

CONAMA 2022

CONGRESO NACIONAL DEL MEDIO AMBIENTE

Factores clínicos y ambientales relacionados con los niveles de microplásticos en el líquido del lavado broncoalveolar de pacientes con enfermedad neumológica



FACTORES CLÍNICOS Y AMBIENTALES RELACIONADOS CON LOS NIVELES DE MICROPLÁSTICOS EN EL LÍQUIDO DEL LAVADO BRONCOALVEOLAR DE PACIENTES CON ENFERMEDAD NEUMOLÓGICA

Autor Principal: Francisco Javier Bayo Bernal (Universidad Politécnica de Cartagena-UPCT)

Otros autores: Carlos Baeza-Martínez (Hospital General Universitario de Elche-HGUE); Sonia Olmos (UPCT); Miguel González-Pleiter (Universidad Autónoma de Madrid - UAM); Joaquín López-Castellanos (UPCT); Eduardo García-Pachón (HGUE); Mar Masiá-Canuto (Universidad Miguel Hernández - UMH); Luis Hernández-Blasco (UMH)

ÍNDICE MÍNIMO

1. Título
2. Palabras Clave
3. Resumen
4. Introducción
5. Metodología
6. Resultados y Discusión
7. Conclusiones
8. Bibliografía

1-TÍTULO

Factores clínicos y ambientales relacionados con los niveles de microplásticos en el líquido del lavado broncoalveolar de pacientes con enfermedad neumológica

2-PALABRAS CLAVE

Microplásticos aerovagantes; microfibras; lavado broncoalveolar; pulmón humano; exposición ambiental; salud pública.

3-RESUMEN

Este proyecto, financiado por FISABIO (Fundación para Fomento de Investigación Sanitaria y Biomédica) y realizado juntamente con la Universidad Politécnica de Cartagena (UPCT), el Hospital Universitario de Elche (HGUE) y la Universidad Autónoma de Madrid (UAM), aborda el estudio de la presencia de microplásticos en la vía aérea humana inferior de diferentes pacientes neumológicos y su relación con distintos factores ambientales y clínicos, utilizando líquido de lavado broncoalveolar (BALF) obtenido mediante broncoscopia como material de muestra para su identificación. En total, han participado 44 pacientes adultos consecutivos, con una edad media de 65 años. Los análisis se realizaron mediante microscopía trinocular, μ -FTIR para identificación de polímeros y SEM-EDS para caracterización superficial y análisis elemental de los microplásticos aislados. La mayoría se ha encontrado en forma de microfibra, con una concentración media de 9,2 ítems/100 ml BALF, y ha mostrado estar estadísticamente relacionados con el sexo, con mayor concentración en mujeres que en hombres, y la edad, siendo mayor para los participantes de mayores de 60 años. Otros parámetros relevantes relacionados con la presencia y abundancia de microplásticos en BALF fueron: (a) el hábito de fumar, con diferencias en las comparaciones por pares entre fumadores activos y exfumadores o no fumadores; (b) ocupaciones con alto riesgo de exposición a microplásticos; (c) residencia urbana o rural; (d) diagnóstico radiológico; (e) crecimiento microbiano patológico en el BALF; y (f) diferentes pruebas funcionales pulmonares, entre otras. La posible aparición de contaminación por microplásticos se supervisó a través de 18 muestras de control negativo o blancos de procedimiento durante todo el estudio. Esta técnica mínimamente invasiva ha demostrado ser útil para la monitorización de microplásticos en pacientes con enfermedad pulmonar, aunque serán necesarios más estudios para determinar la contribución de estos diminutos contaminantes en las patologías respiratorias.

4-INTRODUCCIÓN

Solo en 2020, se produjeron en todo el mundo 367 millones de toneladas de plástico, sin incluir las fibras de polietilentereftalato (PET), poliamida y poliacrilato (PlasticsEurope, 2021). Una parte del plástico total producido se fabrica directamente como "microplásticos primarios", es decir, partículas de plástico de menos de 5 mm utilizadas en productos de cuidado personal o diversas industrias manufactureras. Sin embargo, la mayoría de los microplásticos que encontramos en el medio ambiente son "microplásticos secundarios", originados a partir de procesos de fragmentación de macro y mesoplásticos en partículas de tamaño micro, debido a

FACTORES CLÍNICOS Y AMBIENTALES RELACIONADOS CON LOS NIVELES DE MICROPLÁSTICOS EN EL LÍQUIDO DEL LAVADO BRONCOALVEOLAR DE PACIENTES CON ENFERMEDAD NEUMOLÓGICA

procesos abióticos (hidrólisis, abrasión mecánica, degradación térmica, procesos oxidativos) y procesos bióticos.

Los MP son ingeridos por distintos organismos vivos, incluyendo al ser humano, por estar presentes en alimentos, bebidas y condimentos que se consumen regularmente (Ferrante et al., 2020; Shruti et al., 2020; Da Costa et al., 2021). En consecuencia, se han encontrado MP en diferentes muestras biológicas humanas, como muestras de colectomía (Ibrahim et al., 2021), heces (Pérez-Guevara et al., 2021; Yan et al., 2022), orina (Wang et al., 2021), placenta (Braun et al., 2021), saliva (Abbasi y Turner, 2021), esputo (Huang et al., 2022) y sangre (Leslie et al., 2022).

Algunos de estos microplásticos también pueden permanecer suspendidos en el aire, lo que contribuye a su precipitación atmosférica, estudiada en distintas ciudades (Dris et al., 2016; Cai et al., 2017; Liao et al., 2021; Kashfi et al., 2022; Nematollahi et al., 2022). La concentración de estas suspensiones, particularmente para microfibras, tiende a ser mayor en interiores que en exteriores (Gasperi et al., 2015), y en áreas urbanas que en áreas rurales (Liao et al., 2021). Sin embargo, también se han monitoreado en la atmósfera de la Antártida (Marina-Montes et al., 2022), lo que sugiere que el transporte aéreo es una vía importante para que estos microcontaminantes lleguen a regiones remotas (Evangelidou et al., 2020; Petersen y Hubbart, 2021). Las microfibras de plástico se liberan al aire desde varias fuentes, como es el caso de los textiles (De Falco et al., 2020; Zhang et al., 2022), además de procesos industriales y de lavado de ropa sintética, que afectan a su concentración en el ciclo del agua (Napper y Thompson, 2016). Además, los procesos industriales, la impresión 3D, los vertederos (Amato-Lourenço et al., 2020), las secadoras domésticas (O'Brien et al., 2020; Tao et al., 2022) y los filtros de aire acondicionado (Chen et al., 2022b) pueden servir como fuentes significativas de microplásticos y microfibras en entornos interiores y exteriores.

Aunque la presencia de microplásticos en el aire está bien establecida, las consecuencias de su posible inhalación para la salud humana aún no han sido investigadas suficientemente (Wright y Kelly, 2017). Estas partículas suelen contener aditivos peligrosos (Verla et al., 2019) y pueden adsorber y transportar otros contaminantes orgánicos o inorgánicos, como metales pesados o bifenilos policlorados (PCBs) (Bayo et al., 2017), antibióticos (González-Pleiter et al., 2021), plaguicidas (Verdú et al., 2021) y microorganismos patógenos (Amato-Lourenço et al., 2020). Se ha publicado la presencia de algunos de estos microplásticos y microfibras conformados por polietileno de alta y baja densidad, acrilato, poliamida, poliéster o PET, entre otros, en tejidos pulmonares humanos obtenidos de resecciones quirúrgicas (Pauly et al., 1998; Chen et al., 2022a; Jenner et al., 2022) y autopsias (Amarato-Lourenço et al., 2021). Además, se ha demostrado una asociación entre exposición ocupacional y síntomas respiratorios (Atis et al., 2005). Yee et al. (2021) encontraron microplásticos en la vía aérea distal, con efecto proinflamatorio, lo que inducía la liberación de especies reactivas de oxígeno, y Goodman et al. (2021) demostraron que la exposición de células pulmonares humanas a pequeñas cantidades de poliestireno alteraba su metabolismo, inhibía la proliferación celular y alteraba la cohesión entre las células.

