

聚苯乙烯纳米塑料口服暴露与小鼠肝肾损伤的相关性评估:芒果苷干预的初步观察

昌德炜¹,施汶宁¹,徐森¹,吕建国^{2,3},孙燕玲^{4*}

(1 湖北科技学院医学部药学院,湖北 咸宁 437100;2 湖北科技学院医学部临床医学院,湖北 咸宁 437100;
3 湖北科技学院附属二医院,湖北 咸宁 437100;4 湖北科技学院医学部基础医学院,湖北 咸宁 437100)

摘要:目的 评估聚苯乙烯纳米塑料(PS-NPs)口服暴露与小鼠肝肾损伤的相关性,并初步评估芒果苷(MGF)的干预趋势。方法 60 只 BALB/c 小鼠随机分为 6 组:Saline 组、0.1 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组、1 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组、10 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组、100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组和 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs+120 mg·kg⁻¹·d⁻¹ MGF 组,每组 10 只。所有组别灌胃体积均为 10 μL·g⁻¹,相应给药剂量通过“10 μL·g⁻¹×PS-NPs/MGF 浓度”换算获得。观察并记录各组小鼠的体重变化以及肝、肾脏器系数的变化;酶联免疫吸附测定法(Elisa)检测血清谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)、碱性磷酸酶(AKP)、血尿素氮(BUN)、血肌酐(SCr)和尿酸(UA)水平;苏木素-伊红(HE)染色观察肝、肾组织病理变化;过碘酸-雪夫(PAS)染色观察肝、肾组织糖原变化;荧光探针法检测肝、肾组织活性氧(ROS)水平,微板法检测谷胱甘肽(GSH)、丙二醛(MDA)和 8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)水平。数据分析采用单因素 ANOVA(one-way ANOVA)及 Tukey 事后检验,设定双侧 α=0.05。结果 与 Saline 组比较,各 PS-NPs 暴露组小鼠的体重下降,肝、肾脏器系数增加;血清肝、肾功能指标(ALT、AST、AKP、BUN、SCr、UA)均呈上升趋势;肝组织出现肝小叶结构紊乱、肝血窦扩张及肝细胞肿胀;肾组织表现为肾小球体积增大、肾小管上皮细胞变薄、排列松散及管腔扩张;肝、肾 PAS 染色显示紫红色颗粒物随 PS-NPs 剂量递增而增多;肝、肾组织 ROS、MDA 和 8-OHdG 水平升高,GSH 水平下降。100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs+120 mg·kg⁻¹·d⁻¹ MGF 组上述指标均较 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组呈现改善趋势。结论 PS-NPs 口服暴露与肝肾损伤及氧化应激升高相关,MGF 显示潜在缓解。因材料表征与分子通路未完善,因果关系待后续验证。

关键词:聚苯乙烯纳米塑料;肝肾损伤;氧化应激;芒果苷

中图分类号:X505;X503.2

文献标志码:A

Association between polystyrene nanoplastics exposure and hepatorenal injury in mice: preliminary intervention study with mangiferin

CHANG Dewei¹,SHI Wenning¹,XU Miao¹,LYU Jianguo^{2,3},SUN Yanling^{4*}

(1 School of Pharmacy, Hubei University of Science and Technology,Xianning, Hubei 437100, China;
2 School of Clinical Medical Sciences, Hubei University of Science and Technology,Xianning, Hubei 437100, China;
3 The Second Affiliated Hospital, Hubei University of Science and Technology,Xianning, Hubei 437100, China;
4 School of Basic Medical Sciences, Hubei University of Science and Technology,Xianning, Hubei 437100, China)

Abstract: Objective To evaluate the correlation between oral exposure to polystyrene nanoplastics (PS-NPs) and hepatorenal injury in mice, and to preliminarily assess the intervention trend of mangiferin (MGF). **Methods** Sixty BALB/c mice were randomly divided into six groups (n=10 per group): Saline, 0.1 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs, 1 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs, 10 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs, 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs, and 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs+120 mg·kg⁻¹·d⁻¹ MGF. All groups were administered via oral gavage at a volume of 10 μL·g⁻¹, with corresponding dosages calculated as "10 μL·g⁻¹×PS-NPs/MGF concentration." Changes in body weight and organ coefficients of the liver and kidney were observed and recorded for each group of mice. Serum levels of alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (AKP), blood urea nitrogen (BUN), serum creatinine (SCr), and uric acid (UA) were measured using enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Histopathological changes in liver and kidney tissues were observed through hematoxylin-eosin

收稿日期:2025-05-25

基金项目:国家自然科学基金项目(81902937)

作者简介:昌德炜(1995—),男,硕士研究生,专业方向为药效与药物安全性评价。

* 通信作者:孙燕玲(1980—),女,副教授,从事药效与药物安全性评价与基础研究,e-mail:sunstonesyl@163.com。

(HE) staining, and glycogen changes in these tissues were examined using periodic acid-Schiff (PAS) staining. Reactive oxygen species (ROS) levels in liver and kidney tissues were detected using fluorescent probes, while glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA), and 8-hydroxy-2'-deoxyguanosine (8-OHdG) levels were measured by microplate assay. Data were analyzed using one-way ANOVA with Tukey's post hoc test (two-sided $\alpha=0.05$). **Results** Compared to the Saline group, mice exposed to all concentrations of PS-NPs exhibited reduced body weight and increased liver/kidney organ coefficients. Serum indicators of liver and kidney function, including ALT, AST, AKP, BUN, SCr, and UA, demonstrated an upward trend. Histological examination of liver tissues revealed disordered hepatic lobule structures, dilated hepatic sinusoids, and swollen hepatocytes. Kidney tissues exhibited enlarged glomerular volumes, thinning and disarrangement of renal tubular epithelial cells, and tubular dilation. PAS staining revealed a dose-dependent increase in purplish-red granules in both liver and kidney tissues. ROS, MDA, and 8-OHdG levels were elevated, while GSH levels were decreased in liver and kidney tissues. Notably, the group receiving $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ NPs combined with $120 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ MGF exhibited improving trends in the aforementioned indicators compared to the group receiving $100 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ NPs alone. **Conclusion** Oral PS-NPs exposure is associated with hepatorenal injury and elevated oxidative stress, while MGF demonstrates potential alleviative effects. However, due to incomplete material characterization and molecular pathway validation, the causal relationship requires further investigation.

