

References.

1. Circadian rhythms and the molecular clock in cardiovascular biology and disease / Sandra Crnko, Bastiaan C. Du Pré, Joost P G Sluijter, Linda W Van Laake // Nat. Rev. Cardiol. – 2019. – Vol. 16, № 7. – P. 437–447.
2. Zhang, Z. Circadian rhythm of lipid metabolism in health and disease / Z. Zhang, X. Haoran, Min-Dian Li // Small Methods. – 2019. – P. 1900601.
3. Maternal and Early-Life Circadian Disruption Have Long-Lasting Negative Consequences on Offspring Development and Adult Behavior in Mice / B. L. Smarr, A. D. Grant, L. Perez [et al.] // Sci. Rep. – 2017. – P. 3326.
4. Disruption of paternal circadian rhythm affects metabolic health in male offspring via nongerm cell factors / Maximilian Lassi, Archana Tomar, Gemma Comas-Armangué [et al.] // Sci. Adv. – 2021. – Vol. 7. – eabg6424.
5. Circadian rhythm and its association with birth and infant outcomes: research protocol of a prospective cohort study / Satvinder Kaur, Ai Ni Teoh, Nurul HusnaMohd Shukri [et al.] // BMC Pregnancy Childbirth. – 2020. – Vol. 20, № 1. – P. 96.
6. Chien-Ning Hsu. Light and Circadian Signaling Pathway in Pregnancy: Programming of Adult Health and Disease / Chien-Ning Hsu, You-Lin Tain // Int. J. Mol. Sci. – 2020. – Vol. 21, № 6. – P. 2232.
7. Rukovodstvo po provedeniyu doklinicheskikh issledovanij lekarstvennyh sredstv. – Moskva : Grif i K, 2012. – Ch. 1. – 944 s.

Поступила в редакцию 07.07.2025.

DOI 10.52368/2078-0109-2025-61-4-81-85

УДК 632.15:616-091.8

**ПОЛУКОЛИЧЕСТВЕННАЯ ОЦЕНКА РАСПРЕДЕЛЕНИЯ
ЧАСТИЦ МИКРОПЛАСТИКА РАЗЛИЧНОГО РАЗМЕРА В ПЕЧЕНИ КРЫС**

*Хмель А.О. ORCID ID 0009-0008-3068-3961, *Кудояров Э.Р. ORCID ID 0000-0002-2092-1021,

*Валова Я.В. ORCID ID 0000-0001-6605-9994, *Хуснудинова Н.Ю. ORCID ID 0000-0001-5596-8180,

*Рябова Ю.В. ORCID ID 0000-0003-2677-0479, *Каримов Д.Д. ORCID ID 0000-0002-1962-2323,

*,**Каримов Д.О. ORCID ID 0000-0003-0039-6757

*ФБУН «Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека»,

г. Уфа, Российская Федерация

**ФГБНУ «Национальный НИИ общественного здоровья имени Н.А. Семашко»,

г. Москва, Российская Федерация

В работе приведены данные исследования распределения микропластиковых частиц разного размера (500 и 1000 нм) в печени подопытных крыс. Для анализа использовался метод полуколичественной оценки с применением флуоресцентного окрашивания. С целью выявления распределения и интенсивности накопления микропластика в тканях животных проводились инъекции частиц с помощью внутрисердечного введения, после чего изучались гистологические образцы с применением микроскопии и сравнительного анализа уровня распределения частиц в печени. Полученные данные выявили четкую зависимость распределения микропластика от его размера: наибольшая концентрация наблюдалась для частиц 1000 нм, что подтверждалось выраженным усилением флуоресценции в этой группе. Установлено, что более крупные частицы (1000 нм) распределяются в печени в существенно больших количествах по сравнению с частицами 500 нм и контрольными образцами, что подчеркивает влияние размера частиц на их распределение в организме.

Ключевые слова: эксперимент, крысы, микропластик, печень, полукаличественный анализ, распределение, размер.

**SEMI-QUANTITATIVE ASSESSMENT OF THE DISTRIBUTION
OF MICROPLASTIC PARTICLES OF DIFFERENT SIZE IN THE LIVER OF RAT**

*Khmel A.O., *Kudoyarov E.R., *Valova Ya.V., *Khusnudinova N.Yu.,

*Ryabova Yu.V., *Karimov D.D., **Karimov D.O.

*Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Ecology,
Ufa, Russian Federation

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

The paper presents data on a study of the distribution of microplastic particles of different size (500 and 1000 nm) in the liver of experimental rats. A semi-quantitative assessment method using fluorescent staining was used for the analysis. In order to identify the distribution and intensity of microplastic accumulation in animal tissues, particles were injected as intracardiac administration, afterwards the histological samples were studied using microscopy and a comparative analysis of the level of particle distribution in the liver. The data obtained revealed a clear dependence of microplastic accumulation on its size: the highest concentration was observed for 1000 nm particles, which was confirmed by a pronounced increase of fluorescence in this group. It was found that larger particles (1000 nm) are distributed in the liver in significantly larger quantities compared to 500 nm particles and control samples, which emphasizes the influence of particle size on their distribution in the body. **Keywords:** experiment, rats, microplastic, liver, semi-quantitative analysis, distribution, size.

Введение. Современные полимерные материалы отличаются рядом исключительных характеристик: легкостью, высокой прочностью и стойкостью к химическим веществам. Благодаря этим преимуществам они нашли широкое применение в самых разных отраслях. За последние семь десятилетий объемы глобального выпуска пластика увеличились в сотни раз – с 1,5 млн тонн до приблизительно 359 млн тонн в год [1]. Однако наряду с удобством использования изделий из полимеров растет и обеспокоенность их негативным влиянием на экосистемы и живые организмы.

При этом основная часть отходов пластика не перерабатывается, а уничтожается путем сжигания, захоронения на полигонах или попадает в природную среду. В результате свыше 75% мусора, загрязняющего Мировой океан, приходится именно на полимерные отходы. Сегодня масштабы накопления пластикового мусора в природе приобрели угрожающий характер, а загрязнение микропластиком (МП) превратилось в одну из самых острых экологических проблем современности [2].

Под воздействием факторов окружающей среды происходит разложение полимеров и возникают риски образования «вторичного» МП [3]. Частицы синтетических полимеров размером менее 5 мм повсеместно обнаруживаются в водных объектах, почве и атмосфере, создавая серьезные риски для здоровья живых организмов. Проведенными исследованиями показано, что МП может проявлять цитотоксичные свойства, которые во многом зависят от формы, размера частиц и их физико-химических свойств [4].

Особую опасность представляет способность МП накапливаться в тканях и органах сельскохозяйственных животных, через загрязненные корма и воду, что может негативно влиять на их продуктивность. В последние годы появляется все больше исследований, подтверждающих опасность проникновения МП не только в желудочно-кишечный тракт, но и во внутренние органы, в частности в печень, которая выполняет ключевую роль в детоксикации организма [5].

Печень как ключевой орган детоксикации и метаболизма особенно уязвима к накоплению МП. Через систему воротной вены она получает кровь от кишечника, где возможно всасывание мелких пластиковых частиц [6]. Несмотря на большой интерес научного сообщества к проблеме пластикового загрязнения, реальные масштабы распределения МП в живом организме остаются недостаточно изученными, особенно в контексте ветеринарной патологии. Для объективной оценки существующих рисков для здоровья необходимо продолжение исследований по изучению токсичности частиц МП, условий его накопления в различных органах и тканях, а также по токсикокинетике и токсикодинамике его частиц после попадания внутрь организма.

Полуколичественный метод оценки распределения МП в тканях позволяет определить зоны его преимущественного накопления и связать это с возможными патологическими изменениями. Такие исследования особенно актуальны для ветеринарии, поскольку помогают оценить риски для здоровья сельскохозяйственных животных, а также потенциальную передачу МП по пищевой цепи человеку [7].

Цель исследований. В рамках экспериментального исследования провести полуколичественный анализ распределения микрочастиц пластика различного диаметра в печени подопытных крыс.

Материалы и методы исследований. В эксперименте использовали 9 половозрелых самок крыс линии Wistar в возрасте 3 месяцев с массой тела 180-200 г, отобранных методом рандомизации. Индивидуальная маркировка проводилась путем нанесения меток на хвосты животных. Животные были распределены на три группы по трое в каждой: контрольная ("К-") и две экспериментальные, получавшие внутрисердечные инъекции полистирольных микрочастиц диаметром 500 нм ("МП 500") и 1000 нм ("МП 1000"). Контрольной группе вводили эквивалентный объем физиологического раствора. Все процедуры содержания, кормления и выведения животных из эксперимента соответствовали установленным требованиям¹.

