial infarction due to liquid nicotine in a young man. *Ther Adv Cardiovasc Dis*. 1 févr 2014;8(1):32-4.
69. Sergheraert L. [The dry eye syndrome, a pathology in strong progression]. *Actual Pharm*. 1 févr 2022;61(613):35-8.
70. Martheswaran T, Shmunes MH, Ronquillo YC, Moshirfar M. The impact of vaping on ocular health: a literature review. *Int Ophthalmol*. 1 août 2021;41(8):2925-32.
71. Choi W, Lian C, Ying L, Kim GE, You IC, Park SH, et al. Expression of Lipid Peroxidation Markers in the Tear Film and Ocular Surface of Patients with Non-Sjogren Syndrome: Potential Biomarkers for Dry Eye Disease. *Curr Eye Res*. 1 sept 2016;41(9):1143-9.
72. Md Isa NA, Koh PY, Doraj P. The Tear Function in Electronic Cigarette Smokers. *Optom Vis Sci*. sept 2019;96(9):678.
73. Shields CL, Kim M, Lally SE, Chévez-Barrios P, Shields JA. Eye cancer in a young male with a vaping history. *Indian J Ophthalmol*. août 2020;68(8):1699-701.
74. Hu H, Sasaki N, Ogasawara T, Nagahama S, Akter S, Kuwahara K, et al. Smoking, Smoking Cessation, and the Risk of Hearing Loss: Japan Epidemiology Collaboration on Occupational Health Study. *Nicotine Tob Res*. 30 mars 2019;21(4):481-8.
75. Song JJ, Go YY, Mun JY, Lee S, Im GJ, Kim Y yon, et al. Effect of electronic cigarettes on human middle ear. *Int J Pediatr Otorhinolaryngol*. 1 juin 2018;109:67-71.

76. Ji EH, Sun B, Zhao T, Shu S, Chang CH, Messadi D, et al. Characterization of Electronic Cigarette Aerosol and Its Induction of Oxidative Stress Response in Oral Keratinocytes. *PLOS ONE*. 25 mai 2016;11(5):e0154447.
77. Sancilio S, Gallorini M, Cataldi A, di Giacomo V. Cytotoxicity and apoptosis induction by e-cigarette fluids in human gingival fibroblasts. *Clin Oral Investig*. 1 avr 2016;20(3):477-83.
78. Welz C, Canis M, Schwenk-Zieger S, Becker S, Stucke V, Ihler F, et al. Cytotoxic and Genotoxic Effects of Electronic Cigarette Liquids on Human Mucosal Tissue Cultures of the Oropharynx. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* [Internet]. 2016 [cité 28 juin 2022];35(4). Disponible sur: <https://www.dl.begellhouse.com/journals/0ff459a57a4c08d0,330e808854c98f7b,1a67e8331bfb5118.html>
79. Yu V, Rahimy M, Korrapati A, Xuan Y, Zou AE, Krishnan AR, et al. Electronic cigarettes induce DNA strand breaks and cell death independently of nicotine in cell lines. *Oral Oncol*. 1 janv 2016;52:58-65.
80. Bardellini E, Amadori F, Conti G, Majorana A. Oral mucosal lesions in electronic cigarettes consumers versus former smokers. *Acta Odontol Scand*. 3 avr 2018;76(3):226-8.
81. Nguyen H, Kitzmiller J, Nguyen K, Chuong N, Bui T. Oral Carcinoma Associated with Chronic Use of Electronic Cigarettes. *otolaryngology*. 1 janv 2017;07.
82. Franco T, Trapasso S, Puzzo L, Allegra E. Electronic Cigarette: Role in the Primary Prevention of Oral Cavity Cancer. *Clin Med Insights Ear Nose Throat*. 1 janv 2016;9:CMEN.T.S40364.
83. Garcia-Arcos I, Geraghty P, Baumlin N, Campos M, Dabo AJ, Jundi B, et al. Chronic electronic cigarette exposure in mice induces features of COPD in a nicotine-dependent manner. *Thorax*. 1 déc 2016;71(12):1119-29.
84. Gaurav R. Vaping Away Epithelial Integrity. *Am J Respir Cell Mol Biol*. août 2019;61(2):127-9.
85. Lin VY, Fain MD, Jackson PL, Berryhill TF, Wilson LS, Mazur M, et al. Vaporized E-Cigarette Liquids Induce Ion Transport Dysfunction in Airway Epithelia. *Am J Respir Cell Mol Biol*. août 2019;61(2):162-73.
86. Scheffler S, Dieken H, Krischenowski O, Förster C, Branscheid D, Aufderheide M. Evaluation of E-Cigarette Liquid Vapor and Mainstream Cigarette Smoke after Direct Exposure of Primary Human Bronchial Epithelial Cells. *Int J Environ Res Public Health*. avr 2015;12(4):3915-25.
87. Rowell TR, Reeber SL, Lee SL, Harris RA, Nethery RC, Herring AH, et al. Flavored e-cigarette liquids reduce proliferation and viability in the CALU3 airway epithelial cell line. *Am J Physiol-Lung Cell Mol Physiol*. juill 2017;313(1):L52-66.

