

Читать
онлайнRead
online

Ахмадеев А.Р.¹, Рябова Ю.В.¹, Каримов Д.О.^{1,2}, Хуснутдинова Н.Ю.¹,
Кудояров Э.Р.¹, Валова Я.В.¹

Полуколичественная оценка распределения микрочастиц пластика в организме при остром воздействии

¹ФБУН «Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия;

²ФГБНУ «Национальный научно-исследовательский институт общественного здоровья имени Н.А. Семашко», 105064, Москва, Россия

РЕЗЮМЕ

Введение. Микропластик представляет серьёзную угрозу здоровью из-за токсичности и способности к биоаккумуляции. Исследования подтверждают его негативное влияние на организм, однако механизмы накопления и распределения частиц изучены недостаточно. Данное исследование направлено на разработку и экспериментальную проверку полуколичественного метода оценки этих процессов.

Цель исследования — разработка и апробация в условиях острого эксперимента полуколичественного метода оценки распределения и накопления микрочастиц пластика в организме.

Материалы и методы. Для исследования использовали 12 самок крыс линии Wistar, разделённых на четыре группы. Животным внутрисердечно вводили суспензию микропластиков полистирола 50 мкл (диаметром 100; 500 и 1000 нм) или 50 мкл физиологического раствора. Накопление микропластика в тканях трёх органов оценивали полуколичественным методом с использованием флуоресцентной микроскопии и ранговой шкалы. Данные анализировали методом Bootstrap с поправкой Холма — Бонферрони, значимость различий определялась при $p < 0,05$.

Результаты. Микропластики пластика размером 100; 500 и 1000 нм при внутрисердечном введении обнаруживаются в печени, почках и лёгких, локализуясь в печёночных триадах, корковом слое почек и областях ацинусов, альвеолярных ходах лёгких, с наибольшим количеством при введении частиц размером 1000 нм. Полуколичественная оценка выявила, что наибольшее накопление микропластика в печени и лёгких наблюдается при введении частиц размером 1000 нм, в почках — при введении частиц 100 нм.

Ограничения исследования. Исследование было ограничено изучением распределения микропластика трёх размеров в токсикологическом эксперименте на одном виде животных (лабораторная крыса, по три животных в каждой группе).

Заключение. Показано, что интенсивность и количество флуоресцирующих тканевых элементов зависит от размера частиц и могут быть связаны с образованием конгломератов из микропластиков полистирола. Метод полуколичественной оценки позволил установить некоторые закономерности распределения изученных микропластиков, но требуются дополнительные исследования с разработкой количественного подхода для повышения точности результата.

Ключевые слова: микропластики пластика; моделирование; распределение; *in vivo*; острое воздействие

Соблюдение этических стандартов. Все эксперименты в рамках исследования соответствовали этическим нормам обращения с животными, принятым Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемым для исследовательских и иных научных целей, Директивой Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/ЕС от 22.09.2010 г. о защите животных, используемых для научных целей. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом учреждения, № 01–10 от 09.10.2024 г.

Для цитирования: Ахмадеев А.Р., Рябова Ю.В., Каримов Д.О., Хуснутдинова Н.Ю., Кудояров Э.Р., Валова Я.В. Полуколичественная оценка распределения микропластиков пластика в организме при остром воздействии. *Гигиена и санитария*. 2025; 104(5): 643–647. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2025-104-5-643-647> <https://elibrary.ru/drfrfm>

Для корреспонденции: Рябова Юлия Владимировна, e-mail: ryabovayuvl@yandex.ru

Участие авторов: Ахмадеев А.Р. — проведение эксперимента, сбор и обработка данных, написание текста, иллюстрации; Рябова Ю.В. — концепция и дизайн исследования, написание текста; Каримов Д.О. — концепция и дизайн исследования, научное редактирование текста; Хуснутдинова Н.Ю. — проведение эксперимента; Кудояров Э.Р. — сбор и обработка данных, написание текста; Валова Я.В. — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка данных. Все соавторы — утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов в связи с публикацией данной статьи.

Финансирование. Исследование было выполнено в рамках отраслевой научно-исследовательской программы Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека на 2021–2025 гг.

Поступила: 23.12.2024 / Поступила после доработки: 15.01.2025 / Принята к печати: 26.03.2025 / Опубликовано: 27.06.2025

Aidar R. Ahmadeev¹, Yuliya V. Ryabova¹, Denis O. Karimov^{1,2}, Nadezhda Yu. Khusnutdinova¹,
Eldar R. Kudoyarov¹, Yana V. Valova¹

Semiquantitative assessment of the distribution of microplastic particles in the body during acute exposure

¹Ufa research institute of occupational health and human ecology, Ufa, 450106, Russian Federation;

²National Research Institute of Public Health N.A. Semashko, Moscow, 105064, Russian Federation

ABSTRACT

Introduction. Microplastics pose a significant health threat due to their toxicity and capacity for bioaccumulation. Although studies have confirmed their detrimental effects on biological systems, the mechanisms governing particle accumulation and particle distributions have not been sufficiently studied.

The aim of our study was to develop and experimentally validate a semi-quantitative method to assess these processes on the base of investigation of the distribution of plastic microparticles in the organism under acute *in vivo* experimental conditions using a semi-quantitative method.

Materials and methods. Twelve female Wistar rats were divided into four groups. Animals received intracardiac injections of polystyrene microparticle suspensions (100, 500, and 1000 nm in diameter) or physiological saline solution. The accumulation of microparticles in six organs was evaluated using a semi-quantitative

scoring method based on fluorescence microscopy and a rank-scale assessment. Data were analyzed using bootstrap methods with Holm–Bonferroni corrections, and differences were considered significant at $p < 0.05$.

Results. Following intracardiac administration, polystyrene microparticles measuring 100, 500, and 1000 nm were detected in the liver, kidneys, and lungs. They localized primarily in hepatic triads, the renal cortex, and the acinar regions and alveolar ducts of the lungs. The highest levels were observed upon administration of 1000-nm particles. Semi-quantitative analysis revealed liver and lung tissues to accumulate significantly more microparticles of the 1000-nm in size, while the kidneys showed greater accumulation of the 100-nm particles.