В качестве тест-объектов использовали флуоресцентно меченные полистирольные микрочастицы (QiuHuan, Китай) двух размеров: 500 нм (кат. № 7-3-0500) и 1 мкм (кат. № 7-3-0100), представленные в виде 1% водной суспензии с концентрацией 10 мг/мл. Контрольной субстанцией служил стерильный физиологический раствор. Вводимые препараты представляли собой гомогенные суспензии ярко-желтого цвета без выраженного запаха.

Наблюдение за животными продолжалось в течение 5 часов после инъекции, после чего проводили эвтаназию в СО₂-камере. Для гистологического анализа отбирали образцы печени (0,5 см³), которые фиксировали в криогеле и готовили криосрезы толщиной 10 мкм с использованием микротома Leica CM 1520 (LeicaBioSystems, Германия). Флуоресцентную микроскопию выполняли на системе CelenaX (LogosBiosystems, Южная Корея) при 400-кратном увеличении с фильтром EGFP.

Для полуколичественного анализа распределения МП два независимых эксперта оценивали количество флуоресцирующих объектов (четкие сферические частицы и их агрегаты) и тканевых элементов (диффузное свечение) в 90 случайных полях зрения. Интенсивность флуоресценции классифицировали по 4-балльной шкале: 0 – отсутствие сигнала; 1 – слабое свечение; 2 – умерен-

¹ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур», введенный приказом Росстандарта от 09.11.2015 №1732-ст.

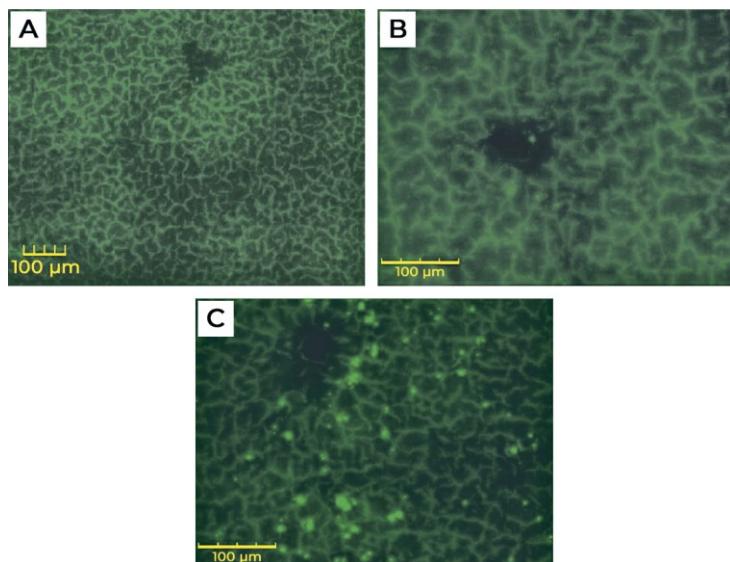
ное свечение; 3 – интенсивное свечение. Аналогичную шкалу применяли для оценки других флуоресцирующих структур в печеночной ткани.

Статистическую обработку данных проводили в программе SPSS Statistics с использованием Bootstrap-анализа с поправкой Холма-Бонферрони для ранговых показателей. Статистически значимыми считали различия при $p < 0,05$.

Результаты исследований. Рисунок 1 демонстрирует обзорные микрофотографии печени, окрашенной флуоресцентным красителем. На изображениях видны светящиеся частицы и их скопления, что подтверждает наличие МП в тканях. При сравнении степени флуоресценции между контрольной группой и группами, подвергнутыми воздействию МП различного размера, наблюдаются существенные различия.

В контрольной группе (рис. 1A) флуоресцентный сигнал был практически не выражен, что свидетельствует об отсутствии значительного накопления МП. В то же время в группе «МП 1000» (рис. 1C) зафиксировано интенсивное свечение, указывающее на высокую концентрацию частиц. В группе «МП 500» (рисунок 1B) флуоресценция оказалась менее выраженной, что может говорить о зависимости распределения МП от размера частиц.

