

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2025

Рябова Ю.В.<sup>1</sup>, Хуснутдинова Н.Ю.<sup>1</sup>, Кудояров Э.Р.<sup>1</sup>, Валова Я.В.<sup>1</sup>, Мухаммадиева Г.Ф.<sup>1</sup>, Ахмадеев А.Р.<sup>1</sup>, Каримов Д.О.<sup>1,2</sup>

## Сравнительный анализ накопления микропластика различных размеров в головном мозге крыс на основе автоматизированного морфометрического подхода

<sup>1</sup>ФБУН «Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека», Уфа, 450106, Российская Федерация;<sup>2</sup>ФГБНУ «Национальный научно-исследовательский институт общественного здоровья имени Н.А. Семашко», Москва, 105064, Российская Федерация

### РЕЗЮМЕ

**Введение.** Микрочастицы пластика (МП) представляют собой угрозу для здоровья, однако недостаточно изучены процессы их накопления и распределения в живых организмах, особенно в тканях головного мозга.

**Цель исследования** – сравнительный анализ накопления микрочастиц пластика разного размера (100, 500 и 1000 нм) в головном мозге крыс с применением описательного и количественного подхода.

**Материал и методы.** Крысам-самкам линии Wistar, количеством 12 особей, разделённым на 4 группы, внутрисердечно вводили суспензию флуоресцирующих микрочастиц полистирола (диаметром 100, 500 и 1000 нм) или физиологический раствор (Контроль) объёмом 50 мкл. Накопление микропластика в тканях головного мозга оценивали с использованием флуоресцентной микроскопии с применением описательного подхода и компьютерной программы для количественной оценки содержания микрочастиц и их конгломератов. Данные анализировали методом Bootstrap с поправкой Холма–Бонферрони, значимость различий определялась при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Обнаружено, что флуоресцирующие микрочастицы пластика накапливаются преимущественно в коре головного мозга, причем группа «МП 1000» демонстрировала большее количество чётко очерченных конгломератов по сравнению с группами «МП 100» и «МП 500». Плотность микрочастиц пластика также была выше в экспериментальных группах по сравнению с контролем, особенно в группе «МП 1000».

**Ограничения исследования.** Исследование было ограничено изучением распределения микрочастиц пластика трех размеров в токсикологическом эксперименте на одном виде животных (лабораторная крыса). Не учитывалась фаза полового цикла крыс-самок.

**Заключение.** Интеграция всех трех подходов позволяет глубже понять динамику накопления микрочастиц: *описательный подход* показывает способность частиц проникать через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), *количественный* – предоставляет данные о содержании и распределении частиц и конгломератов.

**Ключевые слова:** эксперимент; микропластик; микрочастицы; головной мозг; распределение; метод оценки; компьютерная программа

**Соблюдение этических стандартов.** Все эксперименты, поставленные в рамках исследования, соответствовали этическим нормам обращения с животными, принятыми Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для исследовательских и иных научных целей. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом ФБУН «Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека», № 01-02 от 08.02.2024 г.

**Для цитирования:** Рябова Ю.В., Хуснутдинова Н.Ю., Кудояров Э.Р., Валова Я.В., Мухаммадиева Г.Ф., Ахмадеев А.Р., Каримов Д.О. Сравнительный анализ накопления микропластика различных размеров в головном мозге крыс на основе автоматизированного морфометрического подхода. *Токсикологический вестник*. 2025; 33(3): 158–171. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2025-33-3-158-171>

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

**Участие авторов:** Рябова Ю.В. – разработка компьютерной программы, подготовка иллюстраций, написание текста, научное редактирование; Хуснутдинова Н.Ю. – проведение эксперимента, написание текста; Кудояров Э.Р., Валова Я.В., Мухаммадиева Г.Ф., Ахмадеев А.Р. – проведение эксперимента, сбор и обработка данных; Каримов Д.О. – концепция и дизайн исследования, разработка компьютерной программы, научное редактирование. Все соавторы – утверждение окончательного варианта статьи, ответственность за целостность всех частей статьи.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**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 в редакцию: 04 апреля 2025 / Поступила после исправления: 12 мая 2025 / Принята в печать: 16 мая 2025 / Опубликовано: 30 июня 2025

## Введение

Микрочастицы пластика (МП) представляют собой серьёзную угрозу для здоровья, что подтверждается множеством актуальных научных исследований *in vivo* с привлечением млекопитающих. Исследование Н.А. Золотовой и соавт. показало, что микрочастицы полистирола диаметром 5 мкм в дозах 0,023–2,3 мг/кг/сут. при воздействии в течение 4 нед вызывают адаптивные морфофункциональные изменения в толстой кишке и селезёнке у мышей [1]. В работе Z. Song и соавт. [2] в исследовании на крысах-самцах линии Wistar показано, что МП способны оказывать негативное влияние на сердечно-сосудистую систему, о состоянии которой судили по выявленному нарушению липидного обмена у крыс, воспалению и окислительному стрессу в тканях миокарда и аорты. В исследовании на крысах-самцах линии Sprague Dawley при внутрижелудочном введении полиэтиленовых микрочастиц в течение 35 дней ежедневно обнаружено истощение антиоксидантной системы, выраженное в снижении содержания супероксидизмутазы и активности сывороточного глутатиона, увеличении перекисного оседания липидов. Увеличилось число аномальных эритроцитов. Методом комет было выявлено повреждение ДНК во всех группах [3]. Кроме того, микрочастицы пластика могут вызывать стресс эндоплазматического ретикулума и задержку роста, что было показано в 28-дневном исследовании на самках крыс [4].

Изучено влияние воздействия нанопластика в период беременности и лактации на нервное развитие потомства. По результатам исследования, проведённого на крысах линии Sprague Dawley, внутриутробное воздействие МП привело к дефициту анксиолитического поведения и пространственной памяти у крысят, что согласуется с одновременными нейротрансмиттерными и синаптическими изменениями в их мозге: наблюдалось заметное уменьшение толщины коры головного мозга, повышенная пролиферация корковых клеток, расширение синаптических щелей синапсов гиппокампа и снижение постсинаптической плотности [5]. Воздействие полистирольных нанопластиков на мышей линии CD-1 в течение всей беременности и лактации приводило к изменениям в метаболизме головного мозга плода: относительные концентрации гамма-аминомасляной кислоты, креатина и глюкозы у потомства снизились на 40, 21 и 30%, соответственно, в сравнении с контролем. Интересно, что изменение относительной концентрации аспарагина при воздействии частиц пластика зависело от пола плода [6].

Несмотря на наличие данных о нейротоксических эффектах МП на клетки мозга человека линии T98G, рыб и морских беспозвоночных, исследования на взрослых животных остаются ограниченными – зачастую ткани мозга попросту не исследуются [7]. В единственной известной нам работе М. Rafiee и соавт. [8] исследовали воздействие на самцов крыс полистирольного пластика размером 40 нм, в дозах 1–10 мг/кг массы тела в день в течение 5 нед при пероральном поступлении. Показано, что хотя результаты поведенческих тестов и не были статистически значимо отличны от аналогичных в контроле, крысы, подвергшиеся воздействию нанопластика, показали большую активность по сравнению с контрольной группой. Вместе с тем имеющиеся данные свидетельствуют о том, что МП может вызывать воспалительные реакции [9–12], что неизбежно негативно сказывается на организме в целом, включая состояние нервной системы.

Токсичность МП может зависеть от их распределения и накопления в живом организме. I. Guševac Stojanović и соавт. [13] продемонстрировали, что МП при остром воздействии способны инициировать развитие локальных изменений в тканях и органах, потенциально приводящих к их повреждению и дисфункции – на примере печени, сердца и почек. Распределение и накопление, в свою очередь, может зависеть от размера частиц – так, Y. Deng и соавт. [14] по завершению 28-дневного эксперимента обнаружили, что накопление МП в тканях мышей зависит от размера тестируемого МП, при этом накопление полистирола размером 5 мкм в почках и кишечнике значительно выше по сравнению с полистиролом размером 20 мкм. Однако исследования, посвящённые механизмам накопления МП в биологических системах, зачастую остаются на уровне описания наблюдаемых эффектов без предоставления чётких количественных данных. Несмотря на предварительно полученные данные [15, 16], требуется углублённая оценка взаимодействия микрочастиц пластика и живой системы.

Таким образом, *цель исследования* – сравнительный анализ накопления микрочастиц пластика разного размера (100, 500 и 1000 нм) в головном мозге крыс с применением описательного и количественного подхода.

## Материал и методы

Для осуществления сравнительного анализа накопления и распределения МП разного размера в головном мозге с применением описатель-

ного количественного подхода был выполнен эксперимент *in vivo*. Модельными объектами служили крысы-самки 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 осуществляли в соответствии с ГОСТ 33215–2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур», манипуляции выполнялись в соответствии с Директивой Европейского парламента и Совета Европейского союза 2010/63/ЕС от 22.09.2010 о защите животных, используемых для научных целей. Протокол исследования одобрен локальным этическим комитетом учреждения ФБУН «Уфимский научно-исследовательский институт медицины труда и экологии человека», № 01-02 08.02.2024 г.

Использовали МП 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% суспензия в дистиллированной воде (QiuHuan, КНР).

В исследовании участвовали 12 интактных самок массой тела 180–200 г в возрасте 3 мес, разделённых на 4 группы по 3 особи. Каждое животное имело индивидуальную метку на хвосте. МП вводили внутрисердечно объёмом 0,5 мл. Для разбиения МП использовали ультразвуковую ванну УЗО-«МЕДЭЛ» и ротатор BioSan, проводили контроль состояния вводимой суспензии со светофильтром EGFP в имиджере Celena X (Logos Biosystems, Южная Корея). Контрольным веществом служил физиологический раствор.

Внутрисердечное введение, хотя и не является естественным путём предположительного поступления МП в организм [17], в этом исследовании было выбрано нами, поскольку такой метод позволил точно контролировать дозировку и оценить распределение микрочастиц пластика в организме без риска задержки подавляющей доли микрочастиц в кишечнике животных. Имеются данные, согласно которым 10% проглатываемых наночастиц пластика размером 60 нм оседают в кишечнике крыс [18]. В этом контексте стоит отметить, что микрочастицы, имеющие еще больший размер, обладают менее эффективной кинетикой [19]. МП с максимальным размером более 150 мкм не проникает в системный кровоток [20]. В исследовании К.Е. Сагг и соавт. [21] только 0,3% перорально введённых латексных

частиц с наибольшим размером 2 мкм пересекали кишечный эпителий. Таким образом, выбор внутрисердечного введения был обусловлен необходимостью минимизировать влияние ограниченной абсорбции микрочастиц при пероральном введении.