88. Ghosh A, Coakley RD, Ghio AJ, Muhlebach MS, Esther CR, Alexis NE, et al. Chronic E-Cigarette Use Increases Neutrophil Elastase and Matrix Metalloprotease Levels in the Lung. *Am J Respir Crit Care Med*. déc 2019;200(11):1392-401.
89. Wang Q, Sundar IK, Li D, Lucas JH, Muthumalage T, McDonough SR, et al. E-cigarette-induced pulmonary inflammation and dysregulated repair are mediated by nAChR $\alpha 7$ receptor: role of nAChR $\alpha 7$ in SARS-CoV-2 Covid-19 ACE2 receptor regulation. *Respir Res*. 18 juin 2020;21(1):154.
90. Inserm [Internet]. [cité 11 sept 2022]. Bronchopneumopathie chronique obstructive (BPCO) · Inserm, La science pour la santé. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/dossier/bronchopneumopathie-chronique-obstructive-bpco/>
91. Husari A, Shihadeh A, Talih S, Hashem Y, El Sabban M, Zaatari G. Acute Exposure to Electronic and Combustible Cigarette Aerosols: Effects in an Animal Model and in Human Alveolar Cells. *Nicotine Tob Res*. 1 mai 2016;18(5):613-9.
92. Cervellati F, Muresan XM, Sticozzi C, Gambari R, Montagner G, Forman HJ, et al. Comparative effects between electronic and cigarette smoke in human keratinocytes and epithelial lung cells. *Toxicol In Vitro*. 1 août 2014;28(5):999-1005.
93. McAlinden KD, Eapen MS, Lu W, Sharma P, Sohal SS. The rise of electronic nicotine delivery systems and the emergence of electronic-cigarette-driven disease. *Am J Physiol-Lung Cell Mol Physiol*. oct 2020;319(4):L585-95.
94. Larcombe AN, Janka MA, Mullins BJ, Berry LJ, Bredin A, Franklin PJ. The effects of electronic cigarette aerosol exposure on inflammation and lung function in mice. *Am J Physiol-Lung Cell Mol Physiol*. juill 2017;313(1):L67-79.
95. Palamidis A, Tsikrika S, Katsaounou PA, Vakali S, Gennimata SA, Kaltsakas G, et al. Acute effects of short term use of ecigarettes on Airways Physiology and Respiratory Symptoms in Smokers with and without Airway Obstructive Diseases and in Healthy non smokers. *Tob Prev Cessat*. 1 mars 2017;3:5.
96. Campagna D, Cibella F, Caponnetto P, Amaradio MD, Caruso M, Morjaria JB, et al. Changes in breathomics from a 1-year randomized smoking cessation trial of electronic cigarettes. *Eur J Clin Invest*. 2016;46(8):698-706.
97. Flouris AD, Chorti MS, Poulianiti KP, Jamurtas AZ, Kostikas K, Tzatzarakis MN, et al. Acute impact of active and passive electronic cigarette smoking on serum cotinine and lung function. *Inhal Toxicol*. 1 févr 2013;25(2):91-101.
98. Chand HS, Muthumalage T, Maziak W, Rahman I. Pulmonary Toxicity and the Pathophysiology of Electronic Cigarette, or Vaping Product, Use Associated Lung Injury. *Front Pharmacol [Internet]*. 2020 [cité 3 oct 2022];10. Disponible sur: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2019.01619>