Key words: polystyrene nanoplastics; hepatorenal injury; oxidative stress; mangiferin

纳米塑料 (Nanoplastics, NPs) 作为一种新兴的环境污染物,其潜在健康风险正日益受到关注。肝脏参与糖脂蛋白代谢与解毒,还通过合成胆汁促进脂质消化,并生成 85%~90% 循环蛋白质,对生命活动至关重要^[1]。肾脏不仅是机体重要的排泄器官,还通过调节电解质平衡(如 $\text{K}^+/\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ 浓度)、酸碱稳态(HCO_3^- 重吸收与 H^+ 分泌)及体液渗透压维持内环境稳定^[2]。NPs 粒径较小,可以通过呼吸道和胃肠道进入生物体,经过吸收或表皮浸润通过血液循环积累到肝脏和肾脏中,可能对其产生多种影响,诱导形态和功能变化^[3]。

氧化应激作为外源性毒物诱发肝肾损伤的核心病理枢纽,其动态失衡是评估化学物质毒性的关键靶标。氧化应激通过介导活性氧 (Reactive oxygen species, ROS) 的异常蓄积,触发脂质过氧化,从而直接破坏肝细胞膜完整性并介导肾小管上皮细胞程序性死亡,最终导致肝、肾组织不可逆的病理损伤^[4]。肝脏与肾脏因其高代谢活性易受环境污染物、药物或工业化学物的靶向攻击^[5]。目前针对新型环境污染物 NPs 诱导肝肾损伤的具体分子机制尚未完全阐明,氧化应激是否在其间作为主导调控通路,仍缺乏关键性实验证据支撑。

芒果苷 (Mangiferin, MGF) 是一种天然多酚类化合物,广泛存在于芒果、知母等植物中,已有研究报道其具有抗氧化、抗炎及细胞保护等多种药理活性^[6]。其在化学性肝损伤、代谢紊乱等相关疾病模型中显示出一定的保护潜力,但其在 NPs 所致肝肾复合毒性中的干预效果与作用特点尚待深入探讨。因此,本研究通过建立聚苯乙烯纳米塑料 (Polystyrene Nanoplastics, PS-NPs) 口服暴露小鼠模型,系统观察不同剂量

PS-NPs 对肝肾功能、组织结构及相关氧化应激指标的影响,并初步评估 MGF 的干预趋势,旨在为 NPs 的毒理学机制阐释及潜在防护策略提供实验依据。

1 材料与方法

1.1 动物、试剂与仪器

雄性 BALB/c 小鼠 60 只,SPF 级,6~8 周龄,体重 20~25 g,由湖北省实验动物研究中心提供,动物合格证号:42000600060293。动物房温度 24~26 °C,湿度 45%~50%,昼夜节律为 12 h,动物自由饮食进水。已经过湖北科技学院实验动物伦理委员会审批,符合伦理学规定,动物伦理审批编号:2024-11-010。

80 nm PS-NPs 购自天津均益佳科技有限责任公司(货号 6-1-0008)。MGF 购自上海源叶生物科技有限公司(货号 G08J12L136772),羧甲基纤维素钠(CMC-Na)购自阿拉丁生化科技股份有限公司(货号 B2215321),过碘酸-雪夫(PAS)染色液购自武汉赛维尔生物科技有限公司(货号 G1008-20ML),苏木素-伊红(HE)染色液购自北京中杉金桥生物技术有限公司(货号 ZLI-9610),谷丙转氨酶(ALT)、谷草转氨酶(AST)和碱性磷酸酶(AKP)检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所(货号 C009-2-1、C010-2-1 和 A059-2-2),血尿素氮(BUN)、血肌酐(SCr)和尿酸(UA)检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所(货号 C012-2-1、C013-2-1 和 C011-2-1),ROS 检测试剂盒(绿色荧光)购自北京普利莱基因技术有限公司(货号 2024C1D),谷胱甘肽(GSH)和丙二醛(MDA)检测试剂盒购自南京建成生物工程研究所(货号 A006-2-1 和 A003-1-1)。

2),8-羟基脱氧鸟苷(8-OHdG)检测试剂盒购自上海源桔生物科技公司(货号 YJ002198)。

RM2245 石蜡切片机(德国 Leica 公司),CH2 生物显微镜(日本 Olympus 公司),5415R 低温冷冻离心机(德国 Eppendorf 公司),FLx 800 荧光酶标仪(美国 Bio-Tek 仪器有限公司),BAS124S 电子天平(德国 Sartorius 公司),MDF-U53V -80 °C 超低温冰箱(日本 Sanyo 公司)。

1.2 动物分组和给药

适应性喂养 1 周后,采用 3 次随机数字表法将 60 只 BALB/c 小鼠分为 6 组:Saline 组、0.1 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组、1 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组、10 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组、100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组和 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs + 120 mg·kg⁻¹·d⁻¹ MGF 组,每组 10 只。

80 nm PS-NPs 原液(25 mg·mL⁻¹)经纯水稀释为 0.01、0.1、1 及 10 mg·mL⁻¹ 4 个浓度,4 °C 保存。所有 PS-NPs 组均通过口服暴露进行染毒,各组 PS-NPs 溶液于操作前前室温超声处理 5 min,给药剂量分别为 0.1、1、10 和 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹,每日 1 次(qd)× 28 d。Saline 组同期灌胃等体积 0.9% 氯化钠溶液。给药体积统一为 10 μL·g⁻¹ 体重^[7]。

0.5% CMC-Na 溶液的配制:称定 1.0 g CMC-Na 粉末,缓慢平铺于 150 mL 的灭菌后的去离子水中,加热震荡 20 min,待溶胀完全后,搅拌 30 min,待溶解完全后加入灭菌后的去离子水,定容至 200 mL,临用前配制。

MGF 溶液配制:称定 480.0 mg MGF 粉末,加入 40 mL 0.5% CMC-Na 溶液搅拌充分至溶解完全,即配制成 12 mg·mL⁻¹ MGF 混悬液,4 °C 保存备用。100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs+120 mg·kg⁻¹·d⁻¹ MGF 组小鼠在 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 口服暴露 2 h 后,灌胃给予 120 mg·kg⁻¹·d⁻¹ MGF 混悬液,给药体积同为 10 μL·g⁻¹^[7],qd×28 d。本研究未单独设置 CMC-Na 及 MGF 对照组,此局限性在结果解读时需加以考虑。