Limitations. This study was limited to examining the distribution of three microparticle size groups in a single animal model (laboratory rats, only 3 animals in each group) under acute toxicological conditions.

Conclusion. The intensity and abundance of fluorescent tissue elements depend on particle size and may be associated with the formation of microparticle conglomerates. While the semi-quantitative method allowed identifying certain distribution patterns, further research involving quantitative approaches is required to enhance the accuracy and specificity of these findings.

Keywords: plastic microparticles; modeling; distribution; in vivo; acute exposure

Compliance with ethical standards. All experiments in this study were conducted in accordance with European Convention standards for the protection of vertebrate animals used for research and other scientific purposes. The study protocol was approved by the local ethics committee (Approval No. 01-10 from October 9, 2024).

For citation: Ahmadeev A.R., Ryabova Yu.V., Karimov D.O., Khusnutdinova N.Yu., Kudoyarov E.R., Valova Ya.V. Semiquantitative assessment of the distribution of microplastic particles in the body during acute exposure. *Gigiena i Sanitariya / Hygiene and Sanitation, Russian journal*. 2025; 104(5): 643–647. <https://doi.org/10.47470/0016-9900-2025-104-5-643-647> <https://elibrary.ru/drfrfm> (In Russ.)

For correspondence: Yuliya V. Ryabova, e-mail: ryabovayuvl@yandex.ru

Contribution: Ahmadeev A.R. — conducting the experiment, data collection and processing, writing the text, preparing figures; Ryabova Yu.V. — research concept and design, writing the text; Karimov D.O. — research concept and design, scientific editing of the text; Khusnutdinova N.Yu. — conducting the experiment; Kudoyarov E.R. — data collection and processing, writing the text; Valova Ya.V. — research concept and design, data collection and processing. All authors are responsible for the integrity of all parts of the manuscript and approval of the manuscript final version

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Funding. The study was carried out within the framework of the sectoral research program of the Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing for 2021–2025.

Received: December 23, 2024 / Revised: January 15, 2025 / Accepted: March 26, 2025 / Published: June 27, 2025

Введение

За последние годы в мировой научной литературе накопилось значительное количество данных, свидетельствующих о токсичности микропластика и его потенциальной вреде для здоровья. Например, в исследовании А.А. Farag и соавт. [1] на восьминедельных крысах-самцах (линия Sprague Dawley, масса тела (м. т.) на начало эксперимента 150–180 г) животным внутривенно вводили полиэтиленовые микропластики пластика со средним размером частиц от 4 до 6 мкм в течение 35 дней ежедневно. Разовые дозы микропластика были равны 3,75; 15 и 60 мг/кг м. т. В качестве носителя выступало кукурузное масло. Частицы имели неправильную фрагментированную форму и острые края, что было выявлено методом сканирующей электронной микроскопии. Обнаружено, что все исследуемые дозы микропластика индуцировали истощение антиоксидантной системы, выраженное в снижении содержания супероксиддисмутазы и активности сывороточного глутатиона, увеличении перекисного окисления липидов. В группах животных, подвергнутых воздействию микропластика в дозах 15 и 60 мг/кг м. т., статистически значимо увеличилось число аномальных эритроцитов. Методом комет было выявлено повреждение ДНК во всех группах. Масса тела животных увеличивалась в группах, подвергнутых воздействию в дозах 15 и 60 г/кг м. т., в то время как в группе, получавшей 3,75 мг/кг м. т., она оставалась на уровне контрольных значений [1].

В исследовании Z. Zhang и соавт. [2] была изучена токсичность микропластика размером 0,5 и 5 мкм на взрослых самцах мышей породы C57BL/6 в возрасте 6–8 нед, которые получали микропластик на протяжении восьми недель в дозе 0,5 мг на особь. Морфология и размер частиц были подтверждены с помощью сканирующего электронного микроскопа и анализа интенсивности на приборе Nano ZSP Expert Colloid & Protein. Химический состав частиц проверяли методом инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье. Воздействие микропластика размером 0,5 мкм приводило к чрезмерному накоплению частиц в органах и вызывало более серьёзное воспаление и механические повреждения в селезёнке, почках, сердце, лёгких и печени, чем воздействие частиц размером 5 мкм. Вместе с тем воздействие частиц размером 5 мкм приводило к дисфункции кишечного барьера, а также дисбиозу кишечника и метаболическим расстройствам [2].

S. Ma и соавт. [3] показали, что микропластики пластика усугубляют течение фульминантной печёночной недостаточности. Анализ флуоресцентно меченных частиц микропластика с помощью сканирующего электронного микроскопа и методом инфракрасной спектроскопии с преобразованием Фурье показал образование правильных сферических частиц сходного размера (≈ 500 нм). В исследовании с использованием самцов мышей линии BALB/c в возрасте 7–8 нед, которым в течение 14 дней ежедневно вводили в желудок 200 мкл дистиллированной воды или 2 мг/мл суспензии микропластика, показано, что введение микропластика значительно снизило выживаемость мышей (с 80 до 20%) за 96 ч. Воздействие микропластика также существенно повысило уровень каспазы-3 в печени и увеличило уровень малонового диальдегида, уровни провоспалительных цитокинов IL-1 β и IL-6 в плазме по сравнению с контрольной группой животных. Кроме того, предварительное воздействие микропластика существенно снижало активность каталазы, супероксиддисмутазы и общую антиоксидантную способность печени [3].

Тем не менее авторы, акцентируя внимание на токсикологических эффектах, оставляют без внимания важные аспекты кинетики, распределения и выведения микропластика из организма. Мы обнаружили лишь несколько исследований, оценивающих накопление микропластика в биологических системах. Например, Y. Deng и соавт. [4] изучали накопление микропластика у пятидневных самцов мышей линии ICR, используя частицы 5 и 20 мкм. Размер частиц подтверждали с помощью сканирующего электронного микроскопа (СЭМ). По пять мышей из каждой группы, получавшей микропластики пластика размером 5 и 20 мкм, умерщвляли через 1; 2; 4; 7; 14; 21 и 28 дней после начала воздействия. Обнаружено, что микропластики 5 и 20 мкм со временем накапливаются в тканях, образуя отдельные флуоресцентные точки в печени, почках и кишечнике мышей, при этом кинетика накопления в тканях и характер распределения в значительной степени зависят от размера частиц. Для частиц обоих размеров концентрация в тканях стабилизировалась в течение первых 14 дней после начала введения во всех трёх органах [4].