99. Schier JG, Meiman JG, Layden J, Mikosz CA, VanFrank B, King BA, et al. Severe Pulmonary Disease Associated with Electronic-Cigarette–Product Use — Interim Guidance. *Morb Mortal Wkly Rep.* 13 sept 2019;68(36):787-90.
100. Kruszewski J, Worobiej D, Kolasińska W, Sokołowski RA, Rząd M. Potential benefits and hazards associated with the use of e-cigarettes — a guide for practitioners and current status in Poland. *Adv Respir Med.* 2021;89(4):392-402.
101. Priemer DS, Gravenmier C, Batouli A, Hooper JE. Overview of Pathologic Findings of Vaping in the Context of an Autopsy Patient With Chronic Injury. *Arch Pathol Lab Med.* 8 mai 2020;144(11):1408-13.
102. HAS. Haute Autorité de Santé. [cité 24 oct 2022]. Cancer du poumon : conditions non réunies pour un dépistage chez les fumeurs. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/c_2632491/fr/cancer-du-poumon-conditions-non-reunies-pour-un-depistage-chez-les-fumeurs
103. Tang M shong, Wu XR, Lee HW, Xia Y, Deng FM, Moreira AL, et al. Electronic-cigarette smoke induces lung adenocarcinoma and bladder urothelial hyperplasia in mice. *Proc Natl Acad Sci.* 22 oct 2019;116(43):21727-31.
104. Fuller TW, Acharya AP, Meyyappan T, Yu M, Bhaskar G, Little SR, et al. Comparison of Bladder Carcinogens in the Urine of E-cigarette Users Versus Non E-cigarette Using Controls. *Sci Rep.* 11 janv 2018;8(1):507.
105. INRS. o-Toluidine (FT 197). Généralités - Fiche toxicologique - INRS [Internet]. [cité 30 août 2022]. Disponible sur: https://www.inrs.fr/publications/bdd/fichetox/fiche.html?refINRS=FICHETOX_197
106. PubChem. 2-Naphthylamine [Internet]. [cité 30 août 2022]. Disponible sur: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/7057>
107. de March AK, Béné MC, Derniame S, Massin F, Aguilar P, Faure G. Tabac et immunité muqueuse: Inflammation ou déficit immunitaire acquis. *Rev Fr Lab.* 1 mars 2004;2004(361):27-31.
108. Hwang JH, Lyes M, Sladewski K, Enany S, McEachern E, Mathew DP, et al. Electronic cigarette inhalation alters innate immunity and airway cytokines while increasing the virulence of colonizing bacteria. *J Mol Med.* 1 juin 2016;94(6):667-79.
109. Martin EM, Clapp PW, Rebuli ME, Pawlak EA, Glista-Baker E, Benowitz NL, et al. E-cigarette use results in suppression of immune and inflammatory-response genes in nasal epithelial cells similar to cigarette smoke. *APSselect.* août 2016;3(8):L135-44.
110. Chen IL, Todd I, Fairclough LC. Immunological and pathological effects of electronic cigarettes. *Basic Clin Pharmacol Toxicol.* 2019;125(3):237-52.
111. Coronavirus [Internet]. [cité 30 août 2022]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/health-topics/health-systems-governance>