По прошествии 5 ч после введения МП животных выводили из эксперимента эвтаназией углекислым газом с последующей декапитацией. Немедленно отбирали образцы тканей головного мозга для дальнейшего гистологического анализа. Ткани хранились при температуре минус 70 °С до подготовки срезов на криостате Leica CM 1520 (Leica BioSystems, Германия) с толщиной 10 мкм, после чего фотографировали под увеличением 200× со светофильтром EGFP в имиджере Celena X (Logos Biosystems, Южная Корея) и делали описательную оценку микропрепаратов. Для повышения надёжности полученных данных, исходя из возможности включить в каждую экспериментальную группу только по 3 животных, собрано по 4 образца головного мозга в разных участках органа от каждого животного, что в сумме дало 12 образцов для анализа. В данном исследовании эстральный цикл самок не учитывался; гормональные колебания могут влиять на изучаемые параметры. Однако, учитывая, что все животные находились в одинаковых условиях содержания и были случайным образом распределены по группам, мы предполагаем, что влияние полового цикла на результаты минимизировано.

Количественную оценку МП и их конгломератов в биологических образцах осуществляли с применением специально разработанной компьютерной программы Microplastic detector [22]. Программное обеспечение было разработано на языке программирования Python 3.10 с использованием библиотек OpenCV (для обработки изображений) и NumPy (для численных вычислений). Алгоритм работы программы включает несколько этапов. Сначала осуществляется выбор входного каталога с изображениями и выходного каталога для сохранения результатов. Оператор вводит параметры частиц, такие как форма и размер. В случае экспериментальной оценки параметры задавались на основе данных о введённых частицах. Микрофотографии, по три изображения от каждого животного, преобразовывались в градации серого для дальнейшего анализа в соответствии с заданными параметрами. Затем применяется пороговая обработка для выделения отдельных МП. Накопленная маска создаётся путём применения пороговых значений в заданном диапазоне, который указывает оператор.

На следующем этапе реализуется поиск контуров на маске изображения, анализ их площади и округлости, а также фиксация и окрашивание контуров, соответствующих заданным параметрам. Площадь и анализ контуров выполняется с помощью независимых функций. Для классификации частиц по форме используется метрика округлости, которая была введена для улучшения поиска микрочастиц сферической формы. Частицы считаются округлыми, если значение метрики превышает заданный оператором порог, который вводится вручную в зависимости от характеристик искомого объекта. Далее создаётся маска областей без отдельных частиц, выполняется пороговая обработка для выделения конгломератов и анализ их контуров. Конгломераты выделяются на основе маски, исключая индивидуальные частицы. На финальном этапе происходит сохранение обработанных изображений и результатов анализа (количество частиц, площадь, плотность) в виде таблицы Microsoft Excel. Разработанное программное обеспечение учитывает следующие параметры: количество микрочастиц, их общая площадь и плотность (из расчёта на  $1000 \times 1000$  пикселей); количество конгломератов, их площадь и плотность. Относительная плотность микрочастиц или их конгломератов на единицу площади рассчитывается по формуле, исходя из общей площади изображения и числа частиц и конгломератов.

Статистическую обработку результатов осуществляли с использованием метода Bootstrap с поправкой Холма–Бонферрони. Различия признавали достоверными при уровне значимости  $p < 0,05$ . Данный подход позволил снизить влияние ограниченного размера выборки, обеспечивая при этом строгие критерии статистической значимости [23].

## Результаты

На рис. 1 (см. на вклейке) представлены микрофотографии ткани фрагментов головного мозга животных контрольной группы и животных, подвергшихся воздействию МП, полученные во флуоресцентном режиме. В контрольной группе наблюдается фоновое свечение тканей. Исходя из микрофотографий, полученных от групп «МП 100» и «МП 500», выявлено, что наибольшее скопление флуоресцирующих объектов и элементов было сосредоточено преимущественно в коре головного мозга. У животных группы «МП 1000» наблюдали аналогичные изменения, но визуальные отличия заключались в большем

количестве флуоресцирующих объектов с чёткими контурами. Объекты изредка группировались в конгломераты, которые характеризовались чётким контуром и локализацией преимущественно в корковых структурах головного мозга.

Несмотря на отсутствие специализированной окраски, сосудистые структуры хорошо визуализировались на флуоресцентных микрофотографиях за счёт их характерной формы (рис. 2, см. на вклейке). Показано, что флуоресцирующие микрочастицы обнаруживаются не только вблизи сосудов, но и в пространстве на удалении от предполагаемых границ сосудистого русла, что может свидетельствовать о выходе частиц за пределы кровеносной системы. Кроме того, распределение микрочастиц носило диффузный характер, без признаков линейного сосудистого скопления, типичного для внутрисосудистой локализации. Конгломераты и изолированные частицы регистрировали в участках, соответствующих паренхиме — между нейронами и клетками глии, что косвенно указывает на их проникновение через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) и последующее интерстициальное распределение.

На рис. 3 (см. на вклейке) представлены результаты количественной оценки степени накопления и распределения МП и его конгломератов в головном мозге. Показано, что количество МП в тканях головного мозга животных экспериментальных групп существенно выше, чем в контроле ( $p = 0,001$  для «МП 100»,  $p = 0,012$  для «МП 500» и  $p = 0,001$  для «МП 1000»). В группе «МП 500» обнаружено значительно меньше частиц, чем в группах «МП 100» ( $p = 0,002$ ) и «МП 1000» ( $p = 0,043$ ). При оценке плотности МП на микрофотографии показано, что в тканях головного мозга животных экспериментальных групп она выше, чем в контроле ( $p = 0,001$  для групп «МП 100» и «МП 1000»,  $p = 0,017$  для группы «МП 500»). Плотность обнаруженных микрочастиц выше в группе «МП 1000», чем в группе «МП 500» ( $p = 0,021$ ). Количество конгломератов МП в тканях головного мозга животных экспериментальных групп также выше, чем в контроле в группах «МП 100» ( $p = 0,006$ ) и «МП 1000» ( $p = 0,003$ ), но не в группе «МП 500» ( $p = 0,067$ ). Показаны различия между группами «МП 100» и «МП 500» ( $p = 0,017$ ) и «МП 500» и «МП 1000» ( $p = 0,039$ ). Плотность конгломератов МП не достигла статистической значимости с контролем в группе «МП 100» ( $p = 0,294$ ) и «МП 500» ( $p = 0,997$ ), однако была выше в группе «МП 1000» ( $p = 0,014$ ). Зафиксировано различие между группами «МП 500» и «МП 1000» ( $p = 0,001$ ).

## Обсуждение

Показана способность МП размером 100, 500 и 1000 нм проникать через ГЭБ, несмотря на его защитные функции. Полученные нами результаты согласуются с данными S. Shan и соавт. [24], которые показали, что наночастицы пластика размером 50 нм достоверно индуцировали увеличение проницаемости ГЭБ и дозозависимо накапливались в мозге мышей. Механизм проникновения, вероятно, обусловлен способностью микропластика подавлять экспрессию белков плотных соединений зонулина и окклюдина, что было обнаружено при моделировании *in vitro* [24] и подтверждено *in vivo* увеличением проницаемости ГЭБ в гиппокампе, гипоталамусе и коре головного мозга мышей [25–27]. Кроме того, L.F. Amato-Lourenço и соавт. [28] выявили микрочастицы пластика в обонятельных луковицах у 8 из 15 исследованных взрослых людей без нейрохирургических вмешательств, что подтверждает возможность проникновения МП в головной мозг. Всего было идентифицировано 16 синтетических полимерных частиц и волокон, из которых 75% обнаруженных материалов являются частицами; наиболее распространённым обнаруженным полимером был полипропилен (43,8%). Размеры частиц варьировались от 5,5 мкм до 26,4 мкм, а средняя длина волокна составляла 21,4 мкм [28]. Эти данные в совокупности подчеркивают способность относительно крупных частиц пластика проникать, распределяться и накапливаться в головном мозге.

При помощи количественного метода тканей головного мозга животных экспериментальных групп также подтверждена их способность проникать через ГЭБ и накапливаться в органе: количество МП и их конгломератов в тканях головного мозга животных экспериментальных групп значительно превышает таковое в контрольной группе (см. рис. 3, а–г). Наибольшее число конгломератов обнаружено в группе «МП 500», наибольшая плотность частиц и их конгломератов — в группе «МП 1000». Возможно, частицы МП размером 500 нм способны легче агрегировать между собой, в отличие от частиц 100 нм, которые более широко распределяются в тканях. Более крупные частицы размером 1000 мкм, вероятно, могут иметь более высокую плотность из-за своей массы, что делает их менее подверженными агрегации, но более способными к накоплению в определённых участках тканей, что обуславливает их большую плотность в тканях головного мозга.

Таким образом, оба подхода продемонстрировали способность МП проникать в ткани головного мозга через ГЭБ, однако только совместное их использование позволяет получить наиболее полное представление о накоплении МП в исследуемом органе. Количественный анализ предоставляет более чёткое представление о накоплении МП, поскольку он позволяет не только оценивать общее количество частиц, но и различать их конгломераты, а также измерять их плотность. Подобное разделение на отдельные категории дает возможность глубже понять особенности взаимодействия МП и живой ткани. Таким образом, только интеграция всех трех подходов позволяет комплексно оценить особенности накопления МП в органе.

Токсичность МП и механизмы ее реализации по-прежнему остаются недостаточно изученными. S. Shan и соавт. [24], обнаружившие способность МП накапливаться в головном мозге, в своем 7-дневном исследовании не выявили нейротоксические эффекты на мышцах. Но *in vitro*-исследования с использованием иммортализованных микрососудистых эндотелиальных клеток головного мозга человека линии hСМЕС/D3 продемонстрировали токсические свойства исследуемых частиц. Данные, представленные В. Liang и соавт. [29], свидетельствуют о способности МП вызывать нейродегенеративные изменения, аналогичные тем, что наблюдаются при болезни Паркинсона. Эти изменения связаны с нарушением энергетического обмена и митохондриальной дисфункцией, затрагивающими все клетки мозга: снижается содержание аденозинтрифосфата и уровень экспрессии АТФ-ассоциированных генов и белков. Q. Yang и соавт. [30] напротив, в своём исследовании подчеркивают, что микрочастицы пластика, скорее не оказывают прямого цитотоксического действия на мозг, а влияют на организм в целом. В частности, они обнаружили, что частицы пластика активируют макрофаги кишечника и вызывают повреждение лизосом, что приводит к активации сигнальных путей интерлейкина-1. И этот же процесс может оказывать влияние на иммунные реакции в мозге, приводя к активации микроглии и дифференцировке клеток, что, в свою очередь, связано с ухудшением когнитивных функций и кратковременной памяти у мышей. Другие исследования также подтверждают взаимодействие между кишечником и мозгом в контексте воздействия МП: показано, что введение полистирольных микрочастиц мышам в течение восьми недель приводило к ухудшению поведения в задачах на обучение и память.