El lavado broncoalveolar es un procedimiento mínimamente invasivo que se realiza de forma rutinaria durante la broncoscopia flexible, y que permite recuperar células y elementos celulares en una muestra representativa de la vía aérea inferior (Kebbe y Abdo, 2017). El líquido generado en el lavado broncoalveolar (*BronchoAlveolar Lavage Fluid-BALF*) se obtiene mediante

la instilación y posterior recuperación de una disolución salina en uno o más segmentos pulmonares, proporcionando información útil sobre el estado ambiental de los alvéolos y los bronquiolos terminales (Sartorelli et al., 2020). BALF se ha utilizado para la evaluación in vivo de partículas minerales no fibrosas (incluyendo aluminio, titanio o calcita) en el tracto respiratorio (Pairol et al., 1994), determinando la presencia de cuerpos de asbesto y la carga de fibra de trabajadores expuestos (Dumortier et al., 2001; Alexopoulos et al., 2011; Sartorelli et al., 2020), y para la identificación de fibras y partículas minerales en macrófagos alveolares (Perna et al., 2002), entre otros estudios. Nuestro estudio tuvo como objetivo principal la determinación de microplásticos y microfibras presentes en el lavado broncoalveolar de pacientes vivos y su relación con factores ambientales, fisiológicos y clínicos, según antecedentes e historial médico de cada paciente, para identificar los posibles factores de riesgo asociados con la presencia de estos microcontaminantes. Hasta donde sabemos, es la primera vez que se utiliza este medio para identificar microplásticos y microfibras en pacientes con patologías pulmonares.

5-METODOLOGÍA

Aprobación ética y consentimiento del paciente.

El estudio incluye un total de 44 pacientes adultos, sometidos a broncoscopia entre marzo y septiembre de 2021 en el HGUE (Alicante, España) según la práctica clínica habitual. Todos los pacientes recibieron información del estudio y firmaron un documento de consentimiento por escrito antes de su participación en el mismo. La investigación fue aprobada por el Comité de Ética del Departamento de Salud del HGUE (ID de la aprobación de ética: PI 7/2021) y se siguieron los principios de la Declaración de Helsinki revisada. Se excluyeron del estudio los pacientes con oximetría inferior al 94%, inestabilidad hemodinámica o con sospecha o conocimiento de enfermedad contagiosa.

Antecedentes e historial médico.

A todos los pacientes se les realizó anamnesis, examen físico, análisis de sangre y tomografía axial computarizada (TAC) de tórax. El sexo, la edad, el hábito de fumar, la ocupación, así como el lugar y tipo de edificio de residencia se recopilaron en un autoinforme. El consumo acumulado de tabaco se calculó en paquetes-año, con base a la edad de inicio del tabaquismo, número de cigarrillos consumidos diariamente y duración del consumo de tabaco, es decir, un paquete-año era de 20 cigarrillos, o el equivalente fumado diariamente durante un año (Pedersen et al., 2020). Las ocupaciones se clasificaron en dos grupos: (1) alto riesgo de exposición ocupacional a microplásticos y microfibras y (2) bajo riesgo de exposición ocupacional a estos microcontaminantes. Los TAC fueron revisados por expertos radiólogos de tórax. El diagnóstico de cáncer de pulmón se basó en un examen histológico realizado por un patólogo, y los diagnósticos restantes se establecieron de acuerdo con el médico responsable de cada paciente. El diagnóstico radiológico se dividió en tres tipos: (1) pacientes con patología del parénquima pulmonar, (2) pacientes con otras anomalías detectadas mediante TAC y (3) pacientes sin anomalías radiológicas detectadas.

Pruebas de la función pulmonar.

FACTORES CLÍNICOS Y AMBIENTALES RELACIONADOS CON LOS NIVELES DE MICROPLÁSTICOS EN EL LÍQUIDO DEL LAVADO BRONCOALVEOLAR DE PACIENTES CON ENFERMEDAD NEUMOLÓGICA

Se realizaron pruebas de función pulmonar a 30 pacientes antes de la toma de muestras mediante un espirómetro modelo MasterScreen (Jaeger Carefusion, San Diego, USA), siguiendo los estándares ATS/ERS (*American Thoracic Society/European Respiratory Society*) (Miller et al., 2005). Se midió el volumen espiratorio forzado en el primer segundo (FEV1) y la capacidad vital forzada (FVC). La obstrucción de las vías respiratorias se detectó según la definición propuesta por la *Global Initiative for Chronic Obstructive Lung Disease* (GOLD): una relación FEV1/FVC < 0,70 confirma el diagnóstico de limitación patológica del flujo aéreo (Rabe et al., 2007).

Recolección de BALF.

Las broncoscopias se realizaron con un broncoscopio modelo Pentax EB15-J10 (Pentax Medical, Tokio, Japón). El lavado broncoalveolar se realizó según técnica estandarizada, con sedación consciente durante la broncoscopia (Meyer et al., 2012). Brevemente, después de encajar el broncoscopio de fibra óptica en un bronquio, preferiblemente en el lóbulo medio o la llingula, se instilaron dos alícuotas sucesivas de 50 ml de disolución esterilizada de cloruro de sodio (NaCl) al 0,9 % (P/V) y cada una se aspiró manualmente utilizando jeringa de plástico de 20 ml de capacidad. El BALF se guardaba en recipiente de vidrio esterilizado con tapa de metal para el análisis de microplásticos y microfibras (Figura 1), con un mínimo requerido de 10 ml de muestra. En el caso de presencia de masa pulmonar, se realizaba el lavado broncoalveolar contralateral a la lesión pulmonar.

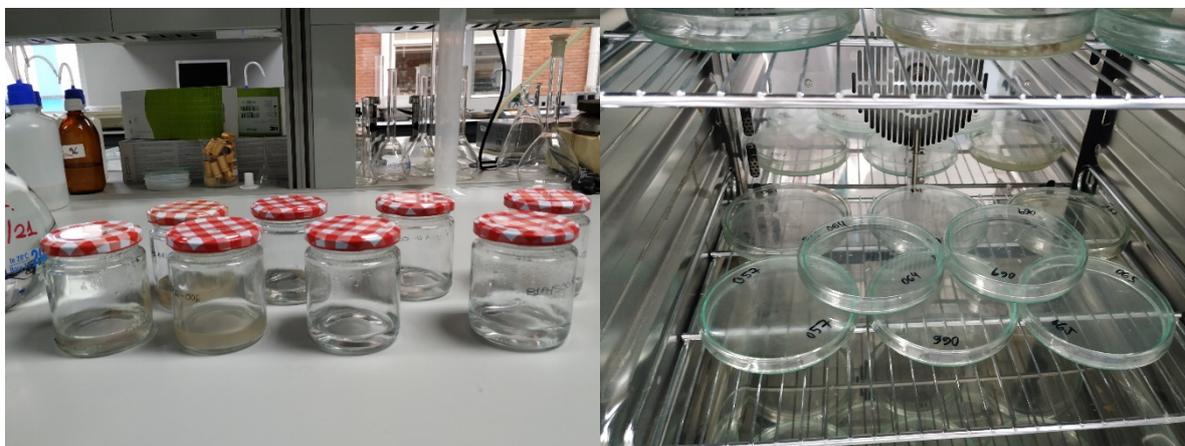


Figura 1. Muestras de BALF y preparación para el análisis de microplásticos.

Medición de microplásticos en BALF.