112. VIDAL [Internet]. [cité 30 août 2022]. Coronavirus COVID-19 - symptômes, causes, traitements et prévention. Disponible sur:
<https://www.vidal.fr/maladies/voies-respiratoires/coronavirus-covid-19.html>
113. Jose T, Croghan IT, Hays JT, Schroeder DR, Warner DO. Electronic Cigarette Use Is Not Associated with COVID-19 Diagnosis. *J Prim Care Community Health*. 1 janv 2021;12:21501327211024391.
114. Azizi M, De Freminville JB. Inhibiteurs du système-rénine-angiotensine au cours de la covid-19 : protecteurs ou dangereux ? *Ann Endocrinol*. oct 2021;82(5):229.
115. Scholz JR, Lopes MACQ, Saraiva JFK, Colombo FC. COVID-19, Renin-Angiotensin System, Angiotensin-Converting Enzyme 2, and Nicotine: What is the Interrelation? *Arq Bras Cardiol*. 23 oct 2020;115:708-11.
116. Masso-Silva JA, Moshensky A, Shin J, Olay J, Nilaad S, Advani I, et al. Chronic E-Cigarette Aerosol Inhalation Alters the Immune State of the Lungs and Increases ACE2 Expression, Raising Concern for Altered Response and Susceptibility to SARS-CoV-2. *Front Physiol* [Internet]. 2021 [cité 24 avr 2023];12. Disponible sur:
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphys.2021.649604>
117. McAlinden KD, Lu W, Ferdowsi PV, Myers S, Markos J, Larby J, et al. Electronic Cigarette Aerosol Is Cytotoxic and Increases ACE2 Expression on Human Airway Epithelial Cells: Implications for SARS-CoV-2 (COVID-19). *J Clin Med*. janv 2021;10(5):1028.
118. Lee AC, Chakladar J, Li WT, Chen C, Chang EY, Wang-Rodriguez J, et al. Tobacco, but Not Nicotine and Flavor-Less Electronic Cigarettes, Induces ACE2 and Immune Dysregulation. *Int J Mol Sci*. janv 2020;21(15):5513.
119. McFadden DD, Bornstein SL, Vassallo R, Salonen BR, Bhuiyan MN, Schroeder DR, et al. Symptoms COVID 19 Positive Vapers Compared to COVID 19 Positive Non-vapers. *J Prim Care Community Health*. 1 janv 2022;13:21501319211062672.
120. Brar E, Saxena A, Dukler C, Xu F, Saxena D, Cheema Brar P, et al. Vaping, SARS-CoV-2, and Multisystem Inflammatory Syndrome: A Perfect Storm. *Front Pediatr* [Internet]. 2021 [cité 24 avr 2023];9. Disponible sur:
<https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fped.2021.647925>
121. Pasquereau A, Quatremère G, Guignard R. Baromètre de Santé publique France 2017. Usage de la cigarette électronique, tabagisme et opinions des 18-75 ans [Internet]. 2019 [cité 17 juill 2023]. Disponible sur:
<https://www.santepubliquefrance.fr/import/barometre-de-sante-publique-france-2017.-usage-de-la-cigarette-electronique-tabagisme-et-opinions-des-18-75-ans>
122. Andler R, Guignard R, Spilka S, Le Nézet O, Pasquereau A, Richard JB, et al. Consommation de tabac et usage de cigarette électronique en France. *Rev Mal Respir*. 1 juin 2018;35(6):673-85.

123. Pasquereau A. CONSOMMATION DE TABAC PARMIS LES ADULTES : BILAN DE CINQ ANNÉES DE PROGRAMME NATIONAL CONTRE LE TABAGISME, 2014-2019 / TOBACCO USE AMONG ADULTS: FIVE-YEAR REVIEW OF THE NATIONAL TOBACCO CONTROL PROGRAMME, 2014-2019. 2020;
124. Klemperer EM, West JC, Peasley-Miklus C, Villanti AC. Change in Tobacco and Electronic Cigarette Use and Motivation to Quit in Response to COVID-19. *Nicotine Tob Res.* 24 août 2020;22(9):1662-3.
125. Kalkhoran SM, Levy DE, Rigotti NA. Smoking and E-Cigarette Use Among U.S. Adults During the COVID-19 Pandemic. *Am J Prev Med.* 1 mars 2022;62(3):341-9.
126. Cai X, Zhao X, Rossheim ME, Xue H. Vaping and COVID-19 Risk: Perceived link and its correlates among at-risk adolescents. *Prev Med Rep.* 1 déc 2021;24:101598.
127. Bommele J, Hopman P, Walters BH, Geboers C, Croes E, Fong GT, et al. The double-edged relationship between COVID-19 stress and smoking: Implications for smoking cessation. *Tob Induc Dis.* 27 juill 2020;18:63.
128. Silver JK, Santa Mina D, Bates A, Gillis C, Silver EM, Hunter TL, et al. Physical and Psychological Health Behavior Changes During the COVID-19 Pandemic that May Inform Surgical Prehabilitation: a Narrative Review. *Curr Anesthesiol Rep.* 1 mars 2022;12(1):109-24.
129. Janssen E, Brissot A. Usages d'alcool, de tabac et de cannabis chez les élèves de 3e en 2021. *Tend-OFDT.* déc 2021;(148).
130. Janssen E, Le Nézet O, Brissot A, Martinez M, Philippon A. ESCAPAD, 20 ans d'observation des usages à l'adolescence - Théma - OFDT [Internet]. 2022 [cité 17 juill 2023]. Disponible sur: <https://www.ofdt.fr/publications/collections/thema/escapad-20-ans-dobservation-des-usages-ladolescence-thema/>

ANNEXE : QUESTIONNAIRE PATIENT

I- Questions générales

1. Âge

- Entre 18 et 25 ans
- Entre 26 et 40 ans
- Entre 41 et 60 ans
- Entre 61 et 85 ans