Интересно, что абляция блуждающего нерва, модулятора оси кишечник–мозг, улучшала функции памяти у мышей, получавших исследуемые микрочастицы [25].

Отличительной особенностью настоящей работы стало применение специализированной компьютерной программы Microplastic detector, позволяющей в автоматическом режиме проводить морфометрический анализ и распознавание МП на флуоресцентных микрофотографиях. Благодаря последовательному учёту морфологических критериев (округлость, размер) и многоступенчатому порогированию, программа минимизирует субъективную ошибку оператора, обеспечивая воспроизводимость данных даже при работе с небольшим количеством образцов. В отличие от универсальных инструментов, где для сходных операций оператору пришлось бы вручную осуществлять порогирование или настраивать макросы, Microplastic detector автоматически генерирует и объединяет результаты по заданному диапазону пороговых значений. Отдельные настройки для конгломератов позволяют учитывать специфику каждого набора изображений. Кроме того, программа не только формирует сводные таблицы для последующего статистического анализа, но и сохраняет визуально размеченные изображения, обеспечивая прозрачность и верифицируемость на всех этапах обработки. Важной особенностью является унифицированный протокол анализа, который подразумевает однократную настройку параметров, после чего все изображения обрабатываются одинаково, что особенно ценно при больших массивах данных. В перспективе расширение функционала (включая методы машинного обучения и нейронные сети) позволит повысить точность классификации частиц и выявлять более сложные паттерны их распределения в тканях.

Таким образом, МП, несмотря на значительные достижения в понимании механизмов проникновения и накопления, особенности их влияния на нервную систему, остаются недостаточно изученными. Необходимы дальнейшие исследования для более глубокого понимания нейротоксических эффектов МП, а также их взаимодействия с иммунной системой и возможного влияния на когнитивные функции.

**Ограничения исследования.** Исследование было ограничено изучением распределения микрочастиц пластика трёх размеров в токсикологическом эксперименте на одном виде животных (лабораторная крыса). Не учитывалась фаза полового цикла крыс-самок.

## Заключение

Показано, что микрочастицы пластика размером 100, 500 и 1000 нм при внутрисердечном введении крысам-самкам проходят гематоэнцефалический барьер и обнаруживаются в тканях головного мозга.

Исходя из полученных данных, только интеграция всех трех подходов позволяет глубже понять динамику накопления микрочастиц пластика в головном мозге. Описательный подход предоставляет информацию о способности частиц проникать через гематоэнцефалический барьер, а количественный углубляет представления о фактическом содержании и распределении этих частиц и их конгломератов.

Нейротоксичность микрочастиц пластика и механизмы ее реализации по-прежнему остаются недостаточно изученными. Перспективы дальнейших исследований могут включать более детальное изучение механизмов взаимодействия микрочастиц с клетками мозга в условиях *in vivo*, а также проведение поведенческих тестов у экспонированных животных.

## ЛИТЕРАТУРА

(пп. 2–14, 17–21, 23–30 см. в References)

1. Золотова Н.А., Джалилова Д.Ш., Цветков И.С., Сентябрева А.В., Макарова О.В. Морфологическая характеристика внутренних органов мышей при длительном потреблении микропластика. *Клиническая и экспериментальная морфология*. 2023; 12: 82–92.
2. Song Z., Wu H., Fang X., Feng X., Zhou L. The cardiovascular toxicity of polystyrene microplastics in rats: based on untargeted metabolomics analysis. *Front Pharmacol*. 2024; 10(15): 1336369. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1336369>
3. Farag A.A., Youssef H.S., Sliem R.E., El Gazzar W.B., Nabil S., Mokhtar M.M., Marei Y.M., Ismail N.S., Radwaan S.E., Badr A.M., Sayed A.E.H. Hematological consequences of polyethylene microplastics toxicity in male rats: Oxidative stress, genetic, and epigenetic links. *Toxicology*. 2023; 492(11): 153545.
4. Zhang Q., Lang Y., Tang X., Cheng W., Cheng Z., Rizwan M., Xie L., Liu Y., Xu H., Liu Y. Polystyrene microplastic-induced endoplasmic reticulum stress contributes to growth plate endochondral ossification disorder in young rat. *Environ Toxicol*. 2024; 39(6): 3314–29. <https://doi.org/10.1002/tox.24182>
5. Tian L., Zhang Y., Chen J., Liu X., Nie H., Li K., Liu H., Lai W., Shi Y., Xi Z., Lin B. Effects of nanoplastic exposure during pregnancy and lactation on neurodevelopment of rat offspring. *J Hazard Mater*. 2024; 474: 134800. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.134800>
6. Mercer G.V., Harvey N.E., Steeves K.L., Schneider C.M., Sled J.G., Macgowan C.K., Baschat A.A., Kingdom J.C., Simpson A.J., Simpson M.J., Jobst K.J., Cahill L.S. Maternal exposure to polystyrene nanoplastics alters fetal brain metabolism in mice. *Metabolomics*. 2023; 19(12): 96. <https://doi.org/10.1007/s11306-023-02061-3>
7. Prüst M., Meijer J., Westerink R.H.S. The plastic brain: neurotoxicity of micro- and nanoplastics. *Part Fibre Toxicol*. 2020; 17: 24. <https://doi.org/10.1186/s12989-020-00358-y>
8. Rafiee M., Dargahi L., Eslami A., Beirami E., Jahangiri-rad M., Sabour S., Amereh F. Neurobehavioral assessment of rats exposed to pristine polystyrene nanoplastics upon oral exposure. *Chemosphere*. 2018; 193: 745–53. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.076>
9. Song S., van Dijk F., Vasse G.F., Liu Q., Gosselink I.F., Weltjens E., Remels A.H.V., de Jager M.H., Bos S., Li C., Stoeger T., Rehberg M., Kutschke D., van Eck G.W.A.,

- Wu X., Willems S.H., Boom D.H.A., Kooter I.M., Spierings D., Wardenaar R., Cole M., Nawijn M.C., Salvati A., Gosens R., Melgert B.N. Inhalable Textile Microplastic Fibers Impair Airway Epithelial Differentiation. *Am J Respir Crit Care Med.* 2024; 209(4): 427–43. <https://doi.org/10.1164/rccm.202211-20990C>
10. Da Silva Brito W.A., Mutter F., Wende K., Cecchini A.L., Schmidt A., Bekeschus S. Consequences of nano and microplastic exposure in rodent models: the known and unknown. *Part Fibre Toxicol.* 2022; 19(1): 28. <https://doi.org/10.1186/s12989-022-00473-y>
  11. Prata J.C., da Costa J.P., Lopes I., Duarte A.C., Rocha-Santos T. Environmental exposure to microplastics: An overview on possible human health effects. *Sci Total Environ.* 2020; 702: 134455. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134455>
  12. Yin K., Wang D., Zhang Y., Lu H., Hou L., Guo T., Zhao H., Xing M. Polystyrene microplastics promote liver inflammation by inducing the formation of macrophages extracellular traps. *J Hazard Mater.* 2023; 452: 131236. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131236>
  13. Guševac Stojanović I., Drakulić D., Todorović A., Martinović J., Filipović N., Stojanović Z. Acute Toxicity Assessment of Orally Administered Microplastic Particles in Adult Male Wistar Rats. *Toxics.* 2024; 12(3): 167. <https://doi.org/10.3390/toxics12030167>
  14. 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>
  15. Репина Э.Ф., Хмель А.О., Каримов Д.Д., Рябова Ю.В., Каримов Д.О., Кулагин Е.А., Ахмадеев А.Р., Кудояров Э.Р. Распространение микропластика размером 1000 нанометров в жизненно важных органах при однократном введении лабораторным животным. *Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований.* 2025; 2: 40–4. <https://doi.org/10.17513/mjprfi.13695>
  16. Репина Э.Ф., Каримов Д.О., Кудояров Э.Р., Каримов Д.Д., Ахмадеев А.Р., Гизатуллина А.А., Рябова Ю.В., Хмель А.О. Предварительная оценка распределения микропластика размером 500 нм в органах крыс при однократном поступлении. *Медицина труда и экология человека.* 2025; 1: 113–25. <https://doi.org/10.24412/2411-3794-2025-10109>
  17. Kannan K., Vimalkumar K. A Review of Human Exposure to Microplastics and Insights Into Microplastics as Obesogens. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2021; 12: 724989. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.724989>
  18. 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>
  19. 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; 1: 18. <https://doi.org/10.1186/1743-8977-11-18>
  20. 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>
  21. 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>
  22. Каримов Д.О., Рябова Ю.В., Ахмадеев А.Р., Хуснутдинова Н.Ю., Кудояров Э.Р., Зайдуллин И.И. Программа для детекции микропластика на микроскопических снимках. Патент РФ № RU2024685872; 2024
  23. Romano J.P., Wolf M. Multiple Testing of One-Sided Hypotheses: Combining Bonferroni and the Bootstrap. *Predictive Econometrics and Big Data.* 2018; 753: 78–94. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-70942-0\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-70942-0_4)
  24. Shan S., Zhang Y., Zhao H., Zeng T., Zhao X. Polystyrene nanoplastics penetrate across the blood-brain barrier and induce activation of microglia in the brain of mice. *Chemosphere.* 2022; 298: 134261. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134261>
  25. Lee C.W., Hsu L.F., Wu I.L., Wang Y.L., Chen W.C., Liu Y.J., Yang L.T., Tan C.L., Luo Y.H., Wang C.C., Chiu H.W., Yang T.C., Lin Y.Y., Chang H.A., Chiang Y.C., Chen C.H., Lee M.H., Peng K.T., Huang C.C. Exposure to polystyrene microplastics impairs hippocampus-dependent learning and memory in mice. *J Hazard Mater.* 2022; 430: 128431. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128431>
  26. Gaspar L., Bartman S., Coppotelli G., Ross J.M. Acute Exposure to Microplastics Induced Changes in Behavior and Inflammation in Young and Old Mice. *Int J Mol Sci.* 2023; 24(15): 12308. <https://doi.org/10.3390/ijms241512308>
  27. Jin H., Yang C., Jiang C., Li L., Pan M., Li D., Han X., Ding J. Evaluation of Neurotoxicity in BALB/c Mice following Chronic Exposure to Polystyrene Microplastics. *Environ Health Perspect.* 2022; 130(10): 107002. <https://doi.org/10.1289/EHP10255>
  28. Amato-Lourenço L.F., Dantas K.C., Júnior G.R., Paes V.R., Ando R.A., de Oliveira Freitas R., da Costa O.M.M.M., Rabelo R.S., Soares Bispo K.C., Carvalho-Oliveira R., Mauad T. Microplastics in the Olfactory Bulb of the Human Brain. *JAMA Netw Open.* 2024; 7(9): e2440018. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2024.40018>
  29. Liang B., Huang Y., Zhong Y., Li Z., Ye R., Wang B., Zhang B., Meng H., Lin X., Du J., Hu M., Wu Q., Sui H., Yang X., Huang Z. Brain single-nucleus transcriptomics highlights that polystyrene nanoplastics potentially induce Parkinson's disease-like neurodegeneration by causing energy metabolism disorders in mice. *J Hazard Mater.* 2022; 430: 128459. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128459>
  30. Yang Q., Dai H., Cheng Y., Wang B., Xu J., Zhang Y., Chen Y., Xu F., Ma Q., Lin F., Wang C. Oral feeding of nanoplastics affects brain function of mice by inducing macrophage IL-1 signal in the intestine. *Cell Rep.* 2023; 42(4): 112346. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.112346>

## СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

**Рябова Юлия Владимировна** – кандидат мед. наук, заведующая лабораторией токсикологии отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, г. Уфа, Россия. E-mail: ryabovayuvl@yandex.ru

**Хуснутдинова Надежда Юрьевна** – научный сотрудник лаборатории токсикологии отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, г. Уфа, Россия. E-mail: h-n-yu@yandex.ru

**Кудояров Эльдар Ренатович** – младший научный сотрудник лаборатории генетики отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, г. Уфа, Россия. E-mail: e.kudoyarov@yandex.ru

**Валова Яна Валерьевна** – кандидат биол. наук, заведующий лабораторией генетики отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, г. Уфа, Россия. E-mail: Q.juk@yandex.ru

**Мухаммадиева Гузель Фанисовна** – кандидат биол. наук, старший научный сотрудник лаборатории генетики отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, г. Уфа, Россия. E-mail: ufnimt@mail.ru

**Ахмадеев Айдар Ринатович** – младший научный сотрудник лаборатории токсикологии отдела токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, г. Уфа, Россия. E-mail: dgaar87@gmail.com

**Каримов Денис Олегович** – кандидат мед. наук, заведующий отделом токсикологии и генетики с экспериментальной клиникой лабораторных животных ФБУН «Уфимский НИИ медицины труда и экологии человека», 450106, г. Уфа; старший научный сотрудник отдела исследований общественного здоровья ФГБНУ «Национальный НИИ общественного здоровья имени Н.А. Семашко», 105064, г. Москва, Россия. E-mail: karimovdo@gmail.com

Yulia V. Ryabova<sup>1</sup>, Nadezhda Yu. Khusnutdinova<sup>1</sup>, Eldar R. Kudoyarov<sup>1</sup>, Yana V. Valova<sup>1</sup>,  
Guzel F. Mukhammadiyeva<sup>1</sup>, Aidar R. Akhmadeev<sup>1</sup>, Denis O. Karimov<sup>1,2</sup>

# Comparative analysis of accumulation of microplastics of various sizes in the rat brain based on an automated morphometric approach

<sup>1</sup>Ufa Scientific Research Institute of Occupational Medicine and Human Ecology, Ufa, 450106, Russian Federation;

<sup>2</sup>N.A. Semashko National Scientific Research Institute of Public Health, Moscow, 105064, Russian Federation

## ABSTRACT

**Introduction.** Microparticles of plastic (MP) pose a threat to health, but the processes of their accumulation and distribution in living organisms, especially in brain tissues, have not been sufficiently studied.

*The aim of the study* was to compare the accumulation of plastic microparticles of different sizes (100, 500 and 1000 nm) in the brain of rats using a descriptive and quantitative approach.

**Material and methods.** Female Wistar rats, 12 individuals divided into 4 groups, were intracardiacally injected with a suspension of fluorescent polystyrene microparticles (100, 500 and 1000 nm in diameter) or a saline solution (Control) with a volume of 50 µl. The accumulation of microplastics in brain tissues was assessed using fluorescence microscopy using a descriptive approach and a computer program for quantifying the content of microparticles and their conglomerates. The data was analyzed using the Bootstrap method with the Holm–Bonferroni correction, the significance of the differences was determined at  $p < 0.05$ .

**Results.** It was found that fluorescent microparticles of plastic accumulate mainly in the cerebral cortex, and the MP 1000 group showed a greater number of clearly defined conglomerates compared to the MP 100 and MP 500 groups. The density of plastic microparticles, estimated using an automated morphometric approach, was also higher in the experimental groups compared with the control, especially in the MP 1000 group.

**Limitations.** The study was limited to studying the distribution of plastic microparticles of three sizes in a toxicological experiment on a single animal species (laboratory rat). The phase of the sexual cycle of female rats was not taken into account.

**Conclusion.** The integration of approaches allows for a deeper understanding of the dynamics of microparticle accumulation: a descriptive approach shows the ability of particles to penetrate the blood–brain barrier (BBB), while a quantitative approach provides data on the content and distribution of particles and conglomerates.

**Keywords:** *experiment; microplastics; microparticles; brain; distribution; evaluation method; computer program*

**Compliance with ethical standards.** All experiments conducted in the framework of the study complied with the ethical standards of animal treatment adopted by the European Convention for the Protection of Vertebrates Used for Research and Other Scientific Purposes. The research protocol was approved by the local Ethics Committee of the Ufa Scientific Research Institute of Occupational Medicine and Human Ecology, No. 01–02 dated 02/08/2024.

**For citation:** Ryabova Yu.V., Khusnutdinova N.Yu., Kudoyarov E.R., Valova Ya.V., Mukhammadiyeva G.F., Akhmadeev A.R., Karimov D.O. Comparative analysis of accumulation of microplastics of various sizes in the rat brain based on an automated morphometric approach. *Toxikologicheskij vestnik / Toxicological Review*. 2025; 33(3): 158–171. <https://doi.org/10.47470/0869-7922-2025-33-3-158-171>

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

**Authors' contributions:** Ryabova Yu.V. – computer program development, image preparation, text writing, scientific text editing; Khusnutdinova N.Yu. – conducting an experiment, writing a text; Kudoyarov E.R., Valova Ya.V., Mukhammadiyeva G.F., Akhmadeev A.R. – conducting an experiment, collecting and processing data; Karimov D.O. – research concept and design, computer program development, scientific text editing. *All co-authors* – approval of the final version of the article, responsibility for the integrity of all parts of the article.

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

**Acknowledgment.** The study was carried out as part of the industry research program of the Rospotrebnadzor for 2021–2025.

Received: April 4, 2025 / Revised: May 12, 2025 / Accepted: May 16, 2025 / Published: June 30, 2025

## Introduction

Microparticles of plastic (MP) pose a serious threat to health, which is confirmed by many relevant scientific studies *in vivo* involving mammals. A study by Zolotova et al. showed that polystyrene microparticles with a diameter of 5 microns at doses of 0.023–2.3 mg/kg/day, when exposed for 4 weeks, cause adaptive morphofunctional changes in the colon and spleen in mice [1]. In the work of S. Song et al. [2] in a study on male Wistar rats, it was shown that MP can have a negative effect on the cardiovascular system, the state of which was assessed by the revealed violation of lipid metabolism in rats, inflammation and oxidative stress in the tissues of the myocardium and aorta. In a study on male Sprague Dawley rats, intragastric administration of polyethylene microparticles for 35 days daily revealed depletion of the antioxidant system, expressed in a decrease in superoxidismutase and serum glutathione activity, and an increase in lipid peroxidation. The number of abnormal red blood cells has increased. The comet method revealed DNA damage in all groups [3]. In addition, MP can cause endoplasmic reticulum stress and growth retardation, which was shown in a 28-day study on female rats [4].

The effect of nanoplastics during pregnancy and lactation on the development of the nervous system of offspring has been studied. According to the results of a study conducted on Sprague Dawley rats, intrauterine exposure to MP led to a deficit in anxiolytic behavior and spatial memory in rat pups, which is consistent with simultaneous neurotransmitter and synaptic changes in their brains: there was a noticeable decrease in the thickness of the cerebral cortex, increased proliferation of cortical cells, expansion of synaptic cleft synapses of the hippocampus and a decrease in postsynaptic density [5]. The effect of polystyrene nanoplastics on CD-1 mice throughout pregnancy and lactation led to changes in fetal brain metabolism: the relative concentrations of gamma-aminobutyric acid, creatine, and glucose in the offspring decreased by 40, 21, and 30%, respectively, compared with the control. Interestingly, the change in the relative concentration of asparagine when exposed to plastic particles depended on the sex of the fetus [6].

Despite the availability of data on the neurotoxic effects of MP on human brain cells of the T98G line, fish and marine invertebrates, studies on adult animals remain limited – often brain tissues are simply not studied [7]. In the only work known to us, Rafiee et al. [8] studied the effect on male rats of polystyrene plastic 40 nm in size, at doses of 1–10 mg/kg of body weight per day for 5 weeks with oral administration. It was shown that although the results of behavioral

tests in the exposed animals did not differ from the results of the control ones, the rats exposed to nanoplasty showed greater activity compared to the control group. At the same time, the available data suggest that MP can cause inflammatory reactions [9–12], which inevitably negatively affects the body as a whole, including the state of the nervous system.