Se analizó una cantidad media de muestra (\pm error estándar de la media) de $33,68 \pm 1,81$ ml, con valores mínimo y máximo de 8,74 y 56,94 ml, respectivamente. Una vez en el laboratorio, las muestras se transfirieron con cuidado a placas de Petri de vidrio de 120 mm de diámetro, enjuagando dos veces con 15 ml de agua Tipo II (RO/DI) los recipientes de vidrio (Figura 1). Después de secar a 60°C durante la noche, debido a que las temperaturas más altas podrían provocar la degradación de algunos polímeros (Adomat y Grischek, 2021), las placas de Petri se

observaron en microscopio trinocular con zoom Olympus SZ-61TR (Olympus Co., Tokio, Japón), acoplado a una cámara digital Leica MC190 HD y el software de captura de imágenes Leica Application Suite (LAS) 4.8.0 (Leica Microsystems Ltd., Heerbrugg, Suiza). Se capturaron imágenes de cada una de las micropartículas y se registró el color, la forma y el tamaño en su dimensión más larga, con la ayuda del software Image J, antes de aislarlas en placas de Petri de vidrio de 40 mm de diámetro para posterior análisis por μ -FTIR. Debido a que la materia orgánica se consideró baja en las muestras BALF y el uso de un agente oxidante para tratar las muestras biológicas podría provocar la decoloración, el blanqueo e incluso la degradación de algunos polímeros (Nuelle et al., 2014; Karami et al., 2017), no se llevó a cabo ningún procedimiento de digestión de las muestras.

Análisis en μ -FTIR.

La composición química de las micropartículas se analizó mediante análisis μ -FTIR, utilizando para ello un instrumento Perkin-Elmer Spotlight™ 200i Spectrum Two con detector de telurio y cadmio. Cada micropartícula se colocó en KBr, que se utilizó como portaobjetos, y su espectro se registró en modo de microtransmisión utilizando los siguientes parámetros: punto 50 μ m, 32 escaneos y rango espectral 550–4000 cm^{-1} . Todos los espectros se compararon con los de la base de datos Omnic 9.1.26 (ThermoFisher Scientific Inc., Massachusetts, USA) y con nuestra propia base de datos. Se consideró que las micropartículas eran plástico cuando el ajuste con los espectros de referencia era superior al 70 %.

Análisis SEM-EDS.

Las características superficiales y la composición química de las microfibras se examinaron utilizando un microscopio electrónico de barrido acoplado a espectrometría de rayos X de dispersión de energía (SEM-EDS) (Hitachi S-3500N SEM, Hitachi High-Technologies, Tokio, Japón). Las muestras se montaron sobre cinta de carbón, y se tomaron imágenes de la morfología de la superficie de las microfibras con varios aumentos, operando a un voltaje de aceleración de 15 kV y una presión de cámara de 30 Pa. La composición elemental de cada microfibra se cuantificó en tres puntos diferentes de su superficie, mediante un analizador Quantax 200 EDS acoplado a SEM (Bruker AXS, Madison, WI, USA), con una resolución de energía del detector de 128 eV. Este es un método muy poderoso para analizar la composición de microplásticos, que brinda información detallada sobre los elementos y su distribución espacial dentro de la muestra, incluida la presencia de aditivos inorgánicos utilizados en su formulación (Gniadek y Dąbrowska, 2019).

Control de calidad de los análisis.

La ubicuidad y la baja concentración de microfibras y microplásticos en las muestras BALF hacen que la contaminación durante y posterior al muestreo sea una amenaza para la confiabilidad de los resultados, lo que podría introducir un sesgo en su cuantificación y una interpretación totalmente errónea de los resultados (Dehaut et al., 2019; Dioses-Salinas et al., 2020). Para monitorear la posible presencia de contaminación por microfibras y microplásticos, se analizaron 18 muestras de control negativo o blancos de procedimiento a lo largo de todo el estudio, correspondientes a: 6 blancos del disolvente NaCl (0,9 %) ($47,35 \pm 2,79$ ml, 2 blancos por lote) y 3 blancos de contaminación por suspensión en el aire (1 por lote), ambos en el HGUE, y 9 blancos de agua Tipo II (RO/DI) ($68,63 \pm 6,53$ ml, 3 blancos por lote) en UPCT. Los resultados

se normalizaron a los microplásticos y microfibras encontradas para cada lote. Los blancos presentaron una concentración media de $1,45 \pm 0,67$ microfibras por cada 100 ml, y se usaron como datos de fondo para calcular de manera eficiente el contenido de microfibras, restándolos del lote BALF correspondiente. No se detectó contaminación en suspensión atmosférica ni en la sal de NaCl.

Análisis estadístico de los datos experimentales.

El tratamiento estadístico de los datos se realizó con el software SPSS 26.0 (IBM Co. Ltd, Chicago, IL, USA). El rendimiento de ajuste del análisis de varianza unidireccional (ANOVA) se calculó con una prueba F, y se utilizó la prueba de diferencia mínima significativa (LSD) de Fisher cuando la prueba F indicaba el rechazo de la hipótesis nula (H_0) para comparar datos pareados e identificar diferencias estadísticamente significativas. Antes de ejecutar un ANOVA, se analizó la normalidad de los datos con la prueba de Kolmogorov-Smirnov (K-S). Todos los datos se expresaron como la media \pm error estándar de la media (SE). Las posibles correlaciones entre diferentes variables se evaluaron mediante el coeficiente de correlación de Pearson (r). Este coeficiente suele estar entre -1, que indica una correlación negativa perfecta, y +1, que expresa una correlación positiva perfecta, mientras que 0 indica la ausencia de una relación. Todos los análisis se consideraron estadísticamente significativos para un intervalo de confianza mínimo del 95 % ($p < 0,05$).

6-RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados generales.

Para la identificación de microfibras y microplásticos, se consideran de muy buena calidad y muy representativas de las vías respiratorias inferiores las muestras BALF. Wang et al. (2019) ya indicaron que son más objetivas y representativas que la saliva o el esputo para reflejar el entorno microbiano de los pulmones, y Callejón-Leblic et al. (2016) indicaron que, dado que BALF está en estrecha interacción con el tejido pulmonar, es una muestra más representativa del estado pulmonar que otros fluidos periféricos como la sangre o la orina. Se puede llegar al bronquio más distal con el broncoscopio de fibra óptica, instilando allí y recogiendo el fluido para que la muestra no se contamine con la vía aérea remanente o incluso con la boca. Es un procedimiento bastante accesible, que se puede realizar tanto en un hospital como en un centro de salud, de bajo coste, mínimamente invasivo y, en general, seguro para el paciente. En comparación con las muestras quirúrgicas o de autopsia, las muestras BALF permiten acceder a un número considerablemente mayor de pacientes, facilitando así el estudio de posibles asociaciones patológicas o de exposición.

La edad de los participantes osciló entre 35 y 86 años, con 32 participantes (72,73%) hombres y 12 participantes (27,27%) mujeres, y un valor medio de $65,10 \pm 0,98$ años. La indicación más frecuente para realizar broncoscopia fue la presencia de una masa en el pulmón (32%), seguida de hemoptisis (27%), y el principal diagnóstico obtenido fue neoplasia pulmonar (50%). Catorce participantes (31,82%) no presentaron ningún microplásticos en su BALF, 12 de ellos (27,27%) tenían solo uno, correspondiendo el resto a 18 pacientes (40,91%) cuyas muestras BALF tenían dos o más microplásticos. La proporción promedio de partículas plásticas frente no plásticas en este estudio fue de 41,18 % y 58,82 %, respectivamente, cercana a la reportada por Huang et al.

(2022) para esputo humano (32% vs. 68%), con una concentración media de $9,75 \pm 2,49$ ítems/100 ml BALF. La mayoría de los microplásticos encontrados tenían forma de microfibras (97,06 %), con una concentración media de microfibras de $9,18 \pm 2,45$ ítems/100 ml BALF, y solo el 5,88 % ($0,57 \pm 0,27$ ítems/100 ml BALF) resultaron ser microplásticos particulados, sin relación significativa o relevante con factores ambientales, fisiológicos o clínicos. Por ello, todos los análisis estadísticos se centraron en la detección mayoritaria de microfibras, la forma dominante en estudios atmosféricos de ambientes interiores y exteriores (Mathalon and Hill, 2014; Dris et al., 2017; Chen et al., 2020; Li et al., 2020). Estos resultados son similares a los encontrados por Abbasi y Turner (2021) para la saliva humana, donde las fibras constituyeron más del 97 % del recuento de microplásticos, o por Ibrahim et al. (2021) para muestras de colectomía humana, en las que la forma filamentosa representaba el 96,1% de todas las muestras.