1.3 PS-NPs 表征

用超纯水将 PS-NPs 稀释成浓度为 100 μg/mL 的溶液,超声 30 min 备用。吸取 5 μL PS-NPs 溶液滴至铜网上,将干燥后的样品置于电镜下观察其形貌并拍照记录。将上述制备的 PS-NPs 悬液用 Zeta 电位分析仪测定 Zeta 电位。本研究仅表征了纳米材料的形貌与 Zeta 电位,未检测其 DLS/PDI、内毒素及介质稳定性,此局限在结果分析中应予考虑。

1.4 一般情况检测

观察并记录小鼠饮食、毛发情况,称量小鼠染毒前

体重(第 1 天体重)和末次染毒后体重(第 28 天体重)。

1.5 肝、肾脏器系数的测定

染毒结束后记录小鼠体重,颈椎脱臼法处死小鼠,立即取小鼠肝脏和肾脏,分别记录肝、肾质量,并计算脏器系数(脏器质量与动物体重之比)。

1.6 肝、肾功能检测

染毒结束后小鼠经眼球取血收集血液,静置 2 h 后,离心机 4 °C,3 000 r·min⁻¹ 离心 20 min 分离血清,严格按照各试剂盒说明书要求,通过酶联免疫吸附测定法(Elisa)检测各组小鼠血清 ALT、AST、AKP、BUN、SCr 和 UA 水平。

1.7 形态学检测

1.7.1 HE 染色

染毒结束后将小鼠脱颈处死,仰卧固定于手术台上,开胸暴露心脏,将输液管针头沿心轴方向刺入从心尖 5~6 mm,开始灌流后剪破右心耳,先用 50 mL 温热的生理盐水快速冲洗血管,再用 450 mL 预冷的 4% 多聚甲醛灌注固定,取出整肝和肾后将其放入同种固定液中再固定 24~48 h。常规制成石蜡包埋块后制成厚度约 4 μm 的切片。常规 HE 染色,双蒸水漂洗,70% 酒精分色,梯度酒精脱水,二甲苯透明,封片后在光学显微镜下观察肝、肾组织的形态学变化并拍照保存。

1.7.2 PAS 染色

染毒结束后将小鼠脱颈处死,仰卧固定于手术台上,开胸暴露心脏,将输液管针头沿心轴方向刺入从心尖 5~6 mm,开始灌流后剪破右心耳,先用 50 μL 温热的生理盐水快速冲洗血管,再用 450 mL 预冷的 4% 多聚甲醛灌注固定,取出整肝和肾后将其放入同种固定液中再固定 24~48 h。常规制成石蜡包埋块后制成厚度约 4 μm 的切片。常规 PAS 染色,双蒸水漂洗,70% 酒精分色,梯度酒精脱水,二甲苯透明,封片后在光学显微镜下观察肝、肾组织的糖原变化并拍照保存。

1.8 肝、肾氧化应激检测

染毒结束后将小鼠脱颈处死,仰卧固定于手术台上,开胸暴露心脏,将输液管针头沿心轴方向刺入从心尖 5~6 mm,开始灌流后剪破右心耳,先用 50 mL 温热的生理盐水快速冲洗血管,再用 450 mL 预冷的 4% 多聚甲醛灌注固定,取出整肝和肾后将其放入同种固定液中再固定 24~48 h。取肝、肾组织各 0.1 g 左右,按照 0.1 g 组织与 900 μL 生理盐水的比例混合,放入手持匀浆器中,置于冰上研磨,混悬

液倒入离心管中,离心机 4°C , $10\,000\ \text{r}\cdot\text{min}^{-1}$ 离心 $10\ \text{min}$,取上清液,严格按照各试剂盒说明书要求,通过荧光探针法检测各组小鼠肝、肾组织 ROS 水平,微板法测定 GSH、MDA 和 8-OHdH 水平。

1.9 统计学处理

数据基于每组 10 只动物的独立实验样本 ($n=10$),采用 SPSS 27.0 软件进行统计分析,GraphPad Prism 10.0 软件进行图表绘制。计量资料以均值 \pm 标准差 ($\bar{x}\pm s$) 表示,并报告 95% 置信区间 (95% CI)。HE 与 PAS 染色图像通过 Image J 软件,以肝小叶、肾小球及肾小管结构为感兴趣区域 (ROI) 进行半定量分析。组间比较采用单因素方差分析 (one-way ANO-

VA),事后检验选用 Tukey 法,设定双侧检验水准 $\alpha=0.05$ 。 $P<0.05$ 视为差异具有统计学意义。

2 结果

2.1 PS-NPs 表征结果

在对 PS-NPs 的毒性进行研究之前,先对其物理性质进行表征,以确定 PS-NPs 的形状、粒径和电位。由图 1a PS-NPs 的电镜图像可知,所用 PS-NPs 形状为均匀的球形,平均直径为 $80\ \text{nm}$ 左右,分散性良好。PS-NPs 分散于超纯水中的 Zeta 电位如图 1b 所示,测定为 $(-15\pm 0.9)\ \text{mV}$ 。以上结果表明,所用 PS-NPs 形状与尺寸均匀,粒径为 $80\ \text{nm}$ 左右,带负电性质。