The toxicity of MP may depend on their distribution and accumulation in a living organism. I. Guševac Stojanović et al. [13] demonstrated that MP under acute exposure can initiate the development of local changes in tissues and organs, potentially leading to their damage and dysfunction – for example, liver, heart and kidneys, distribution and accumulation, in turn, may depend on the particle size – so, Y. Deng et al. [14] at the end of a 28-day experiment, they found that the accumulation of MP in mouse tissues depends on the size of the tested MP, while the accumulation of polystyrene with a size of 5 microns in the kidneys and intestines is significantly higher compared to polystyrene with a size of 20 microns. However, studies on the mechanisms of MP accumulation in biological systems often remain at the level of describing the observed effects without providing clear quantitative data. Despite the preliminary data obtained [15, 16], an in-depth assessment of the interaction of MP and the living system is required.

Thus, the aim of the study is a comparative analysis of the accumulation of MP of different sizes (100, 500 and 1000 nm) in the brain of rats using a descriptive and quantitative approach.

## Material and methods

An *in vivo* experiment was performed to conduct a comparative analysis of the accumulation and distribution of MP of different sizes in the brain using a descriptive quantitative approach. The model objects were female Wistar rats, which were purchased from the Rappolovo nursery and kept in a specially organized vivarium in compliance with the norms of the legislation of the Russian Federation regarding laboratory animals. The animals were cared for in accordance with GOST 33215–2014 “Guidelines for the maintenance and care of laboratory animals. Rules for the equipment of premises and organization of procedures”, the manipulations were carried out in accordance with the Directive of the European Parliament and of the Council of the European Union 2010/63/EC of 22.09.2010 on the protection of animals used for scientific purposes. The research protocol was approved by the local Ethics Committee of the Ufa Scientific Research Institute of Occupational Medicine and Human Ecology, No. 01-02 08.02.2024.

Polystyrene MP labeled with fluorescent dye (excitation peak wavelength – 488 nm, emission peak wavelength – 518 nm), spherical shape, diameter of 100, 500 and 1000 nm, preparation form – 1% suspension in distilled water (QiuHuan, China) were used.

The study involved 12 intact females weighing 180–200 g at the age of 3 months, divided into 4 groups of 3 individuals. Each animal had an individual tag on its tail. MP was administered intracardiac with a volume of 0.5 ml. To split the MP, a MEDEL ultrasonic RCD bath and a BioSan rotator were used, and the state of the injected suspension was monitored with an EGFP light filter in a Celena X imager (Logos Biosystems, South Korea). The control substance was a saline solution. Intracardiac administration, although it is not a natural way of presumptive intake of MP into the body [17], in this study we chose it to accurately control the dosage and assess the distribution of MP in the body without the risk of retaining the overwhelming proportion of microparticles in the intestines of animals. There is evidence that 10% of ingested MP with a size of 60 nm settle in the intestines of rats [18]. Microparticles having a larger size demonstrate a lower ability to distribute in tissues [19]. MP with a maximum size of more than 150 microns does not penetrate into the systemic bloodstream [20]. In a study by K.E. Carr et al. [21] only 0.3% of orally administered latex particles with the largest size of 2 microns crossed the intestinal epithelium. Thus, the choice of intracardiac administration was determined, among other things, by the need to minimize the effect of limited absorption of microparticles during oral administration.

After 5 hours after the introduction of MP, the animals were euthanized with carbon dioxide followed by decapitation. Brain tissue samples were immediately taken for further histological analysis. The tissues were stored at minus seventy degrees Celsius until the sections were prepared on a Leica CM 1520 cryostat (Leica BioSystems, Germany) with a thickness of 10 microns, after which they were photographed at 200× magnification with an EGFP light filter in a Celena X imager (Logos Biosystems, South Korea) and a descriptive evaluation of micro-preparations was performed. To increase the reliability of the data obtained, based on the possibility of including only 3 animals in each experimental group, we collected 4 brain samples in different parts of the organ from each animal, which in total gave 12 samples for analysis. In this study, the estrous cycle of females was not taken into account; hormonal fluctuations can affect the studied

parameters. However, considering that all animals were kept in the same conditions and were randomly assigned to groups, we assume that the impact of the sexual cycle on the results is minimized.

Quantitative assessment of MP and their conglomerates in biological samples was carried out using a specially developed program Microplastic detector [22]. The software was developed in Python 3.10 using OpenCV (for image processing) and NumPy (for numerical calculations) libraries. The algorithm of the program includes several stages. First, one select the input catalog with images and the output catalog to save the results. The operator enters the parameters of the particles, such as shape and size. In the case of an experimental evaluation, the parameters were set based on data on the injected particles. Micrographs, three images from each animal, were converted to grayscale for further analysis in accordance with the specified parameters. Threshold processing is then applied to isolate individual MP. The accumulated mask is created by applying threshold values in a specified range, which is specified by the operator. The next step is to search for contours on the image mask, analyze their area and roundness, as well as fix and color the contours corresponding to the specified parameters. The area and contour analysis are performed using independent functions. The roundness metric is used to classify particles by shape, which was introduced to improve the search for spherical microparticles. Particles are considered rounded if the metric value exceeds the threshold set by the operator, which is entered manually depending on the characteristics of the object being searched for. Next, a mask of areas without individual particles is created, threshold processing is performed to isolate conglomerates and analyze their contours. Conglomerates are distinguished based on a mask that excludes individual particles. At the final stage, the processed images and the analysis results (number of particles, area, density) are saved as a Microsoft Excel spreadsheet. The developed software takes into account the following parameters: the number of microparticles, their total area and density (based on 1000×1000 pixels); the number of conglomerates, their area and density. The relative density of microparticles or their conglomerates per unit area is calculated using the formula based on the total area of the image and the number of particles and conglomerates.

Statistical processing of the results was conducted using the Bootstrap method with the Holm–Bonferroni correction, Python 3.10. The differences were recognized as significant at a level of  $p < 0.05$ . This approach has made it possible to reduce the impact of a limited sample size, while providing strict criteria for statistical significance [23].

## Results

Figure 1 (see on the insert) shows micrographs of tissue fragments of the brain of animals in the control group and animals exposed to MP, obtained in the fluorescent mode. In the control group, there is a background glow of tissues. Based on the micrographs obtained from the MP 100 and MP 500 groups, it was revealed that the largest concentration of fluorescent objects and elements was concentrated mainly in the cerebral cortex. Similar changes were observed in the animals of the MP 1000 group, but the visual differences consisted in a larger number of fluorescent objects with clear contours. Objects were occasionally grouped into conglomerates, which were characterized by a clear contour and localization mainly in the cortical structures of the brain.

Despite the lack of specialized coloring, vascular structures were well visualized on fluorescent micrographs due to their characteristic shape (Fig. 2, see on the insert). It is shown that fluorescent microparticles are found not only near blood vessels, but also in space at a distance from the assumed boundaries of the vascular bed, which may indicate that the particles escape beyond the circulatory system. In addition, the distribution of microparticles was diffuse, with no signs of linear vascular accumulation typical of intravascular localization. Conglomerates and isolated particles were recorded in areas corresponding to the parenchyma – between neurons and glial cells, which indirectly indicates their penetration through the blood-brain barrier and subsequent interstitial distribution.

Figure 3 (see on the insert) shows the results of a quantitative assessment of the degree of accumulation and distribution of MP and its conglomerates in the brain. It was shown that the amount of MP in the brain tissues of animals of the experimental groups is significantly higher than in the control ( $p=0.001$  for “MP 100”,  $p=0.012$  for “MP 500” and  $p=0.001$  for “MP 1000”). Significantly fewer particles were detected in the MP 500 group than in the MP 100 ( $p=0.002$ ) and MP 1000 ( $p=0.043$ ) groups. When estimating the density of MP in micrographs, it was shown that it is higher in the brain tissues of animals in the experimental groups than in the control ( $p=0.001$  for the “MP 100” and “MP 1000” groups,  $p=0.017$  for the “MP 500” group). The density of detected microparticles is higher in the MP 1000 group than in the MP 500 group ( $p=0.021$ ). The number of MP conglomerates in the brain tissues of animals of the experimental groups is also higher than in the control groups in the “MP 100” ( $p=0.006$ ) and “MP 1000” ( $p=0.003$ ), but not in the “MP 500” group ( $p=0.067$ ). The differences between the groups

“MP 100” and “MP 500” ( $p=0.017$ ) and “MP 500” and “MP 1000” ( $p=0.039$ ) are shown. The density of MP conglomerates did not reach statistical significance with controls in the “MP 100” ( $p=0.294$ ) and “MP 500” ( $p=0.997$ ) groups, but was higher in the “MP 1000” group ( $p=0.014$ ). There was a difference between the “MP 500” and “MP 1000” groups ( $p=0.001$ ).

## Discussion

The ability of MP sizes of 100, 500 and 1000 nm to penetrate the blood-brain barrier (BBB), despite its protective functions, has been shown. Our results are consistent with the data from S. Shan et al. [24], which showed that plastic nanoparticles with a size of 50 nm significantly induced an increase in BBB permeability and accumulated dose-dependently in the brains of mice. The mechanism of penetration is probably due to the ability of microplastics to suppress the expression of proteins of dense compounds zonulin and occludin, which was discovered in *in vitro* modeling [24] and confirmed *in vivo* by an increase in BBB permeability in the hippocampus, hypothalamus, and cerebral cortex of mice [25–27]. In addition, L.F. Amato-Lourenço et al. [28] identified MP in the olfactory bulbs in 8 out of 15 studied adults without neurosurgery, which confirms the possibility of MP penetration into the brain. A total of 16 synthetic polymer particles and fibers were identified, of which 75% of the detected materials are particles; the most common polymer detected was polypropylene (43.8%). The particle sizes ranged from 5.5 microns to 26.4 microns, and the average fiber length was 21.4 microns [28]. Taken together, these data highlight the ability of relatively large plastic particles to penetrate, distribute, and accumulate in the brain.

Using the quantitative method of assessing the brain tissues of animals of experimental groups, their ability to penetrate the BBB and accumulate in the organ was also confirmed: the number of MP and their conglomerates in the brain tissues of animals of experimental groups significantly exceeds that in the control group (see on the insert Fig. 3, *a–c*). A small number of «particles» were registered in the control, which, however, reflects rather not the presence of exogenous microplastics, but the sensitivity limit of the method. Probably, with the given parameters, point luminescence is generated by tissue elements (lipofuscin, flavoproteins, collagen); their sizes and intensity fall within the range specified by the algorithm and are classified as «particles». The number of these objects, their total area and estimated density were 2–3 orders of magnitude lower than the

corresponding indicators of all experimental groups (see on the insert Fig. 3, *a, б*), which confirms the background nature of the signals. The presence of «conglomerates» in the control also confirms that the recorded signals reflect the sensitivity threshold of the method and tissue autofluorescence. The marked increase in indicators in the experimental groups suggests the detection of MP conglomerates directly (see on the insert Fig. 3, *в, з*). The largest number of conglomerates was found in the MP 500 group, the highest density of particles and their conglomerates in the MP 1000 group. It is possible that MP particles of 500 nm in size are able to aggregate more easily among themselves, unlike particles of 100 nm, which are more widely distributed in tissues. Larger particles of 1000 microns in size can probably have a higher density due to their mass, which makes them less susceptible to aggregation, but more capable of accumulating in certain areas of tissues, which causes their greater density in brain tissues.