El tamaño medio de las microfibras fue de $1,73 \pm 0,15$ mm, correspondiendo la más larga (9,96 mm) a una microfibras poliacrílica aislada de un paciente fumador activo y zapatero de 75 años, con patología del parénquima pulmonar. Aunque estos tamaños pueden parecer demasiado grandes para estar presentes en estas muestras, Jenner et al. (2022) han detectado tamaños similares de microfibras en muestras de pulmón. El tamaño mínimo determinado en este estudio fue el de una microfibras de 140 μ m aislada de un varón de 46 años no fumador y sin alteraciones en su diagnóstico radiológico. Según indican Warheit et al. (2001), la severidad de las fibras en el sistema respiratorio es directamente proporcional, entre otros factores, a su persistencia, incrementándose con longitudes mayores. La concentración media máxima de microfibras (80,10 ítems/100 ml BALF) se encontró en una mujer de 63 años, fumadora activa, con diagnóstico de neumonía y que trabajaba como agricultora. De hecho, las mujeres mostraron una concentración media de microfibras en BALF estadísticamente superior ($5,02 \pm 0,64$ ítems/100 ml de BALF) a la de los hombres ($3,82 \pm 0,14$ ítems/100 ml de BALF) ($F = 6,118$; $p = 0,015$) (Figura 2). También aparecieron diferencias estadísticamente significativas en la concentración de microfibras según la edad del paciente, siendo mayor para los participantes mayores de 60 años ($4,87 \pm 0,30$ ítems/100 ml BALF) que para menores de 60 años ($2,76 \pm 0,12$ ítems/100 ml BALF) ($F = 21,091$; $p = 0,000$) (Figura 3). Chen et al. (2022a) encontraron resultados similares en un estudio de microplásticos en nódulos de pulmón, donde la abundancia de microfibras en el tejido pulmonar se acumulaba gradualmente con el aumento de la edad. Respecto al tabaquismo, 23 participantes eran fumadores activos, 15 exfumadores y solo 6 no fumadores, con un valor medio de consumo de tabaco acumulado de $40,87 \pm 4,40$. Como se muestra en la Figura 4, la concentración de microfibras en BALF también mostró diferencias estadísticamente significativas según el hábito tabáquico ($F = 8,131$; $p = 0,001$), con diferencias en las comparaciones por pares mediante prueba LSD entre fumadores activos ($5,26 \pm 0,52$ ítems/100 ml BALF) y exfumadores ($3,88 \pm 0,18$ ítems/100 ml BALF) ($p = 0,008$), así como entre fumadores activos y no fumadores ($3,14 \pm 0,21$ ítems/100 ml BALF) ($p = 0,000$). Sin embargo, no se presentaron diferencias estadísticamente significativas entre exfumadores y no fumadores ($p = 0,192$). Además, los pacientes con ocupaciones que suponían un alto riesgo de exposición a microplásticos mostraban una concentración media mayor de microfibras en BALF ($5,80 \pm 0,73$ ítems/100 ml BALF) que aquellas con un riesgo bajo ($3,65 \pm 0,13$ ítems/100 ml BALF) ($F = 19,496$; $p = 0,000$), tal y como se observa en la Figura 5.

Aunque los participantes que vivían en una residencia urbana parecían tener una concentración media más alta de microfibras ($4,34 \pm 0,27$ ítems/100 ml BALF) que los que vivían en una rural ($3,39 \pm 0,24$ ítems/100 ml BALF), esas diferencias no fueron estadísticamente significativas ($p = 0,166$).

FACTORES CLÍNICOS Y AMBIENTALES RELACIONADOS CON LOS NIVELES DE MICROPLÁSTICOS EN EL LÍQUIDO DEL LAVADO BRONCOALVEOLAR DE PACIENTES CON ENFERMEDAD NEUMOLÓGICA

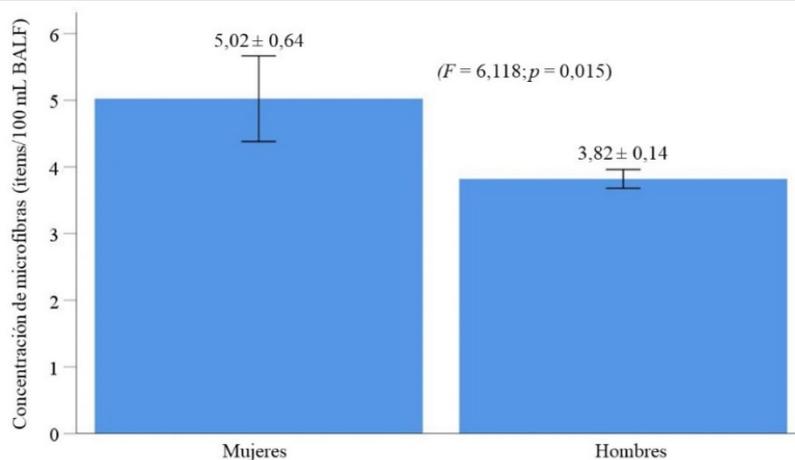


Figura 2. Concentración de microfibras en muestras BALF según el sexo del paciente.

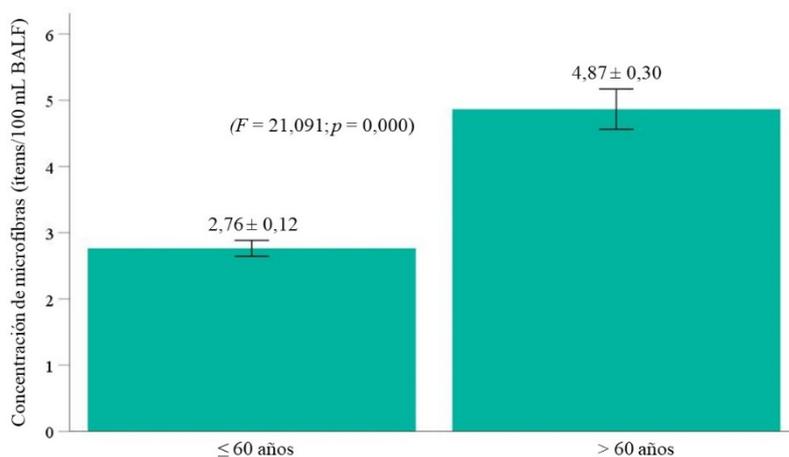


Figura 3. Concentración de microfibras en muestras BALF según edad del paciente.

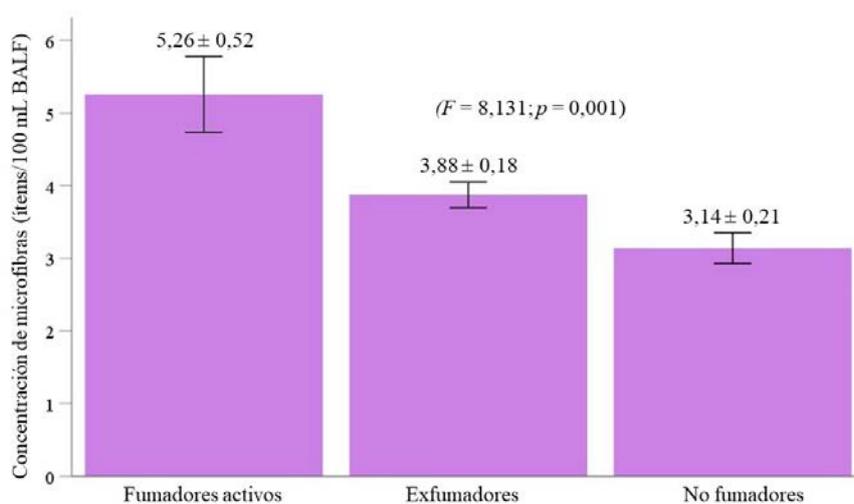


Figura 4. Concentración de microfibras en muestras BALF según hábito tabáquico del paciente.