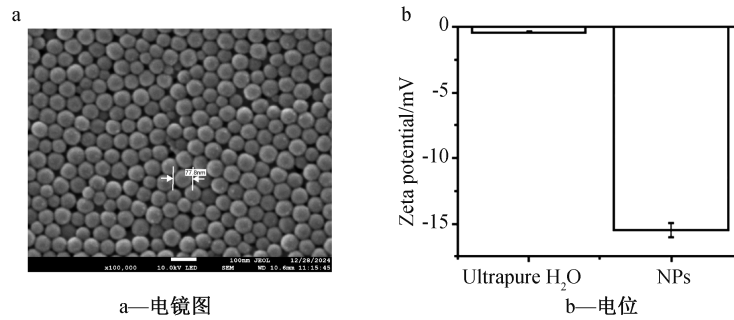


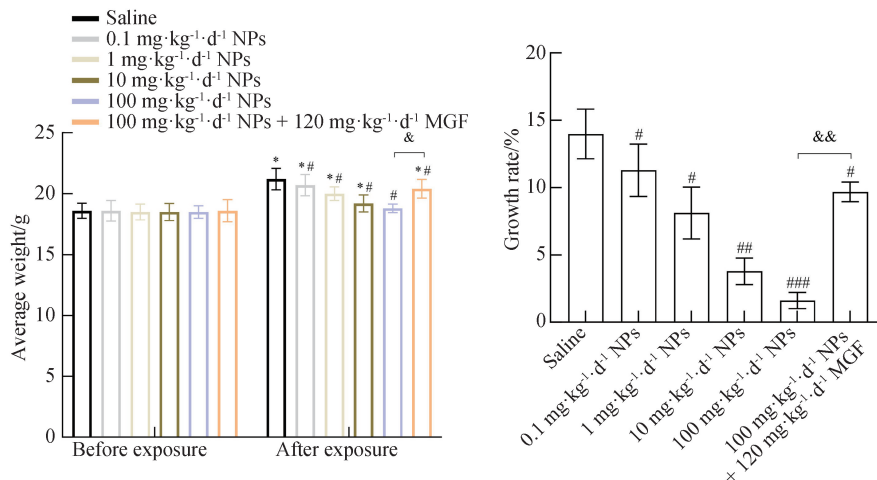
图 1 PS-NPs 表征结果

Figure 1 PS-NPs characterization results

2.2 一般情况比较

与染毒前比较,末次染毒后 Saline 组小鼠摄食正常,毛发有光泽,体重明显增加; $0.1\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ NPs 组、 $1\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ NPs 组、 $10\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ NPs 组、 $100\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ NPs 组和 $100\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ NPs 组小鼠摄食相对减少,毛发粗糙无光泽,体重略有增加。末次染毒后,与 Saline 组比较, $0.1\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$

NPs 组、 $1\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ NPs 组、 $10\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ NPs 组、 $100\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ NPs 组和 $100\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ NPs 组小鼠体重减轻,体重增长率降低,差异具有统计学意义 ($P<0.05$); 与 $100\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ NPs 组比较, $100\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ NPs + $120\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ MGF 组小鼠体重增加,体重增长率升高,差异具有统计学意义 ($P<0.05$),见图 2。



组间比较采用 one-way ANOVA 及 Tukey 事后检验;与染毒前比较,*表示 $P<0.05$;与 Saline 组比较,#表示 $P<0.05$,##表示 $P<0.01$,

###表示 $P<0.001$;与 $100\ \text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}\cdot\text{d}^{-1}$ NPs 组比较,&&表示 $P<0.01$, $\bar{x}\pm SD$, $n=10$ 。

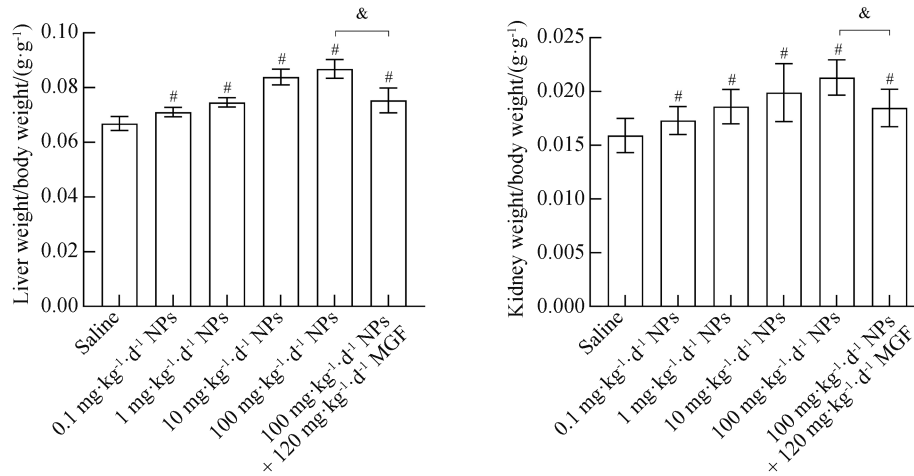
图 2 各组小鼠体重的变化

Figure 2 Changes in body weight of mice in each group

2.3 脏器系数比较

脏器系数是实验动物某脏器的质量与其体重的比值,是毒理学实验中常用的指标。肝脏系数结果表明,与 Saline 组比较,0.1 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组、1 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组、10 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组和 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组肝脏系数显著升高($P<0.05$);与 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组比较,100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs+

120 mg·kg⁻¹·d⁻¹ MGF 组小鼠肝脏系数显著下降($P<0.05$);肾脏系数结果表明,与 Saline 组比较,0.1 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组、1 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组、10 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组和 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组肾脏系数显著升高($P<0.05$);与 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组比较,100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs+120 mg·kg⁻¹·d⁻¹ MGF 组小鼠肾脏系数显著下降($P<0.05$),见图 3。



$\bar{x}\pm SD$, $n=10$; 组间比较采用 one-way ANOVA 及 Tukey 事后检验;与 Saline 组比较, #表示 $P<0.05$;与 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组比较, & 表示 $P<0.05$ 。

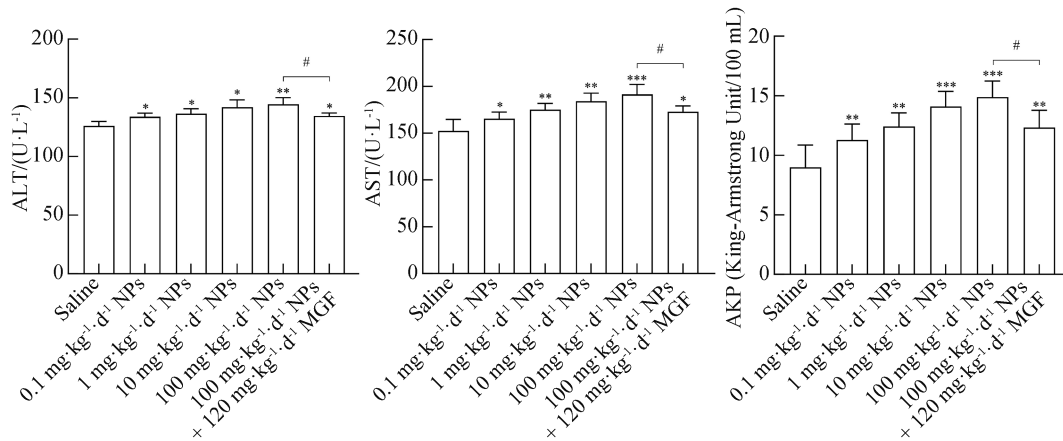
图 3 各组小鼠肝脏和肾脏系数的变化

Figure 3 Changes of liver coefficient and kidney coefficient in each group of mice