Thus, both approaches demonstrated the ability of MP to penetrate into brain tissue through the BBB, however, only their combined use allows us to obtain the most complete picture of the accumulation of MP in the studied organ. Quantitative analysis provides a clearer picture of the accumulation of MP, as it allows not only to estimate the total number of particles, but also to distinguish between their conglomerates, as well as measure their density. Such a division into separate categories makes it possible to better understand the features of the interaction of MP and living tissue. Thus, only the integration of all three approaches makes it possible to comprehensively assess the features of MP accumulation in the organ.

The toxicity of MP and the mechanisms of its implementation are still poorly understood. S. Shan et al. [24], who discovered the ability of MP to accumulate in the brain, did not reveal neurotoxic effects in mice in their 7-day study. However, *in vitro* studies using immortalized human brain microvascular endothelial cells of the hCMEC/D3 line have demonstrated the toxic properties of the particles under study. The data presented by B. Liang et al. [29] indicate the ability of MP to cause neurodegenerative changes similar to those observed in Parkinson's disease. These changes are associated with impaired energy metabolism and mitochondrial dysfunction affecting all brain cells: the content of adenosine triphosphate and the level of expression of ATP-associated genes and proteins decrease. Q. Yang et al. [30], on the contrary, emphasize in their study that plastic microparticles rather do not have a direct cytotoxic effect on the brain, but rather affect the body as a whole. In particular, they found that plastic particles activate intestinal macrophages

and cause damage to lysosomes, which leads to activation of interleukin-1 signaling pathways. And the same process can affect immune responses in the brain, leading to activation of microglia and cell differentiation, which, in turn, is associated with deterioration of cognitive functions and short-term memory in mice. Other studies also confirm the interaction between the gut and the brain in the context of MP exposure: it was shown that administration of polystyrene microparticles to mice for eight weeks led to a deterioration in behavior in learning and memory tasks. Interestingly, ablation of the vagus nerve, a modulator of the gut–brain axis, improved memory function in mice treated with the studied microparticles [25].

A distinctive feature of this work was the use of a specialized program Microplastic detector, which allows for automatic morphometric analysis and recognition of MP on fluorescent micrographs. Due to consistent consideration of morphological criteria (roundness, size) and multi-stage thresholding, the program minimizes subjective operator error, ensuring reproducibility of data even when working with a small number of samples. Unlike universal tools, where for similar operations the operator would have to manually threshold or configure macros, Microplastic detector automatically generates and combines the results for a set range of threshold values. Separate settings for conglomerates allow to take into account the specifics of each set of images. In addition, the program not only generates summary tables for subsequent statistical analysis, but also saves visually labeled images, ensuring transparency and verifiability at all stages of processing. An important feature is the unified analysis protocol, which involves a single parameter setting, after which all images are processed in the same way, which is especially valuable for large amounts of data. In the future, the expansion of functionality (including machine learning methods and neural networks) will improve the accuracy of particle classification and identify more complex patterns of their distribution in tissues.

Thus, despite significant achievements in understanding the mechanisms of MP penetration and accumulation, the specifics of their effect on the nervous system remain poorly understood. Further research is needed to better understand the neurotoxic effects of MP, as well as their interaction with the immune system and possible effects on cognitive function.

**Limitations.** The study was limited to studying the distribution of MP of three sizes in a toxicological experiment on a single animal species (laboratory rat). The phase of the sexual cycle of female rats was not taken into account.

## Conclusion

It has been shown that MP measuring 100, 500 and 1000 nm when injected intracardiac into female rats pass the blood-brain barrier and are found in brain tissues.

Based on the data obtained, only the integration of approaches allows for a deeper understanding of the dynamics of accumulation of MP in the brain. The descriptive approach provides information about

the ability of particles to penetrate the blood-brain barrier, while the quantitative approach deepens the understanding of the actual content and distribution of these particles and their conglomerates.

The neurotoxicity of MP and the mechanisms of its implementation are still poorly understood. The prospects for further research may include a more detailed study of the mechanisms of interaction of microparticles with brain cells *in vivo*, as well as conducting behavioral tests in exposed animals.

## REFERENCES

- Zolotova N.A., Dzhaililova D.Sh., Tsvetkov I.S., Sentyabreva A.V., Makarova O.V. Morphological characteristics of internal organs of mice with long-term consumption of microplastics. *Klinicheskaya i eksperimental'naya morfologiya*. 2023; 12: 82–92. (In Russian)
- Song Z., Wu H., Fang X., Feng X., Zhou L. The cardiovascular toxicity of polystyrene microplastics in rats: based on untargeted metabolomics analysis. *Front Pharmacol*. 2024; 10(15): 1336369. <https://doi.org/10.3389/fphar.2024.1336369>
- Farag A.A., Youssef H.S., Sliem R.E., El Gazzar W.B., Nabil S., Mokhtar M.M., Marei Y.M., Ismail N.S., Radwaan S.E., Badr A.M., Sayed A.E.H. Hematological consequences of polyethylene microplastics toxicity in male rats: Oxidative stress, genetic, and epigenetic links. *Toxicology*. 2023; 492(11): 153545.
- Zhang Q., Lang Y., Tang X., Cheng W., Cheng Z., Rizwan M., Xie L., Liu Y., Xu H., Liu Y. Polystyrene microplastic-induced endoplasmic reticulum stress contributes to growth plate endochondral ossification disorder in young rat. *Environ Toxicol*. 2024; 39(6): 3314–29. <https://doi.org/10.1002/tox.24182>
- Tian L., Zhang Y., Chen J., Liu X., Nie H., Li K., Liu H., Lai W., Shi Y., Xi Z., Lin B. Effects of nanoplastic exposure during pregnancy and lactation on neurodevelopment of rat offspring. *J Hazard Mater*. 2024; 474: 134800. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.134800>
- Mercer G.V., Harvey N.E., Steeves K.L., Schneider C.M., Sled J.G., Macgowan C.K., Baschat A.A., Kingdom J.C., Simpson A.J., Simpson M.J., Jobst K.J., Cahill L.S. Maternal exposure to polystyrene nanoplastics alters fetal brain metabolism in mice. *Metabolomics*. 2023; 19(12): 96. <https://doi.org/10.1007/s11306-023-02061-3>
- Prüst M., Meijer J., Westerink R.H.S. The plastic brain: neurotoxicity of micro- and nanoplastics. *Part Fibre Toxicol*. 2020; 17: 24. <https://doi.org/10.1186/s12989-020-00358-y>
- Rafiee M., Dargahi L., Eslami A., Beirami E., Jahangiri-rad M., Sabour S., Amereh F. Neurobehavioral assessment of rats exposed to pristine polystyrene nanoplastics upon oral exposure. *Chemosphere*. 2018; 193: 745–53. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2017.11.076>
- Song S., van Dijk F., Vasse G.F., Liu Q., Gosselink I.F., Weltjens E., Remels A.H.V., de Jager M.H., Bos S., Li C., Stoeger T., Rehberg M., Kutschke D., van Eck G.W.A., Wu X., Willems S.H., Boom D.H.A., Kooter I.M., Spierings D., Wardenaar R., Cole M., Nawijn M.C., Salvati A., Gosens R., Melgert B.N. Inhalable Textile Microplastic Fibers Impair Airway Epithelial Differentiation. *Am J Respir Crit Care Med*. 2024; 209(4): 427–43. <https://doi.org/10.1164/rccm.202211-20990C>
- Da Silva Brito W.A., Mutter F., Wende K., Cecchini A.L., Schmidt A., Bekeschus S. Consequences of nano and microplastic exposure in rodent models: the known and unknown. *Part Fibre Toxicol*. 2022; 19(1): 28. <https://doi.org/10.1186/s12989-022-00473-y>
- Prata J.C., da Costa J.P., Lopes I., Duarte A.C., Rocha-Santos T. Environmental exposure to microplastics: An overview on possible human health effects. *Sci Total Environ*. 2020; 702: 134455. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.134455>
- Yin K., Wang D., Zhang Y., Lu H., Hou L., Guo T., Zhao H., Xing M. Polystyrene microplastics promote liver inflammation by inducing the formation of macrophages extracellular traps. *J Hazard Mater*. 2023; 452: 131236. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.131236>
- Guševac Stojanović I., Drakulić D., Todorović A., Martinović J., Filipović N., Stojanović Z. Acute Toxicity Assessment of Orally Administered Microplastic Particles in Adult Male Wistar Rats. *Toxics*. 2024; 12(3): 167. <https://doi.org/10.3390/toxics12030167>
- 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>
- Repina E.F., Khmel A.O., Karimov D.D., Ryabova Yu.V., Karimov D.O., Kulagin E.A., Akhmedeev A.R., Kudoyarov E.R. Distribution of 1000 nanometers plastic microparticles in vital organs after a single administration to laboratory animals. *International Journal of Applied and Fundamental Research*. 2025; 2: 40–4. <https://doi.org/10.17513/mjpf.13695> (In Russian)
- Repina E.F., Karimov D.O., Kudoyarov E.R., Karimov D.D., Akhmedeev A.R., Gizatullina A.A., Ryabova Yu.V., Khmel A.O. Preliminary assessment of the distribution of 500 nm plastic microparticles in rat organs after a single exposure. *Occupational Medicina truda i ekologiya cheloveka*. 2025; 1: 113–25. <https://doi.org/10.24412/2411-3794-2025-10109> (In Russian)
- Kannan K., Vimalakumar K. A Review of Human Exposure to Microplastics and Insights Into Microplastics as Obesogens. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021; 12: 724989. <https://doi.org/10.3389/fendo.2021.724989>
- 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>
- 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; 1: 18. <https://doi.org/10.1186/1743-8977-11-18>
- 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>
- 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>
- Karimov D.O., Ryabova Yu.V., Akhmedeev A.R., Khusnutdinova N.Yu., Kudoyarov E.R., Zaydullin I.I. Program for detecting microplastics in microscopic images. Patent RF No. RU2024685872; 2024 (in Russian)
- Romano J.P., Wolf M. Multiple Testing of One-Sided Hypotheses: Combining Bonferroni and the Bootstrap. *Predictive Econometrics and Big Data*. 2018; 753: 78–94. [https://doi.org/10.1007/978-3-319-70942-0\\_4](https://doi.org/10.1007/978-3-319-70942-0_4)
- Shan S., Zhang Y., Zhao H., Zeng T., Zhao X. Polystyrene nanoplastics penetrate across the blood-brain barrier and induce activation of microglia in the brain of mice. *Chemosphere*. 2022; 298: 134261. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134261>
- Lee C.W., Hsu L.F., Wu I.L., Wang Y.L., Chen W.C., Liu Y.J., Yang L.T., Tan C.L., Luo Y.H., Wang C.C., Chiu H.W., Yang T.C., Lin Y.Y., Chang H.A., Chiang Y.C., Chen C.H., Lee M.H., Peng K.T., Huang C.C. Exposure to polystyrene microplastics impairs hippocampus-dependent learning and memory in mice. *J Hazard Mater*. 2022; 430: 128431. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128431>
- Gaspar L., Bartman S., Coppotelli G., Ross J.M. Acute Exposure to Microplastics Induced Changes in Behavior and Inflammation in Young and Old Mice. *Int J Mol Sci*. 2023; 24(15): 12308. <https://doi.org/10.3390/ijms241512308>
- Jin H., Yang C., Jiang C., Li L., Pan M., Li D., Han X., Ding J. Evaluation of Neurotoxicity in BALB/c Mice following Chronic Exposure to Polystyrene Microplastics. *Environ Health Perspect*. 2022; 130(10): 107002. <https://doi.org/10.1289/EHP10255>
- Amato-Lourenço L.F., Dantas K.C., Júnior G.R., Paes V.R., Ando R.A., de Oliveira Freitas R., da Costa O.M.M.M., Rabelo R.S., Soares Bispo K.C., Carvalho-Oliveira R., Mauad T. Microplastics in the Olfactory Bulb of the Human Brain. *JAMA Netw Open*. 2024; 7(9): e2440018. <https://doi.org/10.1001/jamanetworkopen.2024.40018>
- Liang B., Huang Y., Zhong Y., Li Z., Ye R., Wang B., Zhang B., Meng H., Lin X., Du J., Hu M., Wu Q., Sui H., Yang X., Huang Z. Brain single-nucleus transcriptomics highlights that polystyrene nanoplastics potentially induce Parkinson's disease-like neurodegeneration by causing energy metabolism disorders in mice. *J Hazard Mater*. 2022; 430: 128459. <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128459>
- Yang Q., Dai H., Cheng Y., Wang B., Xu J., Zhang Y., Chen Y., Xu F., Ma Q., Lin F., Wang C. Oral feeding of nanoplastics affects brain function of mice by inducing macrophage IL-1 signal in the intestine. *Cell Rep*. 2023; 42(4): 112346. <https://doi.org/10.1016/j.celrep.2023.112346>

## INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Yuliya V. Ryabova** – Candidate of Medical Sciences, Head of the Laboratory of Toxicology, Department of Toxicology and Genetics with an experimental laboratory animal clinic, Ufa, 450106, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-2677-0479> E-mail: ryabovayuvl@yandex.ru

**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 Health, Ufa, 450106, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-5596-8180> E-mail: h-n-yu@yandex.ru

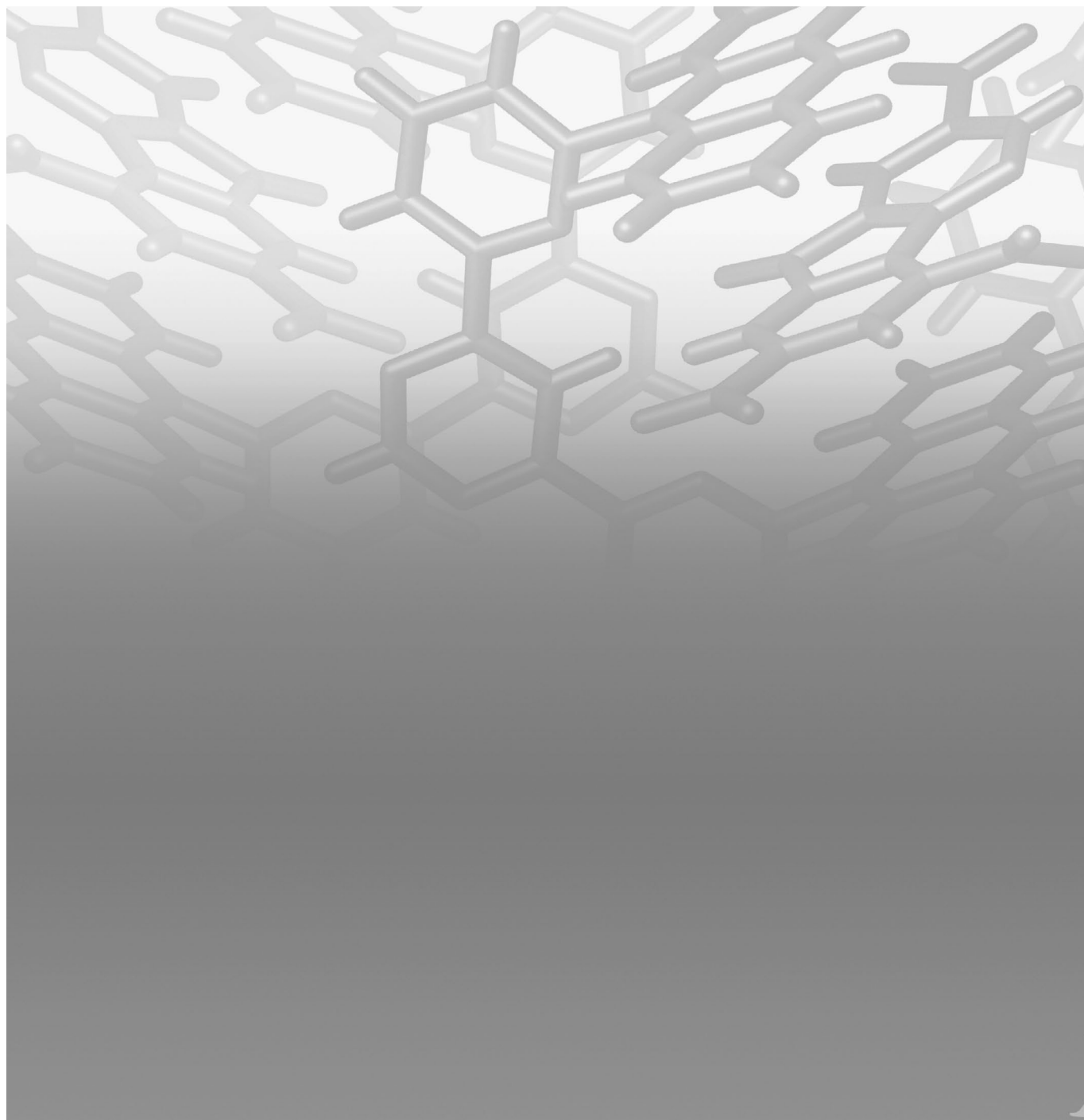
**Eldar R. Kudoyarov** – Junior Researcher, Laboratory of Genetics, Department of Toxicology and Genetics with an experimental laboratory animal clinic, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Health, Ufa, 450106, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0002-2092-1021> E-mail: [e.kudoyarov@yandex.ru](mailto:e.kudoyarov@yandex.ru)

**Yana V. Valova** – Candidate of Biological Sciences, 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 Health, Ufa, 450106, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0001-6605-9994> E-mail: [Q.juk@yandex.ru](mailto:Q.juk@yandex.ru)

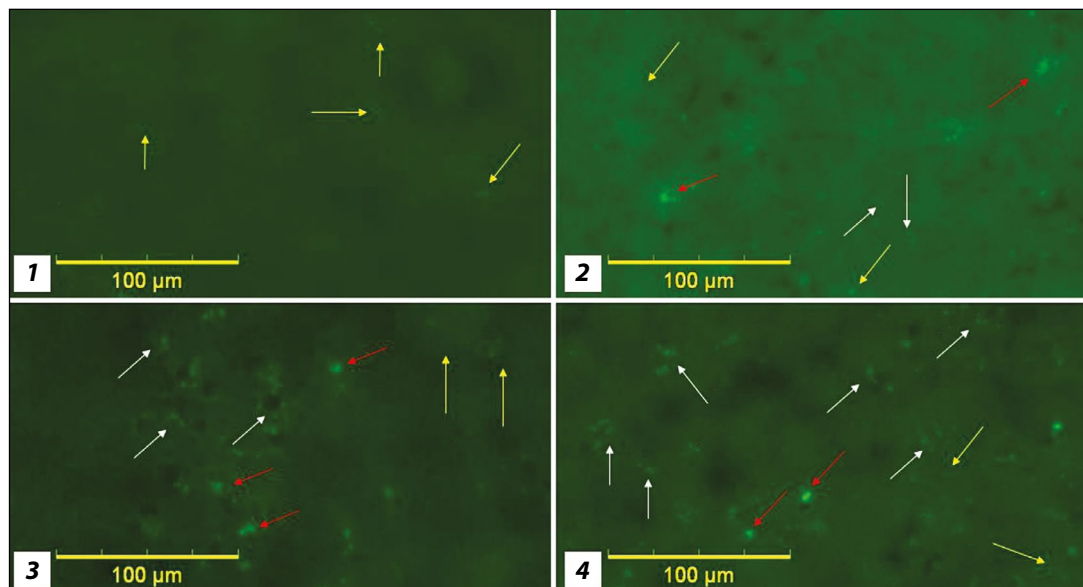
**Guzel F. Mukhammadiyeva** – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, Laboratory of Genetics, Department of Toxicology and Genetics with an experimental laboratory animal clinic, Ufa Research Institute of Occupational Health and Human Health, Ufa, 450106, Russian Federation, <https://doi.org/0000-0002-7456-4787> E-mail: [ufniimt@mail.ru](mailto:ufniimt@mail.ru)

**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 Health, Ufa, 450106, Russian Federation <https://orcid.org/0000-0001-7309-4990> E-mail: [dgaar87@gmail.com](mailto:dgaar87@gmail.com)