S. Lee и соавт. [5] исследовали динамику распределения и токсичность полиэтиленовых микропластиков, используя мышей линии ICR обоих полов. Животным контрольной группы вводили кукурузное масло, а экспериментальным группам — полиэтиленовые микропластики в виде шариков диаметром

5 мм в кукурузном масле в дозах 500; 1000 и 2000 мг/кг. В конце периода воздействия (28 дней) полиэтиленовые микропластики обнаружили с помощью рамановской спектроскопии в лёгких, двенадцатиперстной и подвздошной кишке, желудке и сыворотке крови. У животных, получавших микропластик в низкой и средней дозировках (500 и 1000 мг/кг), частиц не нашли. При введении высокой дозы микропластика (2000 мг/кг) выявили частицы в лёгких, желудке, двенадцатиперстной и подвздошной кишке, сыворотке крови. В печени, селезёнке, почках и сердце частиц не обнаружили. Гистопатологическое исследование показало гранулематозное воспаление с лимфоцитами и моноцитами в альвеолах [5].

В мировой научной литературе имеются данные и о накоплении микропластиков в организме человека. Н.А. Leslie и соавт. [6] обнаружили микропластик в крови человека, исследуя венозную кровь 22 добровольцев. Показано, что у 77% доноров (17 из 22) в крови присутствовало определяемое количество микропластиков [6]. L. Zhu и соавт. [7] идентифицировали частицы пластика в человеческой плаценте из образцов, предоставленных 17 здоровыми женщинами-добровольцами в возрасте от 23 до 36 лет. Для выявления и идентификации микропластиков использовали системы химической визуализации LD-IR (8700 LD-IR, Agilent Technologies, США). Было найдено 149 частиц микропластика, среднее содержание составило $2,7 \pm 2,65$ частиц/г, диапазон — от 0,28 до 9,55 частиц/г. Результаты исследования показывают, что плод может подвергаться воздействию микропластика от матери [7]. S. Huan и соавт. [8] обнаружили микропластик в мокроте у 22 пациентов с лёгочными патологиями, используя оптический микроскоп HDS-200G, Shanghai Yixiang, последующий анализ методом инфракрасной микроспектроскопии с преобразованием Фурье (FT-IR Microscope Spotlight 400, PerkinElmer) и лазерный инфракрасный спектрометр Agilent 8700 (LDIR). Среднее соотношение пластиковых и непластиковых частиц в 22 образцах составило 32 и 68% соответственно. Был обнаружен 21 вид микропластика, наиболее распространённым оказался полиуретан (33,95%). Большинство микропластиков, найденных в мокроте, имели размер менее 500 мкм [8].

Несмотря на значительное число публикаций, исследования, посвящённые механизмам накопления микропластика в биологических системах, зачастую остаются на уровне описания наблюдаемых эффектов без предоставления количественных данных, или, по крайней мере, полуколичественных данных. Такая оценка состояния биологических образцов достаточно субъективна и не даёт ясного представления о степени накопления микропластика в живом организме. Это обуславливает необходимость разработки методов, способных обеспечить объективную оценку степени накопления микропластика в организме.

В связи с вышеизложенным *целью настоящего исследования* стала разработка и апробация в условиях острого эксперимента полуколичественного метода оценки распределения и накопления микропластика в организме.

Материалы и методы

Исследование было выполнено на крысах-самках линии Wistar, которые были приобретены в питомнике «Рапполово» и содержались в условиях специально организованного вивария с соблюдением норм законодательства Российской Федерации в отношении лабораторных животных. Уход за животными осуществлялся в соответствии с ГОСТ 33215–2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур». Все экспериментальные исследования выполнены в соответствии с Директивой Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/ЕС от 22.09.2010 г. о защите животных, используемых для научных целей. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом учреждения, № 01-10 от 09.10.2024 г.

В исследовании использованы 12 крыс-самок (масса тела 180–200 г, возраст 3 мес). Животные были разделены на четыре группы по три особи в каждой. Каждое животное было маркировано индивидуальной меткой на хвосте и содержалось в оптимальных условиях с достаточным количеством корма и воды. В эксперименте использовали микропластики полистирола, меченные флуоресцентным красителем (длина волны пика возбуждения 488 нм, длина волны пика эмиссии 518 нм), сферической формы, диаметром 100; 500 и 1000 нм; форма препарата — 1%-я суспензия в физиологическом растворе (QiuHuan, КНР). Суспензии микропластиков пластика каждого размера вводили внутрисердечно однократно объёмом по 50 мкл на особь, группы различались по размеру вводимых частиц: МП 100, МП 500 и МП 1000 соответственно. Для разбиения микропластиков пластика использовали ультразвуковую ванну УЗО-«МЕДЭЛ» и ротатор BioSan, контроль состояния вводимой суспензии проводили со светофильтром EGFP в имиджере Celena X. Контрольным веществом служил физиологический раствор, вводимый крысам аналогичным образом в объёме 50 мкл. Внутрисердечное введение, не являющееся естественным путём предположительного поступления микропластиков пластика в организм [1, 3, 5], было выбрано нами в данном исследовании, поскольку метод позволяет точно контролировать дозировку и оценить распределение микропластиков пластика в организме без риска задержки большей доли микропластиков в кишечнике животных. Имеются данные, согласно которым 10% проглатываемых наночастиц пластика размером 60 нм оседают в кишечнике крыс [9]. Следует отметить, что микропластики, имеющие больший размер, обладают менее эффективной кинетикой [10]. Микропластик с максимальным размером более 150 мкм не проникает в системный кровоток [11]. В исследовании К.Е. Сагг и соавт. [12] только 0,3% перорально введённых латексных частиц с наибольшим размером 2 мкм преодолевали кишечный эпителий [12]. Таким образом, выбор внутрисердечного введения был обусловлен необходимостью минимизировать влияние ограниченной абсорбции микропластиков при пероральном введении.