2.4 血清 ALT、AST、AKP 水平比较

末次染毒后,与 Saline 组比较,0.1 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组、1 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组、10 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组和 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组小鼠血清 ALT、AST 和

AKP 水平升高,差异具有统计学意义($P<0.05$);与 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组比较,100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs+120 mg·kg⁻¹·d⁻¹ MGF 组小鼠血清 ALT、AST 和 AKP 水平略有下降,差异具有统计学意义($P<0.05$),见图 4。



$\bar{x}\pm SD$, $n=6$; 组间比较采用 one-way ANOVA 及 Tukey 事后检验;与 Saline 组比较, *表示 $P<0.05$; **表示 $P<0.01$;

***表示 $P<0.001$;与 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组比较, #表示 $P<0.05$ 。

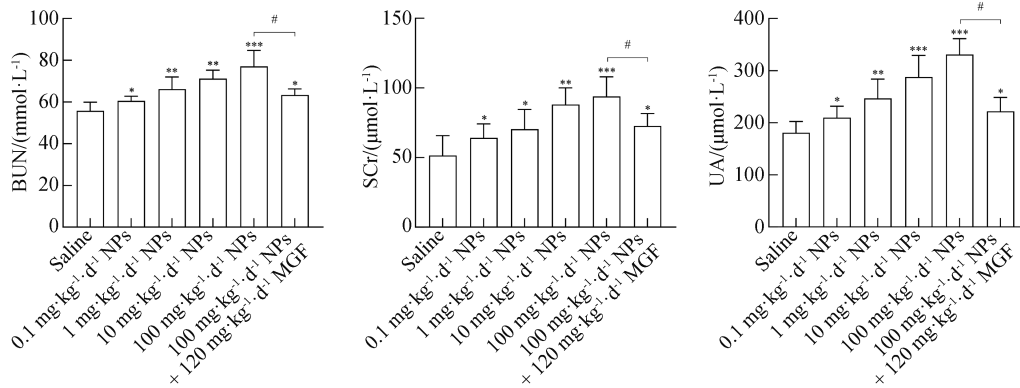
图 4 各组小鼠血清 ALT、AST、AKP 水平比较

Figure 4 Comparison of ALT, AST and AKP levels in serum of mice in each group

2.5 血清 BUN、SCr、UA 水平比较

末次染毒后,与 Saline 组比较,0.1 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组、1 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组、10 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组和 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组小鼠血清 BUN、SCr 和 UA

水平升高,差异具有统计学意义($P<0.05$);与 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组比较,100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs+120 mg·kg⁻¹·d⁻¹ MGF 组小鼠血清 BUN、SCr 和 UA 水平略有下降,差异具有统计学意义($P<0.05$),见图 5。



$\bar{x} \pm SD, n=6$; 组间比较采用 one-way ANOVA 及 Tukey 事后检验; 与 Saline 组比较, * 表示 $P < 0.05$; ** 表示 $P < 0.01$; *** 表示 $P < 0.001$; 与 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ NPs 组比较, # 表示 $P < 0.05$ 。

图 5 各组小鼠血清 BUN、SCr、UA 水平比较

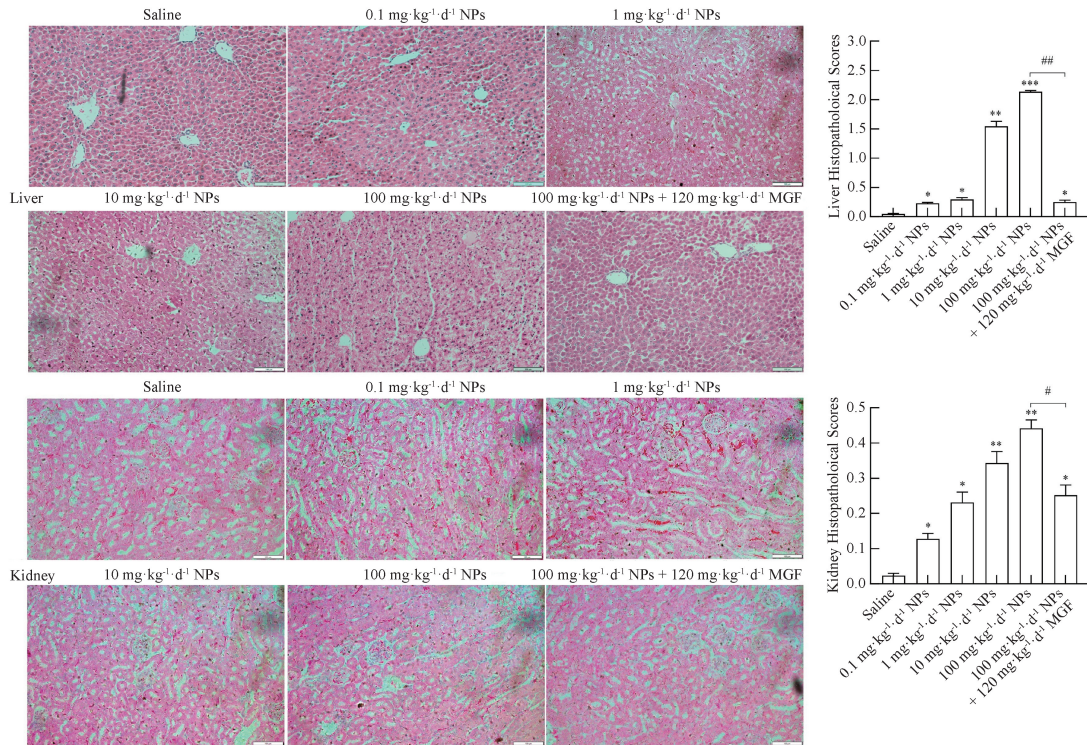
Figure 5 Comparison of BUN, SCr and UA levels in serum of mice in each group