FACTORES CLÍNICOS Y AMBIENTALES RELACIONADOS CON LOS NIVELES DE MICROPLÁSTICOS EN EL LÍQUIDO DEL LAVADO BRONCOALVEOLAR DE PACIENTES CON ENFERMEDAD NEUMOLÓGICA

Además, los pacientes del estudio que vivían en planta baja presentaban una concentración media menor más baja y estadísticamente significativa de microfibras ($3,44 \pm 0,17$ ítems/100 ml BALF) que los que vivían en piso alto ($4,48 \pm 0,31$ ítems/100 ml BALF) ($F = 3,897$; $p = 0,051$) (Figura 6), lo que sugiere que las microfibras sufren un proceso de resuspensión desde el suelo como resultado de las actividades antrópicas y del movimiento (Ageel et al., 2022). Se debe evidenciar una posible relación entre la calidad del aire interior y la exposición a las microfibras para las personas que viven en un área urbana, porque permanecen principalmente en el interior en lugar de al aire libre (Kownacki et al., 2019), y los ambientes interiores son puntos críticos de contaminación por microfibras y microplásticos (Mbachu et al., 2020). Según Dris et al. (2017), la dilución de los microplásticos en volúmenes más grandes de aire en el exterior podría explicar este patrón.

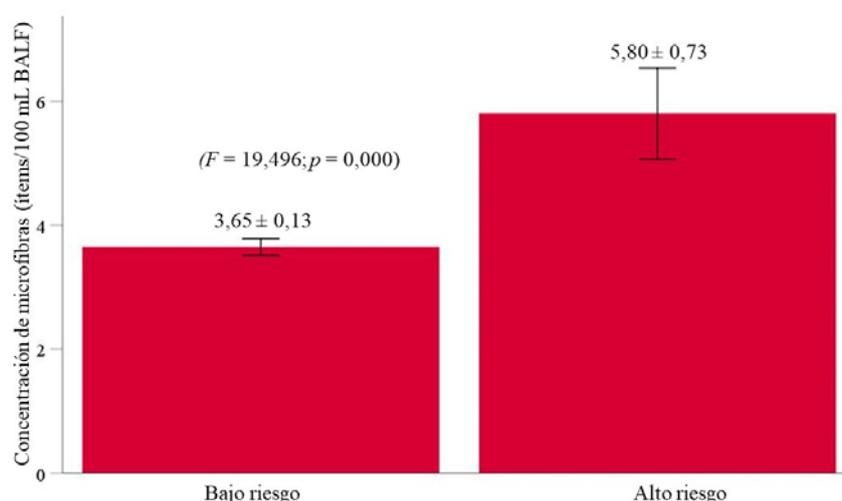


Figura 5. Concentración de microfibras en muestras BALF según tipo de ocupación del paciente.

También hubo diferencias estadísticamente significativas según el diagnóstico radiológico y la concentración media de microfibras en muestras BALF, con 34 pacientes con patología parenquimatosa, 5 pacientes con otras anomalías detectadas con TAC y 5 pacientes sin anomalías radiológicas. Como se presenta en la Figura 7, la concentración media de microfibras fue superior en los pacientes con patología parenquimatosa (1) ($4,85 \pm 0,32$ ítems/100 ml BALF), que en los grupos constituidos por los pacientes con otras anomalías en el TAC (2) ($3,35 \pm 0,14$ ítems/100 ml BALF) y aquellos sin anomalías radiológicas (3) ($2,43 \pm 0,16$ ítems/100 ml BALF) ($F = 9,113$; $p = 0,000$), aunque las comparaciones por pares mediante la prueba LSD mostraron diferencias solo entre los grupos (1) y (2) ($p = 0,007$), y los grupos (1) y (3) ($p = 0,000$), pero no entre los grupos (2) y (3) ($p = 0,225$).

Con respecto al crecimiento microbiano, los participantes que presentaban microorganismos patógenos aislados de su BALF mostraban una concentración media de microfibras superior ($4,76 \pm 0,33$ ítems/100 ml BALF) a la encontrada en participantes asépticos ($3,21 \pm 0,15$ ítems/100 ml BALF) ($F = 11,034$; $p = 0,001$) (Figura 8).

FACTORES CLÍNICOS Y AMBIENTALES RELACIONADOS CON LOS NIVELES DE MICROPLÁSTICOS EN EL LÍQUIDO DEL LAVADO BRONCOALVEOLAR DE PACIENTES CON ENFERMEDAD NEUMOLÓGICA

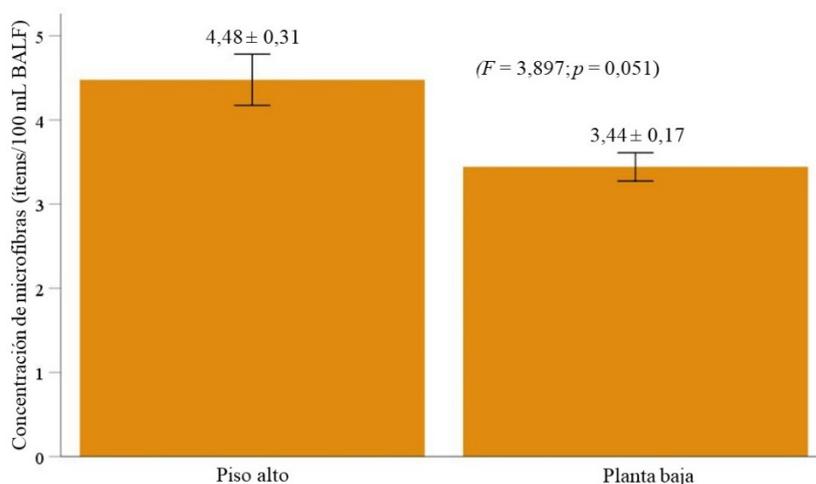


Figura 6. Concentración de microfibras en muestras BALF según altura de la vivienda del paciente.

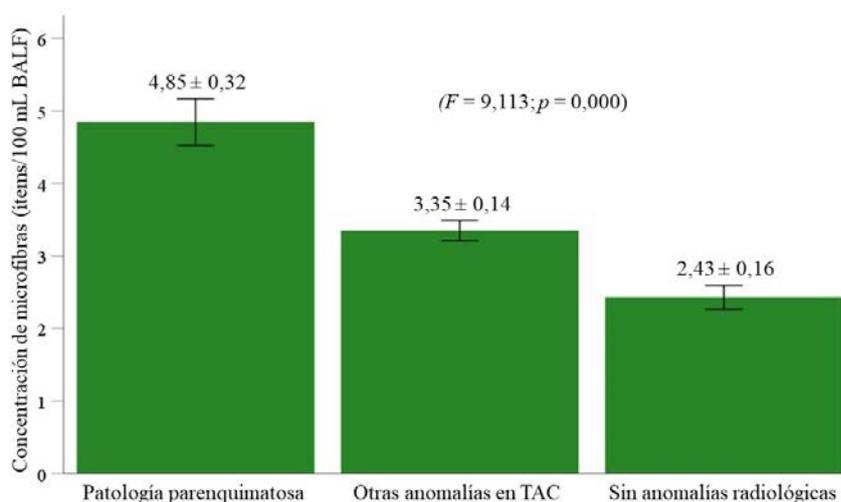


Figura 7. Concentración de microfibras en muestras BALF según anomalías radiológicas del paciente.

En 9 de 13 pacientes (69,23%) a los que se les diagnosticó una infección respiratoria, se aislaron organismos patógenos en cultivos microbiológicos, en contraste con solo el 30,77% de los pacientes con otros diagnósticos, lo que sugiere que los hallazgos microbiológicos tienen relevancia clínica. Estudios previos han demostrado la presencia de microorganismos viables en microfibras y microplásticos recogidos en la atmósfera (González-Pleiter et al., 2020), siendo bien conocido también su papel como vectores de microorganismos patógenos (Meng et al., 2021). En este sentido, las microfibras transportadas por el aire podrían actuar como portadores de microorganismos infecciosos en el sistema respiratorio humano.