2. Sexe

- Homme
- Femme
- Autre

3. Statut tabagique

- Fumeur (quotidien ou occasionnel)
- Ex-fumeur
- Non-fumeur

II- Questions pour les fumeurs

1. A quel âge avez-vous commencé à fumer ?

- Entre 11 et 14 ans
- Entre 15 et 17 ans
- Entre 18 et 25 ans
- Entre 26 et 40 ans
- Entre 41 et 60 ans

2. Sous quelle forme se trouvait la nicotine lors de votre première consommation ?

- Tabac (cigarette classique, cigare, pipe à eau)
- Cigarette électronique, puff cigarette

3. Combien de cigarettes consommez-vous quotidiennement ?

- Moins de 10 cigarettes
- Entre 10 et 20 cigarettes
- Entre 21 et 30 cigarettes
- Plus de 30 cigarettes

4. Avez-vous déjà essayé d'arrêter de fumer ?
- Oui
 - Non
5. Quelle est la principale raison qui vous a poussé à essayer d'arrêter de fumer ?
- Raisons de santé
 - Raisons économiques
 - Autre
6. Quel type de substituts nicotiques avez-vous utilisé lors de votre dernière tentative de sevrage ?
- Patches
 - Gommages
 - Pastilles à sucer
 - Spray à base de nicotine
 - Cigarette électronique, puff cigarette
 - Hypnose
 - Phytothérapie, gemmothérapie, homéopathie
 - Je n'ai pas utilisé de substitut nicotinique (arrêt par la volonté seule)
7. Avez-vous bénéficié d'aide lors de votre tentative de sevrage ?
- Aide de l'entourage proche (famille, amis...)
 - Aide d'un professionnel de santé (médecin, pharmacien...)
 - Je n'ai bénéficié d'aucune aide
8. Avez-vous déjà utilisé une cigarette électronique/une puff cigarette ?
- Oui
 - Non
9. Votre utilisation de la cigarette électronique est :
- Quotidienne
 - Occasionnelle (au moins une fois par mois)
 - Expérimentale (une fois pour essayer)
10. Si votre utilisation de la cigarette électronique est expérimentale, pourquoi ne pas avoir continué à en consommer ? (En quelques mots)
11. Si votre utilisation de la cigarette électronique est quotidienne ou occasionnelle, vous utilisez des e-liquides :
- Faiblement dosés en nicotine (0 à 3 mg/ml)

- Moyennement dosés en nicotine (6 à 12 mg/ml)
 - Fortement dosés en nicotine (16 à 20 mg/ml)
12. Pourquoi consommez-vous la cigarette électronique ? (En quelques mots)
13. Fumez-vous des cigarettes classiques en parallèle de votre consommation de cigarette électronique ?
- Oui, je fume autant de cigarettes classiques qu'avant
 - Oui mais je fume moins de cigarettes classiques qu'avant
 - Oui et je fume plus de cigarettes classiques qu'avant
 - Non
14. Lors de la crise de la COVID-19, avez-vous diminué/stoppé votre consommation de cigarettes classiques au profit de la cigarette électronique ?
- Oui, j'ai diminué
 - Oui, j'ai stoppé
 - Non
15. Raisons de ce changement d'habitudes de consommation

III- Questions pour les ex-fumeurs

1. A quel âge avez-vous commencé à fumer ?
- Entre 11 et 14 ans
 - Entre 15 et 17 ans
 - Entre 18 et 25 ans
 - Entre 26 et 40 ans
 - Entre 41 et 60 ans
2. Sous quelle forme se trouvait la nicotine lors de votre première consommation ?
- Tabac (cigarette classique, cigare, pipe à eau)
 - Cigarette électronique, puff cigarette
3. Combien de cigarettes consommiez-vous quotidiennement ?
- Moins de 10 cigarettes
 - Entre 10 et 20 cigarettes
 - Entre 21 et 30 cigarettes
 - Plus de 30 cigarettes