**Denis O. Karimov** – Candidate of Medical Sciences, Head of the Department of Toxicology and Genetics with an experimental laboratory animal clinic “Ufa Research Institute of Occupational Medicine and Human Health,” Ufa, 450106, Russian Federation; Senior Researcher, Department of Public Health Research, National Research Institute of Public Health named after N.A. Semashko, Moscow, 105064, Russian Federation, <https://orcid.org/0000-0003-0039-6757> E-mail: [karimovdo@gmail.com](mailto:karimovdo@gmail.com)

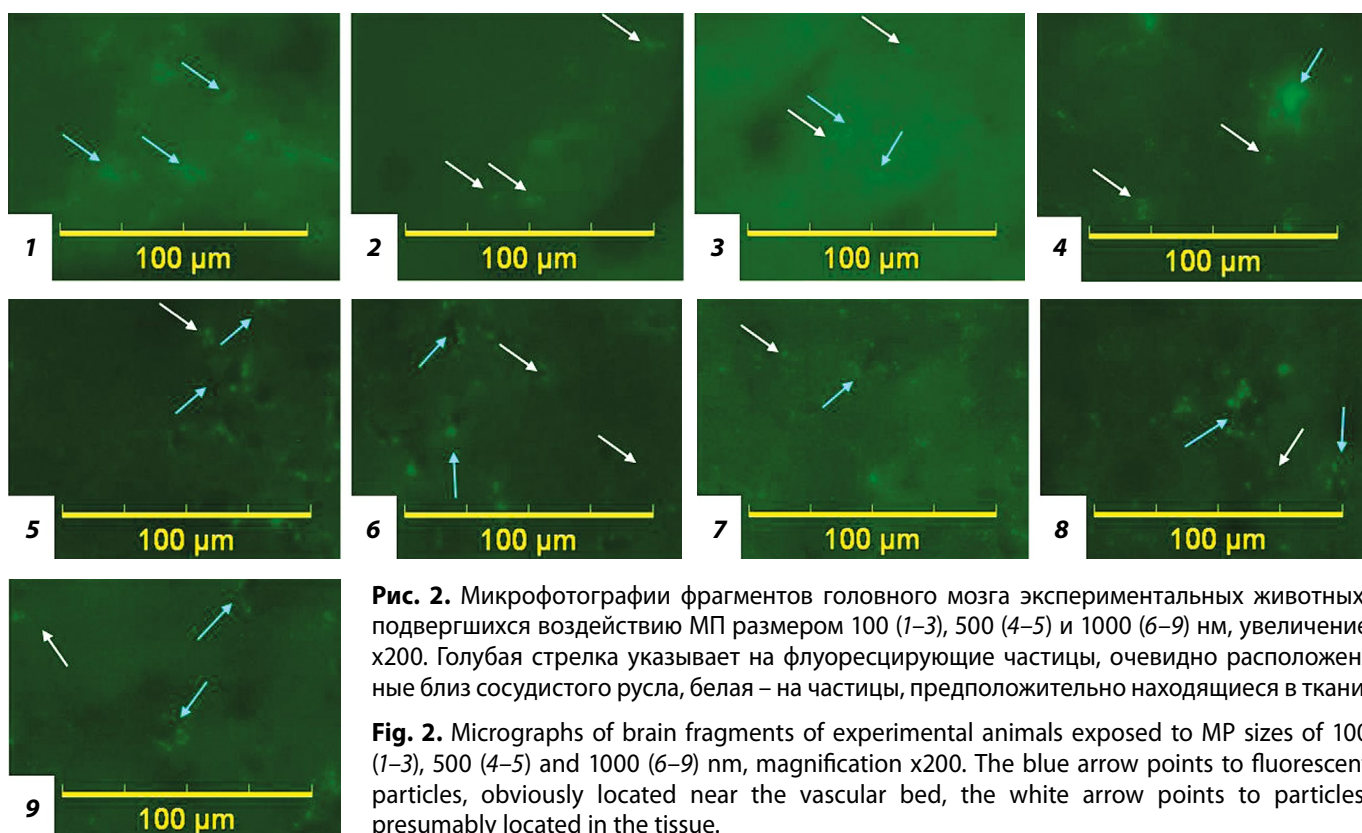


*К статье Ю.В. Рябовой и соавт.  
To the article by Yuliya V. Ryabova et al.*



**Рис. 1.** Микрофотографии фрагментов головного мозга животных контрольной группы (1) и экспериментальных животных, подвергшихся воздействию МП размером 100 (2), 500 (3) и 1000 (4), увеличение x200. Желтые стрелки указывают на фоновое свечение, белые – на флуоресцирующие частицы, красные – на их конгломераты.

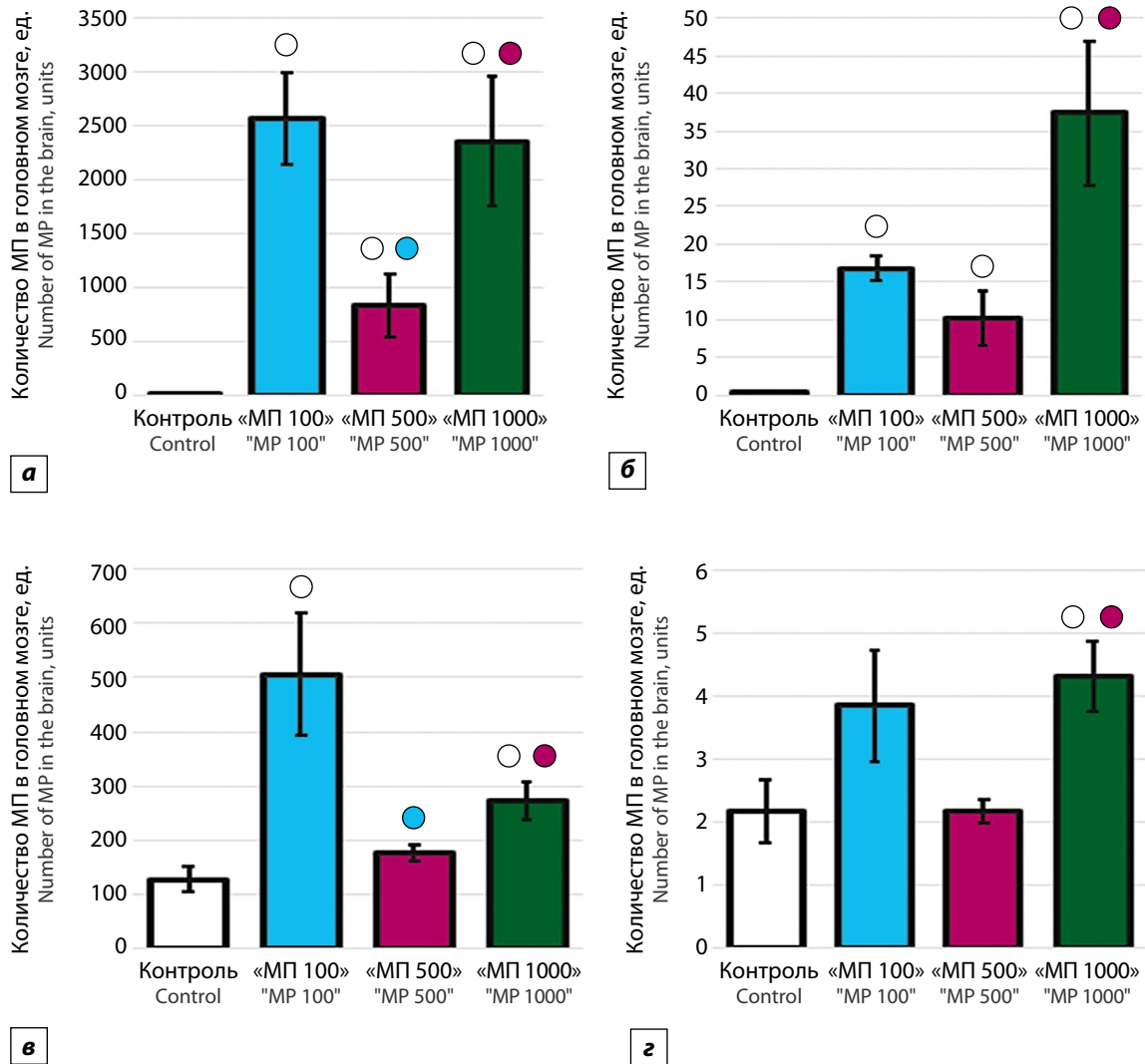
**Fig. 1.** Micrographs of brain fragments of animals of the control group (1) and experimental animals exposed to MP size 100 (2), 500 (3) and 1000 (4), magnification x200. The yellow arrows indicate the background glow, the white ones indicate the fluorescent particles, and the red ones indicate their conglomerates.



**Рис. 2.** Микрофотографии фрагментов головного мозга экспериментальных животных, подвергшихся воздействию МП размером 100 (1–3), 500 (4–5) и 1000 (6–9) нм, увеличение x200. Голубая стрелка указывает на флуоресцирующие частицы, очевидно расположенные близ сосудистого русла, белая – на частицы, предположительно находящиеся в ткани.

**Fig. 2.** Micrographs of brain fragments of experimental animals exposed to MP sizes of 100 (1–3), 500 (4–5) and 1000 (6–9) nm, magnification x200. The blue arrow points to fluorescent particles, obviously located near the vascular bed, the white arrow points to particles, presumably located in the tissue.

К статье Ю.В. Рябовой и соавт.  
To the article by Yuliya V. Ryabova et al.



Различия достоверны ( $p < 0,05$ ): / The differences are significant ( $p < 0.05$ ):

- с группой «Контроль» / with the "Control" group
- с группой «МП 100» / with the "MP 100" group
- с группой «МП 500» / with the "MP 500" group

**Рис. 3.** Результаты количественной оценки содержания микропластика (МП) и их конгломератов (плотность 1000 × 1000 пикс.) в головном мозге крыс: а – количество МП в головном мозге, ед.; б – плотность МП в головном мозге, 1000х1000 пикс.; в – количество конгломератов МП в головном мозге, ед.; г – плотность конгломератов МП в головном мозге, 1000х1000 пикс.

**Fig. 3.** Results of quantitative assessment of the content of MP and their conglomerates in the brain: the number of MP in the brain, units (a) and their density, 1000x1000 pixels (б); the number of MP conglomerates in the brain, units (в) and their density, 1000x1000 pixels (г).