По завершении эксперимента, через пять часов, крыс подвергали декапитации, отбирали образцы тканей из трёх органов (почки, печень, лёгкие) для дальнейшего гистологического анализа. Ткани хранили при температуре минус 70 °С до подготовки срезов на криостате Leica CM 1520 (Leica BioSystems, Германия) с толщиной 10 мкм, затем фотографировали под увеличением 400× со светофильтром EGFP в имиджере Celena X (Logos Biosystems, Южная Корея).

Поскольку каждая экспериментальная группа состояла только из трёх животных, для повышения надёжности полученных данных отбирали по четыре образца печени в разных участках органа от каждого животного, что в сумме дало 12 образцов для анализа. С целью минимизации вероятности ошибок и предвзятости в процессе анализа работы проводили независимо два исследователя. Для полуколичественной оценки степени накопления микропластика в биологических образцах оценивали количество флуоресцирующих объектов и флуоресцирующих тканевых элементов не менее чем в 30 случайно выбранных полях зрения при увеличении 400× для каждого образца, полученного от одного животного. Результаты усредняли. Флуоресцирующими объектами считали видимые элементы, обладающие чёткими контурами и формой, близкой к сферической, а также конгломераты таких элементов. Если чёткий контур объекта не поддавался идентификации, но наблюдалось выраженное свечение в определённой области, этот сектор классифицировали как тканевый элемент. Использовали следующую ранговую шкалу: 0 — отсутствие флуоресцирующих объектов либо тканевых элементов в исследуемом образце, 1 — малое количество флуоресцирующих объектов либо тканевых элементов, 2 — среднее количество флуоресцирующих объектов либо тканевых элементов, 3 — большое количество флуоресцирующих объектов либо тканевых элементов.

Статистическую обработку результатов полуколичественной оценки содержания микропластика в биологических образцах с помощью ранговой системы оценки выполняли методом Bootstrap с поправкой Холма – Бонферрони на языке Python 3.10. Различия признавали достоверными при уровне значимости $p < 0,05$. Данный подход позволил снизить влияние ограниченного размера выборки, обеспечивая при этом строгие критерии статистической значимости [13].

Результаты

Как показано на рис. 1 (см. на вклейке), визуально в печени животных контрольной группы отмечалась равномерная, умеренная флуоресценция гепатоцитов. Не было обнаружено ярко флуоресцирующих объектов сферической формы, их конгломератов либо флуоресцирующих тканевых элементов. В группах МП 100 и МП 500 флуоресцирующие объекты сферической формы в большей степени встречались в области печёночных триад, в группе МП 1000 большое число объектов образовывали конгломераты неправильной формы. При визуальной оценке образцов можно предположить, что наибольшее число МП обнаруживается в органе при введении частиц размером 1000 нм.

Полуколичественная оценка показала, что количество флуоресцирующих объектов и их конгломератов в тканях печени животных групп МП 100, МП 500 и МП 1000 статистически значимо отличается от аналогичного показателя в печени контрольных животных ($p = 0,001$ для каждой из упомянутых групп). Количество флуоресцирующих объектов и их конгломератов одинаково для групп МП 100 и МП 500 ($p = 0,372$), но различается между группами МП 100 и МП 500 по отношению к группе МП 1000 ($p = 0,001$ для каждой из упомянутых групп). Интенсивность флуоресцирующих элементов в тканях печени животных групп МП 100, МП 500 и МП 1000 статистически значимо отличается от показателя в печени контрольных животных ($p = 0,001$ для каждой из упомянутых групп). Количество флуоресцирующих объектов и их конгломератов также различно между группами МП 100 и МП 500 ($p = 0,001$), МП 100 и МП 1000 ($p = 0,049$), МП 500 и МП 1000 ($p = 0,001$).

Визуально в тканях почек контрольной группы наблюдалась равномерная, умеренная флуоресценция поля зрения (рис. 2, см. на вклейке). В опытных группах встречались единичные флуоресцирующие тканевые элементы с нечёткими краями, но сферической формы – преимущественно в корковом слое. При визуальной оценке образцов не было установлено явной зависимости от размера введённых частиц.

При полуколичественной оценке выявлено, что в ткани почек количество флуоресцирующих объектов и их конгломератов статистически значимо отличается от контроля у животных групп МП 100, МП 500 и МП 1000 ($p = 0,001$, $p = 0,029$ и $p = 0,0001$ соответственно). Также зафиксированы различия между группами МП 100 и МП 500 ($p = 0,001$), МП 100 и МП 1000 ($p = 0,001$), МП 500 и МП 1000 ($p = 0,009$). В ткани почек интенсивность флуоресцирующих тканевых элементов статистически значимо отличается от контроля у животных групп МП 100, МП 500 и МП 1000 ($p = 0,001$ для каждой группы). Также зафиксированы различия между группами МП 100 и МП 500 ($p = 0,001$), МП 100 и МП 1000 ($p = 0,001$), но не между группами МП 500 и МП 1000 ($p = 0,648$).

Визуально в тканях лёгких животных контрольной группы наблюдали равномерную умеренную флуоресценцию в поле зрения (рис. 3, см. на вклейке). При исследовании тканей животных групп МП 100 различались флуоресцирующие объекты размером 2–6 мкм, расположенные преимущественно вблизи ацинусов и альвеолярных ходов. У крыс группы МП 500 ткани лёгких имели равномерную, умеренную флуоресценцию в полях зрения, встречались редкие флуоресцирующие объекты и их конгломераты. При исследовании лёгких животных группы МП 1000 в тканях обнаруживались яркие крупные флуоресцирующие объекты,

сосредоточенные также у ацинусов и альвеолярных ходов. На основании визуальной оценки можно предположить, что наибольшее число МП обнаруживается в органе при введении частиц размером 1000 нм.