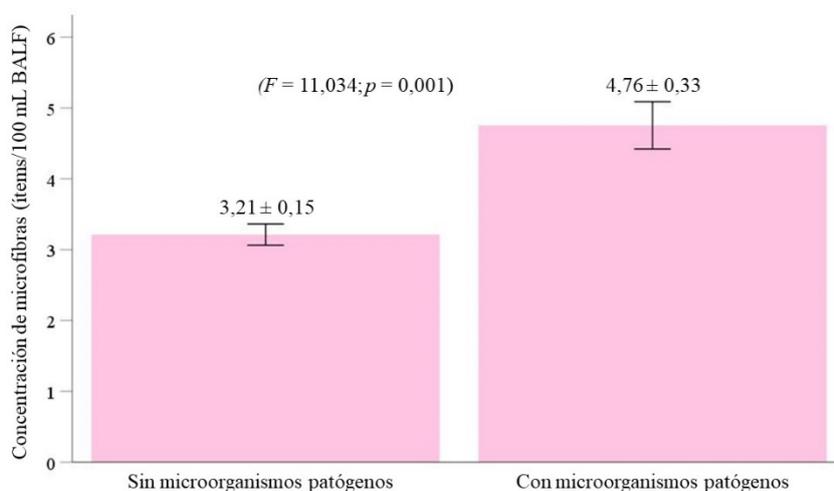


Figura 8. Concentración de microfibras en muestras BALF según la presencia o no de microorganismos patógenos en el cultivo del lavado broncoalveolar.

Los microplásticos y microfibras estarían incluidos en la contaminación ambiental como parte del material particulado, y en algunos casos podrían representar una fracción muy importante de este tipo de contaminante (Panko et al., 2019). La exposición a partículas ambientales se ha asociado en grandes estudios con deterioro de la función pulmonar (Guo et al., 2019). Sin embargo, no hay evidencia previa sobre los efectos en la función respiratoria de la inhalación de estos microcontaminantes ambientales. En nuestro estudio, observamos una correlación inversa y estadísticamente significativa entre la concentración de microfibras y los parámetros FEV1 (r de Pearson = -0,598, p = 0,000) y FVC (r de Pearson = -0,355, p = 0,005). Se encontró que la concentración promedio de microfibras era estadísticamente mayor en pacientes con una relación FEV1/FVC < 0,70 ($7,27 \pm 1,16$ ítems/100 ml BALF) frente a pacientes con una relación FEV1/FVC $\geq 0,70$ ($3,45 \pm 0,18$ ítems/100 ml BALF) ($F = 28,162$; $p = 0,000$), lo que es indicativo de alteración ventilatoria obstructiva (Figura 9). Esta asociación encontrada es llamativa, dado el pequeño tamaño de la población analizada. Aunque se requieren estudios más amplios para confirmar estos hallazgos, estos resultados sugieren que la inhalación de microfibras podría estar asociada con una capacidad pulmonar reducida y enfermedades pulmonares obstructivas como la enfermedad pulmonar obstructiva crónica (EPOC).

Identificación polimérica mediante análisis μ -FTIR.

De acuerdo con el análisis μ -FTIR llevado a cabo, la gran mayoría de las microfibras se identificaron químicamente como un polímero semisintético a base de celulosa comúnmente conocido como rayón o viscosa (40,48 %), seguido de poliéster (19,05 %), celulosa (16,67 %) y algodón (14,29 %). Las microfibras restantes fueron de lana sintética y ácido poliacrílico, suponiendo cada uno de ellos un 2,38% del total (Figura 10). Amato-Lourenço et al. (2021) y Huang et al. (2022) encontraron porcentajes similares de algodón (16,2%) y poliéster (21,63%) en pulmón humano y esputo, respectivamente. En nuestro estudio, solamente se identificaron dos microplásticos particulados: poliuretano y un polímero desconocido. Además, las microfibras naturales, es decir, el algodón y la lana, mostraban estructuras típicas sin

FACTORES CLÍNICOS Y AMBIENTALES RELACIONADOS CON LOS NIVELES DE MICROPLÁSTICOS EN EL LÍQUIDO DEL LAVADO BRONCOALVEOLAR DE PACIENTES CON ENFERMEDAD NEUMOLÓGICA

alteraciones obvias de la morfología, aunque a menudo teñidas y recubiertas de aditivos químicos, lo que produce una disminución en su biodegradabilidad (Chen y Jakes, 2001). La Figura 11 muestra fotografías de algunas de las microfibras identificadas en las muestras.

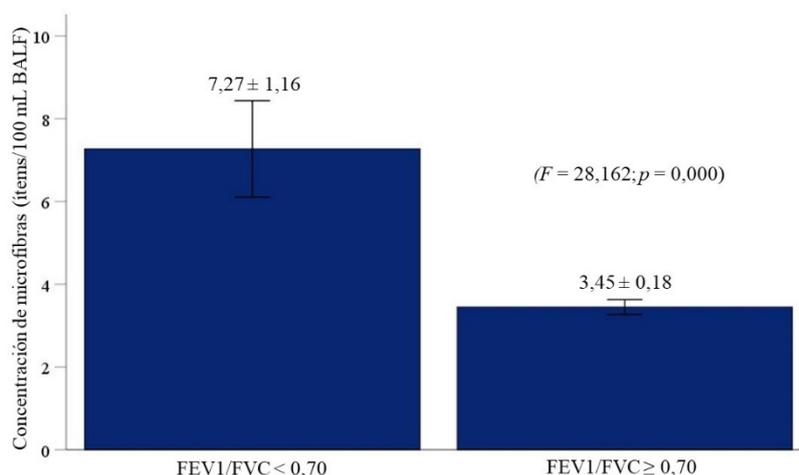


Figura 9. Concentración de microfibras en muestras BALF según la relación FEV1/FVC del paciente.

Las microfibras de rayón se aislaron principalmente en mujeres, con una concentración de $2,19 \pm 0,73$ ítems /100 ml BALF, en contraste con las aisladas en BALF de pacientes masculinos ($0,41 \pm 0,15$ ítems/100 ml BALF) ($F = 10,769$; $p = 0,001$). También se encontró que eran mayores en BALF de pacientes con ocupaciones de alto riesgo de exposición a microplásticos ($2,71 \pm 0,92$ ítems/100 ml BALF) que en aquellos con bajo riesgo de exposición ($0,43 \pm 0,14$ ítems/100 ml BALF) ($F = 14,763$; $p = 0,000$). En nuestro estudio, la gran abundancia de rayón/viscosa y poliéster identificada en las muestras de BALF puede estar relacionada con el uso frecuente de mascarillas durante la pandemia de COVID-19, ya que ambos materiales textiles se utilizaron mucho para fabricar mascarillas desechables (Militky et al., 2021). Un estudio reciente realizado por Li et al. (2021) indica que la fuente de microfibras inhaladas podría ser del aire y de la propia mascarilla, aunque se demuestra que todas ellas reducen el riesgo de inhalación global de microfibras incluso cuando se usan de forma continuada durante 720 h.

El tipo de polímero identificado también varió según la edad. Como ya se ha comentado, con el aumento de la edad el contenido de microfibras en las muestras BALF aumentaba (Figura 3). Las microfibras de algodón se identificaron principalmente en muestras BALF de los pacientes más jóvenes (58 años), mientras que las de rayón se identificaban en pacientes de 63 años y las de celulosa en pacientes de 75 años. Además, la concentración media de microfibras de rayón mostró ser mayor en muestras BALF de fumadores activos ($1,76 \pm 0,65$ ítems/100 ml BALF) respecto de exfumadores ($0,32 \pm 0,18$ ítems/100 ml BALF) ($p = 0,027$). Se sabe que este material se emplea, entre otros usos, para la fabricación de filtros de cigarrillos, siendo una fuente importante de generación de microfibras incluso en profundidades marinas (Woodall et al., 2014; Lusher et al., 2016) y sedimentos costeros. (Frías et al., 2016).