4. Quelle est la principale raison qui vous a poussé à essayer d'arrêter de fumer ?
- Raisons de santé
 - Raisons économiques
 - Autre
5. Quel type de substituts nicotiques avez-vous utilisé lors de votre dernière tentative de sevrage ?
- Patches
 - Gommages
 - Pastilles à sucer
 - Spray à base de nicotine
 - Cigarette électronique, puff cigarette
 - Hypnose
 - Phytothérapie, gemmothérapie, homéopathie
 - Je n'ai pas utilisé de substitut nicotinique (arrêt par la volonté seule)
6. Avez-vous bénéficié d'aide lors de votre tentative de sevrage ?
- Aide de l'entourage proche (famille, amis...)
 - Aide d'un professionnel de santé (médecin, pharmacien...)
 - Je n'ai bénéficié d'aucune aide
7. Avez-vous déjà utilisé une cigarette électronique/une puff cigarette ?
- Oui
 - Non
8. Votre utilisation de la cigarette électronique est :
- Quotidienne
 - Occasionnelle (au moins une fois par mois)
 - Expérimentale (une fois pour essayer)
9. Si votre utilisation de la cigarette électronique est expérimentale, pourquoi ne pas avoir continué à en consommer ? (En quelques mots)
10. Si votre utilisation de la cigarette électronique est quotidienne ou occasionnelle, vous utilisez des e-liquides :
- Faiblement dosés en nicotine (0 à 3 mg/ml)
 - Moyennement dosés en nicotine (6 à 12 mg/ml)
 - Fortement dosés en nicotine (16 à 20 mg/ml)
11. Pourquoi consommez-vous la cigarette électronique ? (En quelques mots)

12. Quel est la date de votre sevrage ?
13. Lors de la crise de la COVID-19, avez-vous diminué/stoppé votre consommation de cigarettes classiques au profit de la cigarette électronique ?
- Oui, j'ai diminué
 - Oui, j'ai stoppé
 - Non
14. Raisons de ce changement d'habitudes de consommation ?

IV- Questions pour les non-fumeurs

1. Avez-vous déjà essayé la cigarette électronique ?
- Oui
 - Non
2. Votre utilisation de la cigarette électronique est :
- Quotidienne
 - Occasionnelle (au moins une fois par mois)
 - Expérimentale (une fois pour essayer)
3. Si votre utilisation est expérimentale, pourquoi ne pas avoir continué à en consommer ? (En quelques mots)
4. Si votre utilisation est quotidienne ou occasionnelle, pourquoi avoir continué à en consommer ? (En quelques mots)
5. Si votre utilisation est quotidienne ou occasionnelle, vous utilisez des e-liquides :
- Faiblement dosés en nicotine (0 à 3 mg/ml)
 - Moyennement dosés en nicotine (6 à 12 mg/ml)
 - Fortement dosés en nicotine (16 à 20 mg/ml)

Résumé en français :

Les liquides de cigarettes électroniques et leurs vapeurs contiennent plusieurs substances toxiques à l'origine du développement de nombreuses pathologies, cancéreuses ou non. Le vapotage favoriserait également les infections au SARS-CoV-2 et les formes graves de la COVID-19. Toutefois, le vapotage reste beaucoup moins néfaste que le tabagisme : la cigarette électronique est donc un bon outil de réduction des risques chez les fumeurs. En France, le confinement lié à la crise sanitaire a temporairement modifié les habitudes des fumeurs/vapoteurs : la corrélation entre tabagisme/vapotage et infection par le SARS-CoV-2 a encouragé certains consommateurs à diminuer ou arrêter l'usage de ces produits. A l'inverse, le stress et l'inactivité ont poussé certains fumeurs/vapoteurs à augmenter leur consommation.

Titre et résumé en anglais:**ELECTRONIC CIGARETTE: CURRENT KNOWLEDGE ABOUT TOXICITY, USERS PROFIL AND COVID-19 HEALTH CRISIS EFFECT ON ITS USE**

E-liquids and electronic cigarette vapors contains toxic compounds. These molecules lead to several cancerous and not cancerous diseases development. Recently, the link between vaping, SARS-CoV-2 infection and severe COVID-19 form has been demonstrated. However, vaping is safer than smoking: electronic cigarette is a good tool to reduce risk for smokers. In France, COVID-19 health crisis and lockdown didn't really change smoking and vaping habits, but we could see that some people reduced or stopped their cigarette/e-cigarette use because they were afraid of catching SARS-CoV-2. In opposite ways, other people smoked/vaped more than usual due to stress and lack of activity.

DISCIPLINE administrative : Pharmacie

MOTS-CLES : Cigarette électronique ; E-liquides ; Vapeur ; Toxicité ; Profil vapoteurs ; COVID-19 ; Confinement

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR : Faculté de santé – Département des Sciences Pharmaceutiques - 35 chemin des Maraîchers - 31062 Toulouse Cedex 9**Directeur de thèse :** FALLONE Frédérique