Полуколичественный анализ показал, что в ткани лёгких количество флуоресцирующих объектов и их конгломератов статистически значимо отличается от контроля у животных групп МП 100, МП 500 и МП 1000 ($p = 0,001$ для каждой из групп). Также зафиксированы различия между группами МП 100 и МП 500 ($p = 0,003$), МП 100 и МП 1000 ($p = 0,001$), МП 500 и МП 1000 ($p = 0,001$). В ткани лёгких интенсивность флуоресцирующих тканевых элементов статистически значимо отличается от контроля у животных групп МП 100, МП 500 и МП 1000 ($p = 0,001$ для каждой группы). Также зафиксированы различия между группами МП 100 и МП 500 ($p = 0,047$), МП 100 и МП 1000 ($p = 0,001$) и МП 500 и МП 1000 ($p = 0,001$).

Обсуждение

Микрочастицы пластика размером 100, 500 и 1000 нм при внутрисердечном введении обнаруживаются в лёгких, почках и печени экспериментальных животных (см. рис. 1–3 на вклейке), локализуются вокруг печёночных триад, в корковом слое почек и в области ацинусов и альвеолярных ходов лёгких. Визуально невозможно однозначно установить, зависит ли характер распределения и формы объектов от концентрации и размера введённых микрочастиц. Полученного морфологического описания недостаточно для объективной оценки накопления МП в тканях, что требует применения дополнительных методов анализа.

Полуколичественный метод оценки широко применяется в медицине и биологии для анализа биоматериала, если абсолютная точность не критична либо методы количественной оценки слишком сложны, дороги, требуют больше времени. Полуколичественные методы позволяют представить данные в виде градаций интенсивности или выраженности, балльной шкалы, процентного соотношения при наличии группировки значений в диапазоны. Полуколичественная оценка обычно основывается на косвенных или относительных показателях: по уровню окрашивания, интенсивности сигнала, визуальной оценке под микроскопом и др. Пример эффективного использования метода – полуколичественная оценка морфологических изменений в биоптатах печени при хронических вирусных гепатитах [14, 15]. Активно используется полуколичественное определение уровня белка в моче с помощью тест-полосок [16]; в иммуногистохимии – для полуколичественной визуальной оценки синтеза регуляторного белка PDCD4 в гистологических срезах ткани с детекцией в ядре и цитоплазме [17].

В настоящем исследовании мы использовали балльную шкалу оценки, с помощью которой выявлено следующее. В тканях печени наибольшее число МП обнаруживаются при введении частиц размером 1000 нм, что подтверждает результаты визуальной оценки. Вместе с тем существенно возрастает интенсивность флуоресцирующих тканевых элементов в печени при введении частиц размером 100 нм. В тканях почек, несмотря на результат визуальной оценки, наибольшее число МП обнаруживается при введении частиц размером 100 нм. Существенно возрастает интенсивность флуоресцирующих тканевых элементов в печени при введении частиц размером 500 и 1000 нм. В тканях лёгких наибольшее число МП обнаруживают при введении частиц размером 1000 нм, что подтверждает результаты визуальной оценки, и там же возрастает интенсивность флуоресцирующих тканевых элементов. Вероятно, большая интенсивность флуоресценции тканевых элементов обусловлена тем, что микрочастицы пластика образуют конгломераты, которые, сосредотачиваясь в тканях, приводят к искажению оптических лучей. Это искажение затрудняет визуальную идентификацию этих флуоресцирующих элементов как сферических МП либо их конгломератов неправильной формы.

Заключение

Показано, что при внутрисердечном введении аутобредным крысам-самкам микропластики пластика размером 100; 500 и 1000 нм в объёме 50 мкл обнаруживаются в лёгких, почках и печени экспериментальных животных, локализуясь в специфических тканевых структурах, таких как печёночные триады, корковый слой почек, области ацинусов и альвеолярных ходов лёгких.

Полуколичественная оценка распределения микропластиков в изученных органах, безусловно, дала более глубокое понимание наличия и относительного количества микропластиков в организме лабораторных животных

по сравнению с описательной оценкой. Однако данный метод имеет значительные ограничения: он не обеспечивает точных количественных данных, результаты могут варьироваться в зависимости от условий и опыта исследователя, что делает их более субъективными и менее воспроизводимыми. Кроме того, метод не учитывал конгломераты микропластиков, что критично, так как токсичность частиц может зависеть от их размеров.

С учётом вышесказанного полуколичественный метод может быть применим для предварительного анализа особенностей распределения микропластиков пластика в организме, однако требуется разработка количественного метода оценки.

Литература

(п.п. см. 1–13 см. References)

14. Киясов А.П., Созинов А.С., Гумерова А.А., Фатхеева Л.С. Способ полуквантитативной оценки изменений в биоптатах печени при хронических вирусных гепатитах. Патент РФ № 2227298 С2; 2002. <https://elibrary.ru/nhkqga>
15. Гушин Я.А. Применение методов морфометрии для оценки гистопатологии в доклинических исследованиях. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2024; (1): 32–41. <https://doi.org/10.57034/2618723X-2024-01-04> <https://elibrary.ru/mzmdwj>
16. Левин Ф.Б. Тест-система для определения белка в моче. Патент РФ № 94012324 А1; 1996.
17. Рубцов В.А., Керученко М.А., Шиманская А.Г., Парыгина М.Н., Мозговой С.И., Поморгайло Е.Г. и др. Способ полуквантитативной оценки белка PDCD4 иммуногистохимическим методом. Патент РФ № 2706005 С1; 2018. <https://elibrary.ru/uujcus>