FACTORES CLÍNICOS Y AMBIENTALES RELACIONADOS CON LOS NIVELES DE MICROPLÁSTICOS EN EL LÍQUIDO DEL LAVADO BRONCOALVEOLAR DE PACIENTES CON ENFERMEDAD NEUMOLÓGICA

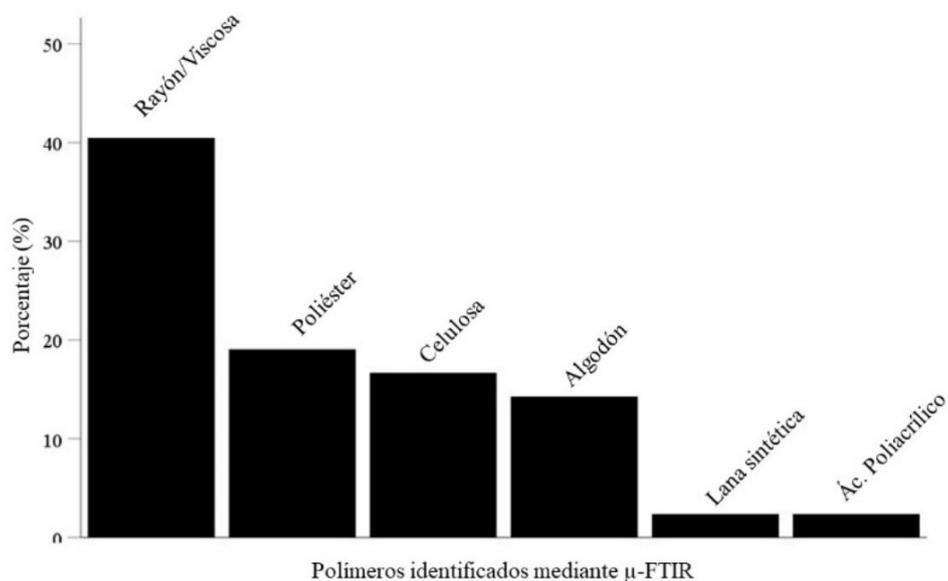


Figura 10. Porcentaje de cada uno de los polímeros plásticos identificados en las muestras de BALF.

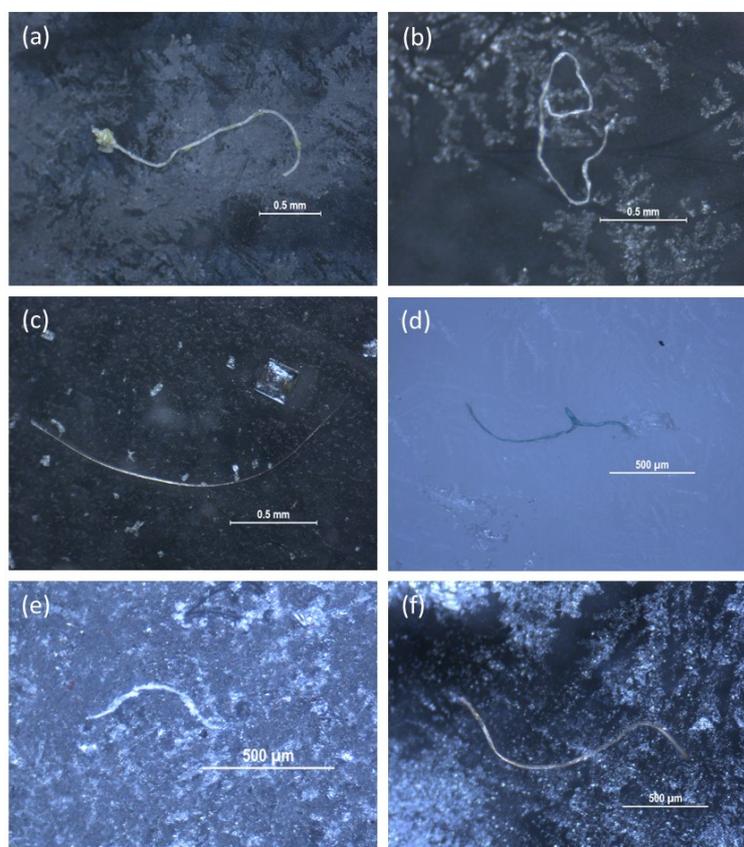


Figura 11. Imágenes de fibras aisladas en muestras de BALF correspondientes a los polímeros: (a) Poliéster; (b) Algodón; (c) Lana sintética; (d) Rayón; (e) Celulosa; (f) Acrilato.

Análisis de microfibras mediante microscopía electrónica de barrido (SEM-EDS).

Con objeto de profundizar en el complejo análisis de las microfibras aisladas en las muestras de BALF, tras su análisis físico mediante estereomicroscopía e identificación de polímeros mediante μ -FTIR, se llevó a cabo un análisis SEM-EDS, que proporcionó imágenes de alta resolución de sus estructuras y morfología de su superficie, así como una identificación semicuantitativa de su composición elemental. Se trata de una técnica laboriosa, que requiere un esfuerzo considerable en la preparación y examen de las muestras. Por todo ello, los análisis SEM-EDS se limitaron a 8 pacientes aleatorios (18,18 %). El análisis se realizó sin ninguna capa conductora de cobertura y con un haz de energía de electrones de 15,0 kV. Aunque se obtuvieron imágenes con algunos efectos de carga y una morfología menos detallada que con un voltaje más bajo, se pudo registrar un mejor espectro EDS.

En total se procesaron un total de 25 microfibras diferentes utilizando SEM-EDS. El alto contenido de carbono en todas ellas indicado por espectroscopía de rayos X de dispersión de energía se utilizó para validar su origen polimérico (Tiwari et al., 2019). La Figura 12 muestra algunas imágenes SEM y los espectros EDS registrados para 3 microfibras diferentes aisladas en 3 pacientes distintos. Las imágenes revelan superficies lisas cóncavas o convexas, sin grietas ni fragmentación, pero con algunos rasguños o surcos. Se detectaron rastros de silicio y azufre en una de ellas (Figura 12a), junto con los elementos calcio, potasio y cloro. Estos resultados podrían estar relacionados con la exposición a emisiones gaseosas de fuentes de combustión para ese paciente, el único de los estudiados que trabaja en una gasolinera y con alto riesgo de exposición a largo plazo a emisiones de vehículos motorizados (Morawska y Zhang, 2002; Soerose et al., 2019).

La fibra mostrada en la Figura 12b con su correspondiente espectro EDS, presenta concentraciones más elevadas y estadísticamente significativas para aluminio, silicio y fósforo que para el resto de las muestras analizadas. Este resultado podría ser compatible con la presencia de microfibras de aluminosilicato o algún tipo de amianto (Dumortier et al., 2001), aunque este paciente no presentaba alteraciones en su diagnóstico radiológico. Sartorelli et al. (2020) indican que el efecto del tabaquismo en el análisis citológico de BALF de trabajadores expuestos a asbesto es significativamente más evidente que cualquier otro efecto, y la presencia de compuestos de silicio y aluminio en BALF de fumadores ha sido ya ampliamente descrita (Brody y Craighead, 1975), representando un factor de confusión frente a la detección de asbestosis (Perna et al., 2002). Finalmente, para la fibra mostrada en la Figura 12c, los elevados niveles de aluminio en su composición también pueden estar relacionados con el trabajo de este paciente en una empresa de carpintería metálica. En cualquier caso, no se encontró ningún adsorbido como contaminante en ninguna de las 25 microfibras analizadas ningún elemento peligroso que pudiera llegar al tracto respiratorio del paciente y representar un problema potencial para su salud.