Группа, подвергшаяся воздействию МП размерами 500 нм продемонстрировала статистически значимый рост изучаемого параметра по сравнению с контролем ($p < 0,05$). При этом в группе с более крупными частицами МП (1000 нм) эффект был выражен существенно сильнее, достигая максимальных значений ($p < 0,01$ по сравнению как с контролем, так и с группой «МП 500»).



А – контрольная группа (без воздействия микропластика);
В – группа с частицами МП размером 500 нм; С – группа с частицами МП размером 1000 нм.

Рисунок 1 – Микрофотографии печени крыс, полученные после обработки флуоресцентным красителем. Увеличение x400

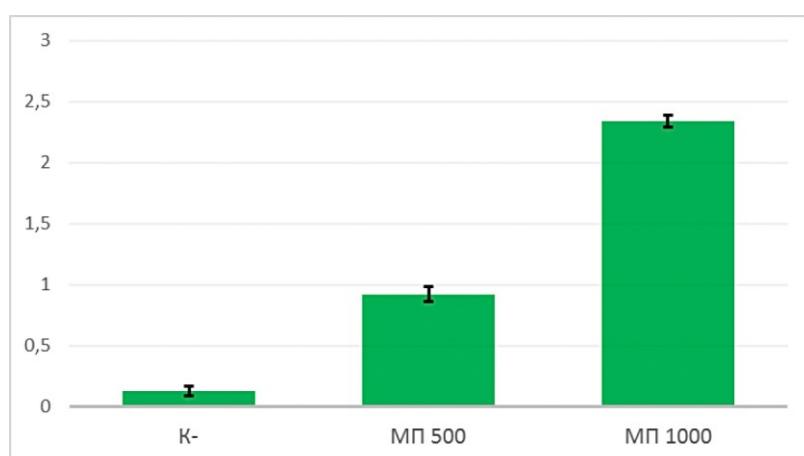


Рисунок 2 – Сравнительный анализ содержания микрочастиц пластика в печеночной ткани подопытных крыс в различных группах

Анализ флуоресцентного сигнала тканей печени продемонстрировал зависимость от размерных характеристик МП (рисунок 3). В группе контроля (К-) наблюдались статистически значимо более низкие показатели ($p<0,05$) по сравнению с экспериментальными группами.

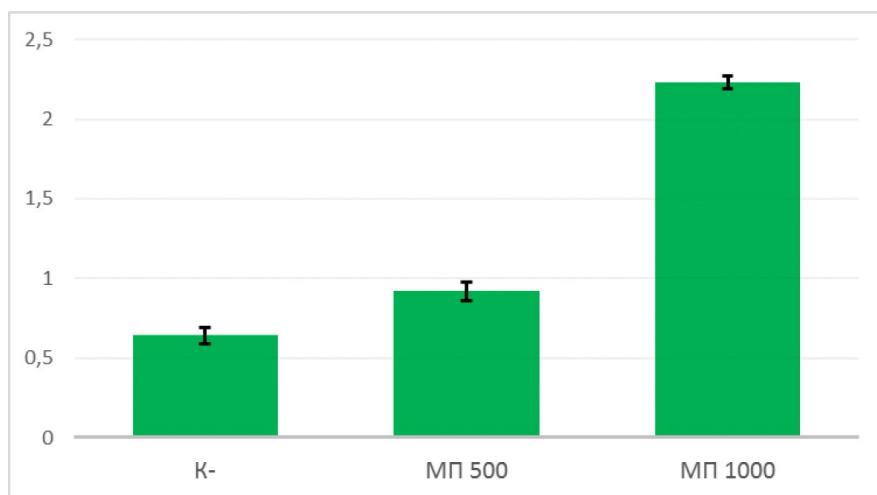


Рисунок 3 – Уровень флуоресцентного свечения структурных компонентов печеночной ткани у крыс

Экспозиция МП размером 500 нм вызвала статистически значимое увеличение флуоресценции тканевых элементов по сравнению с контролем ($p<0,05$). При этом в группе с МП 1000 нм наблюдалось более выраженное возрастание значений, существенно превышающее как контрольные данные, так и результаты группы «МП 500» ($p<0,01$).