References

1. Farag A.A., Youssef H.S., Sliem R.E., El Gazzar W.B., Nabil N., Mokhtar M.M., et al. Hematological consequences of polyethylene microplastics toxicity in male rats: Oxidative stress, genetic, and epigenetic links. *Toxicology*. 2023; 492: 153545. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2023.153545>
2. Zhang Z., Chen W., Chan H., Peng J., Zhu P., Li J., et al. Polystyrene microplastics induce size-dependent multi-organ damage in mice: Insights into gut microbiota and fecal metabolites. *J. Hazard. Mater.* 2024; 461: 132503. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.132503>
3. Ma S., Xiao Y., Zhang X., Xu Y., Zhu K., Zhang K., et al. Dietary exposure to polystyrene microplastics exacerbates liver damage in fulminant hepatic failure via ROS production and neutrophil extracellular trap formation. *Sci. Total Environ.* 2024; 907: 167403. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2023.167403>
4. Deng Y., Zhang Y., Lemos B., Ren H. Tissue accumulation of microplastics in mice and biomarker responses suggest widespread health risks of exposure. *Sci. Rep.* 2017; 7: 46687. <https://doi.org/10.1038/srep46687>
5. Lee S., Kang K.K., Sung S.E., Choi J.H., Sung M., Seong K.Y., et al. Toxicity study and quantitative evaluation of polyethylene microplastics in ICR mice. *Polymers*. 2022; 14(3): 402. <https://doi.org/10.3390/polym14030402>
6. Leslie H.A., van Velzen M.J.M., Brandsma S.H., Vethaak A.D., Garcia-Vallejo J.J., Lamoree M.H. Discovery and quantification of plastic particle pollution in human blood. *Environ. Int.* 2022; 163: 107199. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107199>
7. Zhu L., Zhu J., Zuo R., Xu Q., Qian Y., An L. Identification of microplastics in human placenta using laser direct infrared spectroscopy. *Sci. Total Environ.* 2023; 856(Pt. 1): 159060. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.159060>
8. Huang S., Huang X., Bi R., Guo Q., Yu X., Zeng Q., et al. Detection and analysis of microplastics in human sputum. *Environ. Sci. Technol.* 2022; 56(4): 2476–86. <https://doi.org/10.1021/acs.est.1c03859>
9. Hillery A.M., Jani P.U., Florence A.T. Comparative, quantitative study of lymphoid and non-lymphoid uptake of 60 nm polystyrene particles. *J. Drug Target.* 1994; 2(2): 151–6. <https://doi.org/10.3109/10611869409015904>
10. Braakhuis H.M., Park M.V., Gosens I., De Jong W.H., Cassee F.R. Physicochemical characteristics of nanomaterials that affect pulmonary inflammation. *Part. Fibre. Toxicol.* 2014; 11: 18. <https://doi.org/10.1186/1743-8977-11-18>
11. Powell J.J., Faria N., Thomas-McKay E., Pele L.C. Origin and fate of dietary nanoparticles and microparticles in the gastrointestinal tract. *J. Autoimmun.* 2010; 34(3): J226–33. <https://doi.org/10.1016/j.jaut.2009.11.006>
12. Carr K.E., Smyth S.H., McCullough M.T., Morris J.F., Moyes S.M. Morphological aspects of interactions between microparticles and mammalian cells: intestinal uptake and onward movement. *Prog. Histochem. Cytochem.* 2012; 46(4): 185–252. <https://doi.org/10.1016/j.proghi.2011.11.001>
13. Romano J.P., Wolf M. Multiple testing of one-sided hypotheses: combining bonferroni and the bootstrap. In: Kreinovich V., Sriboonchitta S., Chakpitak N., eds. *Predictive Econometrics and Big Data. TES 2018. Studies in Computational Intelligence, vol 753*. Cham: Springer; 2017. https://doi.org/10.1007/978-3-319-70942-0_4
14. Kijarov A.P., Sozinov A.S., Gumerova A.A., Fatkhееva L.S. Method for producing semi-quantitative estimates of changes in chronic viral hepatitis-injured liver bioplates. Patent RF № 2227298; 2002. <https://elibrary.ru/nhkqga> (in Russian)
15. Guschin Ya.A. Application of morphometry methods to assess histopathology in preclinical studies. *Лабораторные животные для научных исследований*. 2024; (1): 32–41. <https://doi.org/10.57034/2618723X-2024-01-04> <https://elibrary.ru/mzmdwj> (in Russian)
16. Levin F.B. Test system for determining protein in urine. Patent RF № 94012324 А1; 1996. (in Russian)
17. Rubtsov V.A., Keruchenko M.A., Shimanskaya A.G., Parygina M.N., Mозговой S.I., Pomorgajlo E.G., et al. Method for semiquantitative evaluation of pdc4 protein by immunohistochemical method. Patent RF № 2706005 С1; 2018. <https://elibrary.ru/uujcus> (in Russian)

Сведения об авторах

Ахмадеев Айдар Ринатович, мл. науч. сотр. лаб. токсикологии отд. токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия. E-mail: dgaar87@gmail.com

Рябова Юлия Владимировна, канд. мед. наук, зав. лаб. токсикологии отд. токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия. E-mail: ryabovayuvl@yandex.ru

Каримов Денис Олегович, канд. мед. наук, зав. отд. токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия. E-mail: karimovdo@gmail.com

Хуснутдинова Надежда Юрьевна, науч. сотр. лаб. токсикологии отд. токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия. E-mail: h-n-yu@yandex.ru

Кудояров Эльдар Ренатович, мл. науч. сотр. лаб. генетики отд. токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия. E-mail: e.kudoyarov@yandex.ru

Валова Яна Валерьевна, канд. биол. наук, зав. лаб. генетики отд. токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, Уфа, Россия. E-mail: Q.juk@yandex.ru

About the authors

Aidar R. Akhmadeev, Junior Researcher, Laboratory of Toxicology, Department of Toxicology and Genetics with an experimental laboratory animal clinic, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, 450106, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-7309-4990> e-mail: dgaar87@gmail.com

Yuliya V. Ryabova, PhD (Medicine), Head of the Laboratory of Toxicology, Department of Toxicology and Genetics with an experimental laboratory animal clinic, Ufa research institute of occupational health and human ecology, Ufa, 450106, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-2677-0479> e-mail: ryabovayuvl@yandex.ru

Denis O. Karimov, PhD (Medicine), Head of the Department of Toxicology and Genetics with an experimental laboratory animal clinic, Ufa research institute of occupational health and human ecology, Ufa, 450106, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-0039-6757> e-mail: karimovdo@gmail.com

Nadezhda Yu. Khusnutdinova, Researcher, Laboratory of Toxicology, Department of Toxicology and Genetics with an experimental laboratory animal clinic, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, 450106, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-5596-8180> e-mail: h-n-yu@yandex.ru

Eldar R. Kudoyarov, Junior Researcher, Laboratory of Genetics, Department of Toxicology and Genetics with an experimental laboratory animal clinic, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, 450106, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-2092-1021> e-mail: e.kudoyarov@yandex.ru

Yana V. Valova, PhD (Biology), Head of the Laboratory of Genetics, Department of Toxicology and Genetics with an experimental laboratory animal clinic, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology, Ufa, 450106, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-6605-9994> e-mail: Q.juk@yandex.ru

К статье А.Р. Ахмадеева и соавт.
To the article by Aidar R. Akhmadeev et al.