2.6 肝、肾组织 HE 染色

Saline 组肝小叶轮廓清晰,肝血窦间隙均匀,肝细胞呈规则多面体形,排列整齐,细胞核居中且染色均匀;与 Saline 组相比, $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ NPs 组、 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ NPs 组、 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ NPs 组和 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ NPs 组呈现渐进性肝脏损伤,表现为肝小叶结构破坏、肝血窦扩张、肝细胞排列紊乱,并出现明显的细胞肿胀和体积增大,同时伴有细胞核固缩和染色加深等病理改变; $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ NPs + $120 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ MGF 组较 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ NPs 组肝组

织中,肝小叶结构较为完整,肝细胞形态与排列趋于规则。

Saline 组小鼠肾小球形态正常且分布均匀,肾小管上皮细胞排列紧密、管腔规则;与 Saline 组相比, $0.1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ NPs 组、 $1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ NPs 组、 $10 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ NPs 组和 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ NPs 组呈现剂量依赖性的肾脏病理改变,表现为肾小球体积增大、肾小管上皮细胞变薄、排列松散,管腔扩张等特征; $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ NPs + $120 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ MGF 组较 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ NPs 组肾组织中,肾小球形态与肾小管结构排列较为规整,见图 6。



$n=3$; 比例尺: $100 \mu\text{m}$; ROI 为肝小叶及肾小球和肾小管结构, * 表示 $P < 0.05$; ** 表示 $P < 0.01$; *** 表示 $P < 0.001$; 与 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ NPs 组比较, # 表示 $P < 0.05$; ## 表示 $P < 0.01$ 。

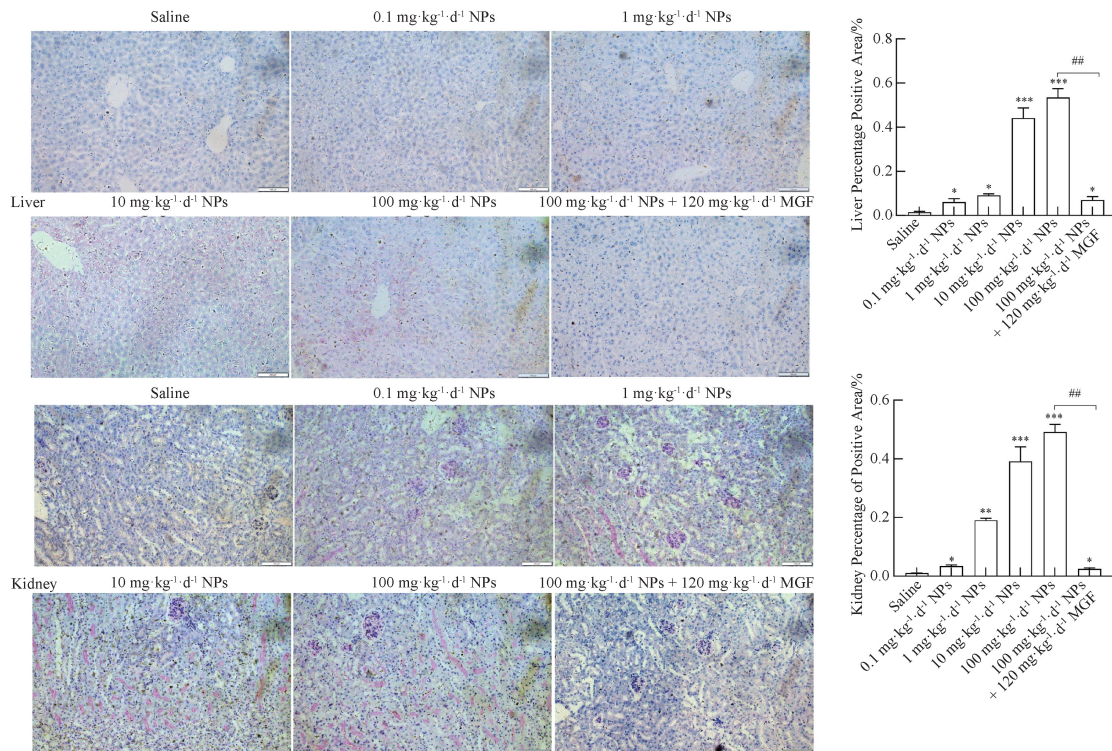
图 6 各组小鼠肝、肾组织 HE 染色 (20 \times)

Figure 6 HE staining of liver and kidney tissues in each group of mice (20 \times)

2.7 肝、肾组织 PAS 染色

Saline 组小鼠肝组织结构正常,肝细胞胞质内未见紫红色颗粒状物质。与 Saline 组相比,0.1 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组、1 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组、10 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组和 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组肝细胞胞质内中可见紫红色颗粒状物质,其数量随 NPs 剂量递增而增多。与 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组相比,100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs+120 mg·kg⁻¹·d⁻¹ MGF 组的紫红色颗粒状物质有所减少。

Saline 组小鼠肾组织结构正常,肾小球及肾小管区域未见紫红色颗粒状物质。与 Saline 组相比,0.1 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组、1 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组、10 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组和 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组肾小管等结构中可见紫红色颗粒状物质,其数量随 NPs 剂量递增而增多。与 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组相比,100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs+120 mg·kg⁻¹·d⁻¹ MGF 组的紫红色颗粒状物质减少,见图 7。



$n=3$; 比例尺: 100 μm ; ROI 为肝小叶及肾小球和肾小管结构; * 表示 $P<0.05$; ** 表示 $P<0.01$; *** 表示 $P<0.001$;

与 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组比较, # 表示 $P<0.05$, ## 表示 $P<0.01$ 。

图 7 各组小鼠肝、肾组织 PAS 染色 (20 \times)

Figure 7 PAS staining of liver and kidney tissues in each group of mice (20 \times)