Проведенные исследования показали, что степень накопления МП в печени зависит от размера частиц. Наиболее интенсивное распределение наблюдается с частицами размером 1000 нм, что может быть связано с тем, что, хотя они и хуже проникают в гепатоциты, зато активно фагоцитируются макрофагами печени, что приводит к их длительной задержке в ткани [8]. Кроме того, имеются сведения, что такие крупные частицы способны формировать устойчивые агрегаты, которые не могут быть эффективно удалены из органа [9].

Особую значимость полученные данные имеют в контексте потенциальных токсикологических эффектов. Повышенное накопление частиц 1000 нм может иметь более серьезные последствия для печени по сравнению с более мелкими частицами. Показано, что крупные агрегаты способны вызывать механическое повреждение гепатоцитов, провоцировать развитие воспалительных реакций и, при длительной экспозиции, способствовать развитию фиброзных изменений [10].

Полученные результаты подчеркивают необходимость дальнейших исследований, направленных на изучение долгосрочных эффектов накопления МП разного размера, оценку влияния хронической экспозиции на функции печени, а также разработку методов профилактики и коррекции потенциальных нарушений, вызванных накоплением МП в организме.

Таким образом, размер МП является важным фактором, определяющим его распределение в печени, что необходимо учитывать при оценке экологических и ветеринарных рисков, связанных с загрязнением окружающей среды.

Заключение. Проведенные исследования показали, что при поступлении в организм частиц микропластика степень его распределения в печени напрямую зависит от размера частиц. Наиболее интенсивное поступление микропластика в печень наблюдается с частицами размером 1000 нм, по сравнению с частицами размером 500 нм. Полученные результаты подтверждают необходимость дальнейшего изучения особенностей распределения частиц микропластика в различных органах и тканях, а также поиска эффективных способов их выведения из организма или нейтрализации.

Conclusion. These studies have shown that when microplastic particles enter the body, their distribution in the liver directly depends on their size. The highest rate of microplastic uptake into the liver is observed with particles 1000 nm in size, compared to particles 500 nm in size. These results confirm the need for further study of the distribution of microplastic particles in various organs and tissues, as well as the search for effective methods for their removal from the body or neutralization.

Список литературы.

1. *Microplastics pollution in wastewater: Characteristics, occurrence and removal technologies / X.-T.Bui, T.-D.-H.Vo, P.-T.Nguyen [et al.] // Env Tech &Innov. – 2020. – № 19. – Р. 1–18. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8530313/> (дата обращения 30.04.2025).*
2. Репина, Э. Ф. Предварительная оценка распределения микрочастиц пластика размером 500 нм в органах крыс при однократном поступлении / Э. Ф. Репина, Д. О. Каримов, Э. Р. Кудояров // Медицина труда и экология человека. – 2025. – №. 1. – С. 113–125. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/predvaritelnaya-otsenka-raspredeleniya-mikrochastits-plastika-razmerom-500-nm-v-organah-krys-pri-odnokratnom-postuplenii> (дата обращения: 23.06.2025).
3. Andraday, A. L. *The plastic in microplastics: A review / A. L. Andraday // Marine Pollution Bulletin. – 2017. – № 19. – Р. 12–22. – DOI: 10.1016/j.marpolbul.2017.01.082.*
4. Stock, V., *Uptake and cellular effects of PE, PP, PET and PVC microplastic particles / V. Stock, C. Laurisch, J. Franke // Toxicology in Vitro. – 2020. – № 70 (1). – Р. 105021. – DOI: 10.1016/j.tiv.2020.105021.*
5. *Microplastic-mediated new mechanism of liver damage: From the perspective of the gut-liver axis / X.Wang, K.Deng, P.Zhang [et al.] // Sci Total Environ. – 2024. – № 919. – Р. 170962. – doi: 10.1016/j.scitotenv.2024.170962.*
6. *Nanoplastics and Microplastics May Be Damaging Our Livers / J. Yin, Y. Ju, H. Qian [et al.] // Toxics. – 2022. – № 10. – Р. 586. – doi: 10.3390/toxics10100586.*
7. Prata, J. C. *Microplastics in Terrestrial Domestic Animals and Human Health: Implications for Food Security and Food Safety and Their Role as Sentinels / J. C. Prata, P. Dias-Pereira // Animals (Basel). – 2023. – № 13(4). – Р. 661. – doi: 10.3390/ani13040661.*
8. Prata, J. C. *Microplastics and human health: Integrating pharmacokinetics / J. C. Prata // Critical Reviews in Environmental Science and Technology. – 2023. – Vol. 53, № 16. – Р. 1489–1511. – doi.org/10.1080/10643389.2023.2195798*
9. Zhang, D. *Microplastics are detected in human gallstones and have the ability to form large cholesterol-microplastic heteroaggregates / D.Zhang, C. Wu, Y. Liu // J. Hazard. Mater. – 2024. – № 467. – Р. 133631. – doi: 10.1016/j.jhazmat.2024.133631.*
10. Horvatits, T. *Microplastics detected in cirrhotic liver tissue / T. Horvatits, M. Tamminga, B. Liu // EBioMedicine. – 2022. – Aug. 82. – Р. 104147. – doi: 10.1016/j.ebiom.2022.104147.*