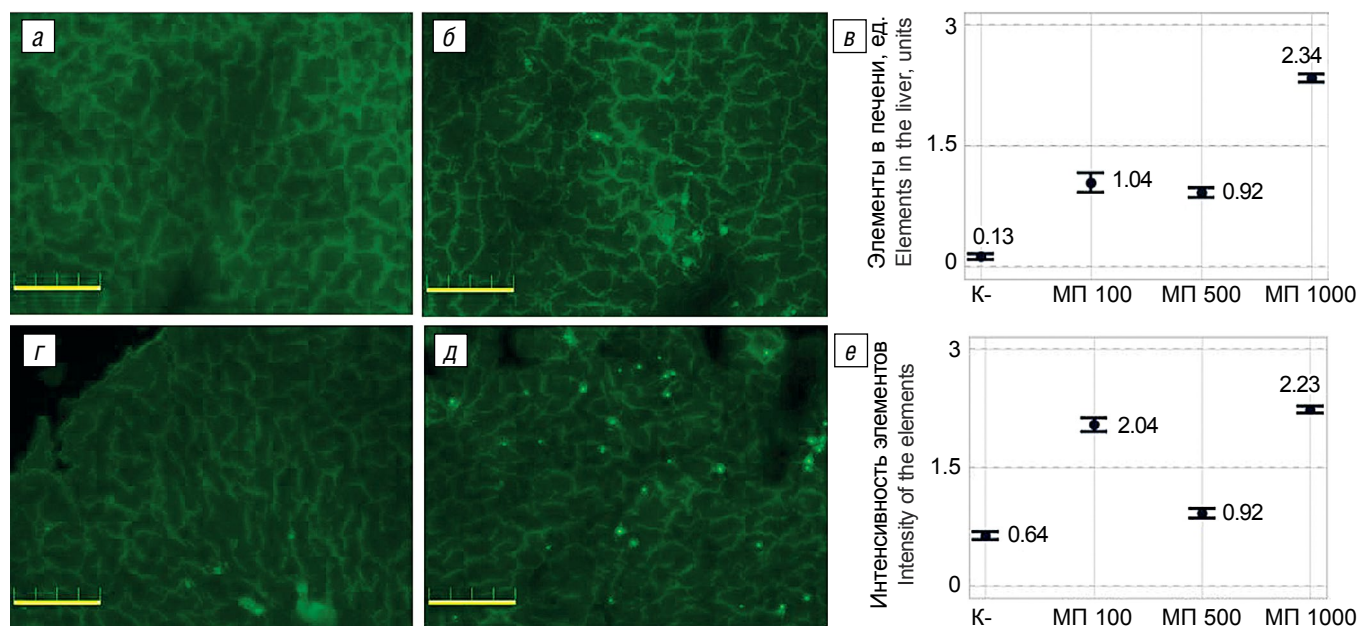


Рис. 1. Микрофотографии срезов ткани печени животных: контрольной группы (а), группы МП 100 (б), группы МП 500 (в), группы МП 1000 (г). Увеличение 200×. Представленные графики отражают количество флуоресцирующих объектов и их конгломератов в ткани печени контрольных животных и животных, подвергнутых воздействию микропластиц пластика разных размеров (д); интенсивность флуоресцирующих тканевых элементов в печени контрольных животных и животных, подвергнутых воздействию микропластиц пластика разных размеров (е).

Fig. 1. Microphotographs of liver tissue sections from animals: control group (a), “МП 100” (б), “МП 500” (в), “МП 1000” (г). 200×. The presented graphs show the number of fluorescent objects and their conglomerates in the liver tissue of control animals and animals exposed to microplastic particles of different sizes (д); the intensity of fluorescent tissue elements in the liver of control animals and animals exposed to microplastic particles of different sizes (е).