2.8 肝、肾组织氧化应激水平比较

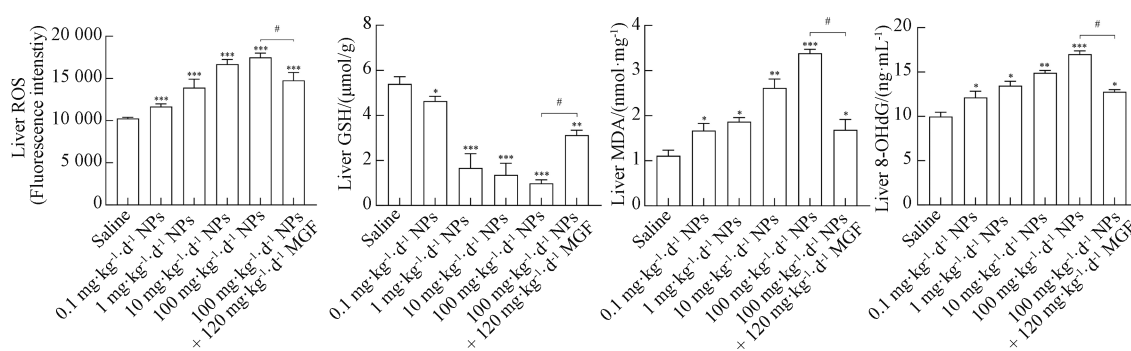
末次染毒后,与 Saline 组相比,0.1 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组、1 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组、10 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组和 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组小鼠肝、肾匀浆中 ROS、MDA 和 8-OHdG 水平升高,GSH 水平下降,差异具有统计学意义 ($P<0.05$); 与 100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs 组比较,100 mg·kg⁻¹·d⁻¹ NPs+120 mg·kg⁻¹·d⁻¹ MGF 组小鼠肝、肾组织中 ROS、MDA 和 8-OHdG 水平略有下降,GSH 水平略有上升,差异具有统计学意义 ($P<0.05$),见图 8 和图 9。

3 讨论

近年来,NPs 的存在和释放已经成为全球性的

环境问题,其对生态系统和人类健康的潜在风险正逐渐受到重视。NPs 具有更小的尺寸、更大的比表面积以及更高的丰度和反应活性,因而更容易穿透细胞膜,从而对生物体造成更为严重的毒性损伤^[8-9]。有研究表明^[10-11],直径极小的 NPs 经口服暴露后可通过肠道屏障,进入血液循环,从而被转运到多种器官中。肝脏和肾脏作为外源物代谢与清除的关键场所,被认为是 NPs 毒效应的潜在靶点^[12-13]。因此,本研究旨在观察不同剂量 PS-NPs 口服暴露对小鼠肝、肾组织的影响,并初步评估 MGF 的干预趋势。

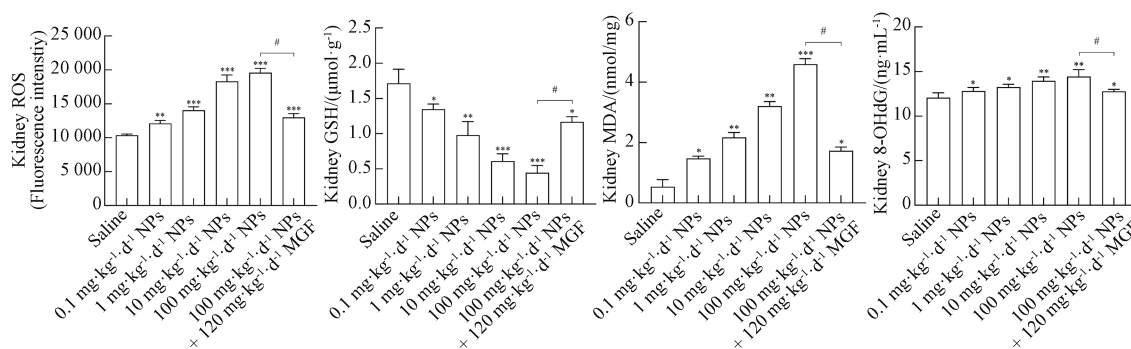
NPs 经口服暴露后,部分 NPs (<100 nm) 可穿透肝血窦内皮间隙,通过被动扩散或 Kupffer 细胞吞噬



$\bar{x} \pm SD, n=6$; 组间比较采用 one-way ANOVA 及 Tukey 事后检验; 与 Saline 组比较, * 表示 $P < 0.05$; ** 表示 $P < 0.01$; *** 表示 $P < 0.001$; 与 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ NPs 组比较, # 表示 $P < 0.05$ 。

图 8 各组小鼠肝组织 ROS、GSH、MDA、8-OHdG 水平比较

Figure 8 Comparison of levels of ROS, GSH, MDA and 8-OHdG in liver homogenate of mice in each group



$\bar{x} \pm SD, n=6$; 组间比较采用 one-way ANOVA 及 Tukey 事后检验; 与 Saline 组比较, * 表示 $P < 0.05$; ** 表示 $P < 0.01$; *** 表示 $P < 0.001$; 与 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ NPs 组比较, # 表示 $P < 0.05$ 。

图 9 各组小鼠肾组织 ROS、GSH、MDA、8-OHdG 水平比较

Figure 9 Comparison of the levels of ROS, GSH, MDA and 8-OHdG in renal homogenate of mice in each group

进入肝实质,破坏肝细胞膜完整性^[14]。未被吸收的 NPs 经血液循环进入肾小球形成原尿,部分通过肾小管重吸收,其余随尿素、尿酸等排出或沉积于肾脏^[15-17]。本研究结果发现,与 Saline 组相比,各 PS-NPs 暴露组小鼠体重有所下降,肝、肾脏器系数上升;血清中 ALT、AST、AKP 及 BUN、SCr、UA 水平呈现升高趋势;肝组织出现肝小叶结构紊乱、肝血窦扩张及肝细胞肿胀,肾组织则表现为肾小球体积增大、肾小管上皮细胞变薄及管腔扩张;PAS 染色显示组织中紫红色颗粒物随 PS-NPs 剂量递增而增多。这些变化提示 PS-NPs 口服暴露与肝、肾功能指标及组织结构改变之间存在相关性,且表现出一定的剂量依赖特征。

氧化应激被认为是 NPs 致毒的重要机制之一。作为环境新兴污染物,NPs 可通过多种途径破坏细胞内氧化还原平衡,导致 ROS 过度累积与抗氧化防御系统衰竭,进而触发级联性细胞损伤。NPs 与 GSH 直接结合形成 NPs-SG 复合物,同时抑制 γ -谷氨酰半胱氨酸合成酶,减少 GSH 生物合成;并且 NPs 诱导的 8-OHdG 蓄积可引发 DNA 双链断裂,同时抑制