References.

1. *Microplastics pollution in wastewater: Characteristics, occurrence and removal technologies / X.-T.Bui, T.-D.-H.Vo, P.-T.Nguyen [et al.] // Env Tech &Innov. – 2020. – № 19. – Р. 1–18. – URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8530313/> (дата обращения 30.04.2025).*
2. Repina, E. F. *Predvaritelnaya ocenka raspredeleniya mikrochastits plastika razmerom 500 nm v organah krys pri odnokratnom postuplenii / E. F. Repina, D. O. Karimov, E. R. Kudoyarov // Medicina truda i ekologiya cheloveka. – 2025. – №. 1. – С. 113–125. – URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/predvaritelnaya-otsenka-raspredeleniya-mikrochastits-plastika-razmerom-500-nm-v-organah-krys-pri-odnokratnom-postuplenii> (data obrasheniya: 23.06.2025).*
3. Andraday, A. L. *The plastic in microplastics: A review / A. L. Andraday // Marine Pollution Bulletin. – 2017. – № 19. – Р. 12–22. – DOI: 10.1016/j.marpolbul.2017.01.082.*
4. Stock, V., *Uptake and cellular effects of PE, PP, PET and PVC microplastic particles / V. Stock, C. Laurisch, J. Franke // Toxicology in Vitro. – 2020. – № 70 (1). – Р. 105021. – DOI: 10.1016/j.tiv.2020.105021.*
5. *Microplastic-mediated new mechanism of liver damage: From the perspective of the gut-liver axis / X.Wang, K.Deng, P.Zhang [et al.] // Sci Total Environ. – 2024. – № 919. – Р. 170962. – doi: 10.1016/j.scitotenv.2024.170962.*
6. *Nanoplastics and Microplastics May Be Damaging Our Livers / J. Yin, Y. Ju, H. Qian [et al.] // Toxics. – 2022. – № 10. – Р. 586. – doi: 10.3390/toxics10100586.*
7. Prata, J. C. *Microplastics in Terrestrial Domestic Animals and Human Health: Implications for Food Security and Food Safety and Their Role as Sentinels / J. C. Prata, P. Dias-Pereira // Animals (Basel). – 2023. – № 13(4). – Р. 661. – doi: 10.3390/ani13040661.*
8. Prata, J. C. *Microplastics and human health: Integrating pharmacokinetics / J. C. Prata // Critical Reviews in Environmental Science and Technology. – 2023. – Vol. 53, № 16. – Р. 1489–1511. – doi.org/10.1080/10643389.2023.2195798*
9. Zhang, D. *Microplastics are detected in human gallstones and have the ability to form large cholesterol-microplastic heteroaggregates / D.Zhang, C. Wu, Y. Liu // J. Hazard. Mater. – 2024. – № 467. – Р. 133631. – doi: 10.1016/j.jhazmat.2024.133631.*
10. Horvatits, T. *Microplastics detected in cirrhotic liver tissue / T. Horvatits, M. Tamminga, B. Liu // EBioMedicine. – 2022. – Aug. 82. – Р. 104147. – doi: 10.1016/j.ebiom.2022.104147.*

Поступила в редакцию 23.06.2025.