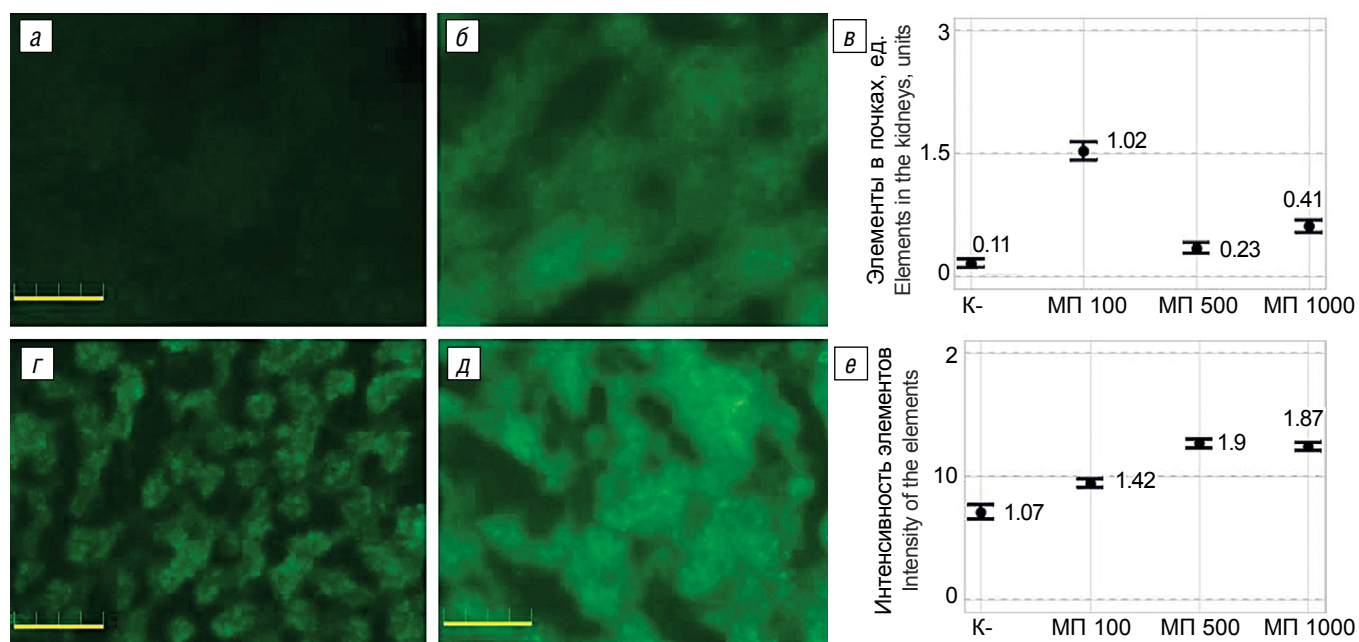


Рис. 2. Микрофотографии срезов ткани почки животных: контрольной группы (а), группы МП 100 (б), группы МП 500 (в), группы МП 1000 (г). Увеличение 200×. Представленные графики отражают количество флуоресцирующих объектов и их конгломератов в ткани почки контрольных животных и животных, подвергнутых воздействию микропластиц пластика разных размеров (д); интенсивность флуоресцирующих тканевых элементов в почке контрольных животных и животных, подвергнутых воздействию микропластиц пластика разных размеров (е).

Fig. 2. Microphotographs of kidney tissue sections from animals: control group (a), “МП 100” (б), “МП 500” (в), “МП 1000” (г). 200×. The presented graphs show the number of fluorescent objects and their conglomerates in the kidney tissue of control animals and animals exposed to microplastic particles of different sizes (д); the intensity of fluorescent tissue elements in the kidney of control animals and animals exposed to microplastic particles of different sizes (е).

К статье А.Р. Ахмадеева и соавт.
To the article by Aidar R. Akhmadeev et al.

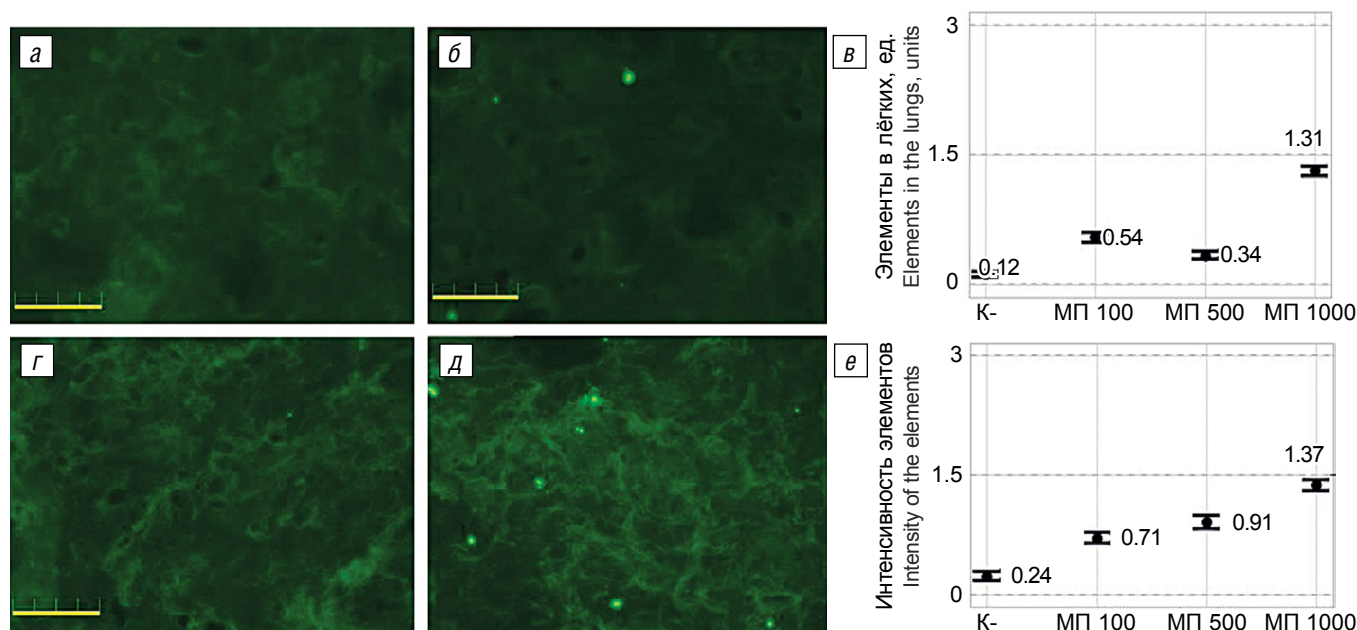


Рис. 3. Микрофотографии срезов ткани лёгкого животных: контрольной группы (а), группы МП 100 (б), группы МП 500 (в), группы МП 1000 (г). Увеличение 200×. Представленные графики отражают количество флуоресцирующих объектов и их конгломератов в лёгочной ткани контрольных животных и животных, подвергнутых воздействию микропластиц пластика разных размеров (д); интенсивность флуоресцирующих тканевых элементов в лёгком контрольных животных и животных, подвергнутых воздействию микропластиц пластика разных размеров (е).

Fig. 3. Microphotographs of lung tissue sections from animals: control group (a), “MP 100” (б), “MP 500” (в), “MP 1000” (г). 200×. The presented graphs show the number of fluorescent objects and their conglomerates in the lung tissue of control animals and animals exposed to microplastic particles of different sizes (д); the intensity of fluorescent tissue elements in the lung of control animals and animals exposed to microplastic particles of different sizes (е).