PARP1 和 XRCC1 介导的碱基切除修复,增加基因组不稳定性^[18-20]。本研究中,PS-NPs 暴露组小鼠肝、肾组织 ROS、MDA 和 8-OHdG 水平升高,GSH 水平下降,提示氧化应激可能与 PS-NPs 诱导的组织效应有关。

MGF 通过直接清除自由基、抑制脂质过氧化反应链式进程,并调控 NF- κ B 等炎症通路关键因子表达,在多层面发挥其抗氧化与抗炎作用^[6]。本研究中, $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ NPs+ $120 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ MGF 组在肝、肾组织结构(如肝小叶结构、肾小管排列)、血清生化指标(如 ALT、AST、BUN、SCr)及氧化应激水平(如 ROS、MDA、GSH)方面,均较 $100 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}$ NPs 组显示出改善趋势,提示 MGF 在 PS-NPs 口服暴露背景下可能具有一定的缓解作用。

本研究表明,PS-NPs 口服暴露与小鼠肝肾损伤及氧化应激水平升高之间存在相关性,且存在剂量依赖趋势;而 MGF 干预在上述变化中表现出一定的缓解趋势。需要说明的是,本研究存在以下局限:纳米材料仅表征形貌和 Zeta 电位,未检测 DLS/PDI、内毒

素及介质稳定性等参数;实验未设 CMC-Na 与 MGF 单独对照组,无法完全排除辅料及药物自身影响;未深入探讨 Nrf2/Keap1/HO-1 通路及线粒体功能等机制;病理评估亦未采用盲法,存在一定主观性。这些局限在结果解读时需予以考虑。由于本研究在材料表征与分子通路探讨方面尚不完善,PS-NPs 口服暴露与氧化应激之间的因果关系仍有待后续实验进一步验证。

参考文献 (References)

- [1] JING L, SUN Y M, WANG J, et al. Oxidative stress and endoplasmic reticulum stress contributed to hepatotoxicity of decabromodiphenyl ethane (DBDPE) in L-02 cells [J]. *Chemosphere*, 2022(286): 131550.
- [2] FU M R, LIU F, ABBAS G, et al. Cytotoxicity profiling of decabromodiphenyl ethane to earthworm (Eisenia fetida): Abnormality-recovery-dysregulation physiological pattern reflects the coping mechanism [J]. *Sci Total Environ*, 2022(813):152607.
- [3] HALDAR S, YHOME N, MURALIDARAN Y, et al. Nanoplastics toxicity specific to liver in inducing metabolic dysfunction a comprehensive review [J]. *Genes (Basel)*, 2023, 14(3): 590.
- [4] DURANTI G. Oxidative stress and skeletal muscle function [J]. *Int J Mol Sci*, 2023, 24(12):10227.
- [5] ROUMELIOTIS S, LIAKOPOULOS V, DOUNOUSI E, et al. Oxidative stress in end-stage renal disease: Pathophysiology and potential interventions [J]. *Oxid Med Cell Longev*, 2023(2023):9870138.
- [6] LI L S, DONG Y J, LIU X F, et al. Mangiferin for the management of liver diseases: A review [J]. *Foods*, 2023, 12(13): 2469.
- [7] DENG Y F, CHEN H X, HUANG Y C, et al. Long-term exposure to environmentally relevant doses of large polystyrene microplastics disturbs lipid homeostasis via bowel function interference [J]. *Environ Sci Technol*, 2022, 56(22): 15805-15817.
- [8] SHARMA V K, MA X M, LICHTFOUSE E, et al. Nanoplastics are potentially more dangerous than microplastics [J]. *Environ Chem Lett*, 2023, 21(4): 1933-1936.
- [9] ZHAO T, TAN L J, ZHU X L, et al. Size-dependent oxidative stress effect of nano/micro-scaled polystyrene on *Karenia mikimotoi* [J]. *Mar Pollut Bull*, 2020(154): 111074.
- [10] MENG X M, GE L, ZHANG J W, et al. Systemic effects of nanoplastics on multi-organ at the environmentally relevant dose: The insights in physiological, histological, and oxidative damages [J]. *Sci Total Environ*, 2023(892): 164687.
- [11] XU J L, LIN X H, WANG J J, et al. A review of potential human health impacts of micro- and nanoplastics exposure [J]. *Sci Total Environ*, 2022, 851(Pt1): 158111.
- [12] YIN J L, JU Y, QIAN H H, et al. Nanoplastics and microplastics may be damaging our livers [J]. *Toxics*, 2022, 10(10): 586.
- [13] HE J, BAI Z, LI Y, et al. Mono-2-ethylhexyl phthalate induces the expression of genes involved in fatty acid synthesis in HepG2 cells [J]. *Environment Toxicol Pharmacol*, 2019(69): 104-111.
- [14] FAN X P, WEI X J, HU H L, et al. Effects of oral administration of polystyrene nanoplastics on plasma glucose metabolism in mice [J]. *Chemosphere*, 2022, 288(Pt3):132607.
- [15] DENG Y F, ZHANG Y, LEMOS B, et al. Tissue accumulation of microplastics in mice and biomarker responses suggest widespread health risks of exposure [J]. *Science Report*, 2017(7):46687.
- [16] HE Y X, LI J, CHEN J C, et al. Cytotoxic effects of polystyrene nanoplastics with different surface functionalization on human HepG2 cells [J]. *Sci Total Environ*, 2020(723): 138180.
- [17] LI Y J, GUO M H, NIU S Y, et al. ROS and DRP1 interactions accelerate the mitochondrial injury induced by polystyrene nanoplastics in human liver HepG2 cells [J]. *Chem Biol Interact*, 2023(379): 110502.
- [18] GU H, WANG S, WANG X, et al. Nanoplastics impair the intestinal health of the juvenile large yellow croaker *Larimichthys crocea* [J]. *Journal of Hazardous Materials*, 2020(397): 122773.
- [19] HUANG J H, SUN X B, WANG Y, et al. Biological interactions of polystyrene nanoplastics: Their cytotoxic and immunotoxic effects on the hepatic and enteric systems [J]. *Ecotox Environ Safe*, 2023(264): 115447.
- [20] CHOI Y J, PARK J W, LIM Y, et al. In vivo impact assessment of orally administered polystyrene nanoplastics: biodistribution, toxicity, and inflammatory response in mice [J]. *Nanotoxicology*, 2021, 15(9):1180-1198.

(责任编辑:唐慧)