7-CONCLUSIONES

Presentamos el primer estudio realizado en vías respiratorias inferiores humanas en busca de microplásticos, que fueron analizados mediante estereomicroscopía, μ -FTIR y SEM-EDS. Para ello, se han empleado muestras del fluido obtenido mediante lavado broncoalveolar (BALF), consideradas de buena calidad y altamente representativas de las vías respiratorias inferiores

FACTORES CLÍNICOS Y AMBIENTALES RELACIONADOS CON LOS NIVELES DE MICROPLÁSTICOS EN EL LÍQUIDO DEL LAVADO BRONCOALVEOLAR DE PACIENTES CON ENFERMEDAD NEUMOLÓGICA

humanas. Se ha trabajado con 44 pacientes adultos, con edades comprendidas entre los 35 y los 86 años, de los cuales 32 (72,73%) eran hombres y 12 (27,27%) mujeres. Se han encontrado microplásticos en la mayoría de ellos, en forma principalmente de microfibras, siendo particularmente elevadas en fumadores y en pacientes con determinadas ocupaciones. Además, la asociación entre la concentración de microfibras en las muestras de BALF y los hallazgos patológicos, como anomalías radiológicas, crecimiento microbiano patológico y disminución de la función pulmonar, plantea varias posibilidades con respecto a cuáles podrían ser los mecanismos patogénicos de las microfibras en el pulmón. Aunque se necesitan estudios más amplios para definir el papel de los microplásticos presentes en el aire sobre la patología respiratoria, estos resultados nos alertan de que la exposición a estas microfibras podría tener consecuencias importantes en la salud respiratoria y que es muy probable que sea necesario implementar medidas para reducir la exposición humana a las mismas.

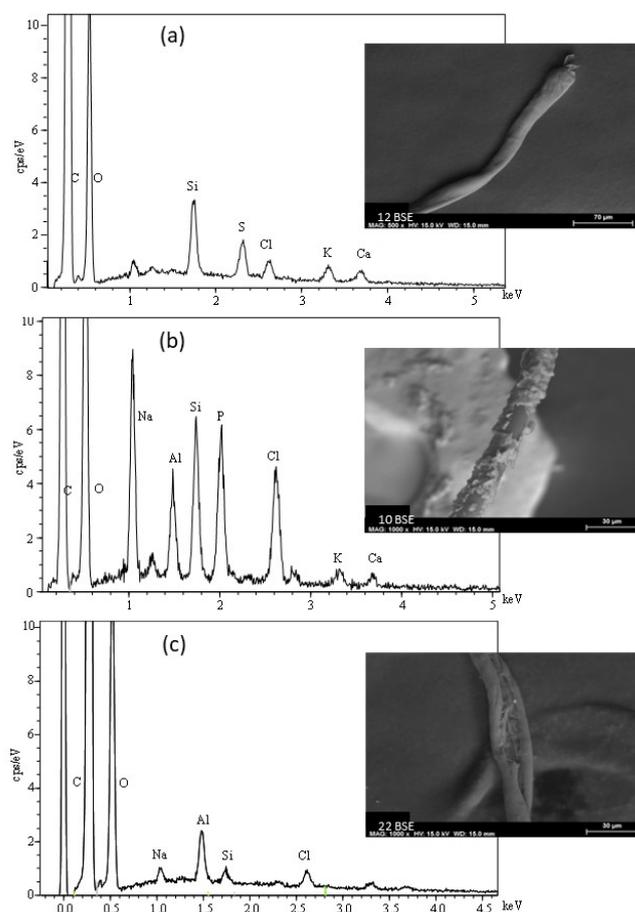


Figura 12. Imágenes de SEM-EDS adquiridas a 15,0 KV para tres microfibras diferentes aisladas en BLAF de tres pacientes incluidos en este estudio.

8-BIBLIOGRAFÍA

- Abbasi, S., Turner, A., 2021. Human exposure to microplastics: a study in Iran. *J. Hazard. Mat.* 403, 123799. (<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123799>)
- Adomat, Y., Grischek, T., 2021. Sampling and processing methods of microplastics in river sediments - A review. *Sci. Total Environ.* 758, 143691. (<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143691>)
- Ageel, H.K., Harrad, S., Abdallah, M.A.E., 2022. Occurrence, human exposure, and risk of microplastics in the indoor environment. *Environ. Sci.: Processes Impacts* 24, 17–31. (<https://doi.org/10.1039/D1EM00301A>)
- Alexopoulos, E.C., Bouros, D., Dimadi, M., Serbescu, A., Bakoyannis, G., Kokkinis, F.P., 2011. Comparative analysis of induced sputum and bronchoalveolar lavage fluid (BALF) profile in asbestos exposed workers. *J. Occup. Med. Toxicol.* 6, 1–7. (<https://doi.org/10.1186/1745-6673-6-23>)
- Amato-Lourenço, L.F., Carvalho-Oliveira, R., Júnior, G.R., dos Santos Galvão, L., Ando, R.A., Mauad, T., 2021. Presence of airborne microplastics in human lung tissue. *J. Hazard. Mat.* 416, 126124. (<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126124>)
- Amato-Lourenço, L.F., dos Santos Galvão, L., de Weger, L.A., Hiemstra, P.S., Vijver, M.G., Mauad, T., 2020. An emerging class of air pollutants: potential effects of microplastics to respiratory human health? *Sci. Total Environ.* 749, 141676. (<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141676>)
- Atis, S., Tutluoglu, B., Levent, E., Ozturk, C., Tunaci, A., Sahin, K., Sarale, I., Oktay, A., Kanik, A., Nemery, B., 2005. The respiratory effects of occupational polypropylene flock exposure. *Eur. Respir. J.* 25, 110–117. (<https://doi.org/10.1183/09031936.04.00138403>)
- Bayo, J., Martínez, A., Guillén, M., Olmos, S., Roca, M.J., Alcolea, A., 2017. Microbeads in commercial facial cleansers: threatening the environment. *Clean - Soil, Air, Water* 45, 1600683. (<https://doi.org/10.1002/clen.201600683>)
- Braun, T., Ehrlich, L., Henrich, W., Koepfel, S., Lomako, I., Schwabl, P., Liebmann, B., 2021. Detection of microplastic in human placenta and meconium in a clinical setting. *Pharmaceutics* 13, 921. (<https://doi.org/10.3390/pharmaceutics13070921>)
- Brody, A.R., Craighead, J.E., 1975. Cytoplasmic inclusions in pulmonary macrophages of cigarette smokers. *Lab. Invest.: J. Tech. Meth. Pathol.* 32, 125–132. (<https://europepmc.org/article/med/163418>)
- Cai, L., Wang, J., Peng, J., Tan, Z., Zhan, Z., Tan, X., Chen, Q., 2017. Characteristic of microplastics in the atmospheric fallout from Dongguan city, China: preliminary research and first evidence. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 24, 24928–24935. (<https://doi.org/10.1007/s11356-017-0116-x>)
- Callejón-Leblic, B., Garcia-Barrera, T., Gravalos-Guzman, J., Pereira-Vega, A., Gómez-Ariza, J.L., 2016. Metabolic profiling of potential lung cancer biomarkers using bronchoalveolar lavage fluid and the integrated direct infusion/gas chromatography mass spectrometry platform. *J. Proteom.* 145, 197–206. (<https://doi.org/10.1016/j.jprot.2016.05.030>)
- Chen, G., Feng, Q., Wang, J., 2020. Mini-review of microplastics in the atmosphere and their risks to humans. *Sci. Total Environ.* 703, 135504. (<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135504>)
- Chen, Q., Gao, J., Yu, H., Su, H., Yang, Y., Cao, Y., Zhang, Q., Ren, Y., Hollert, H., Shi, H., Chen, C., Liu, H., 2022a. An emerging role of microplastics in the etiology of lung ground glass nodules. *Environ. Sci. Eur.* 34, 1–15. (<https://doi.org/10.1186/s12302-022-00605-3>)

- Chen, R., Jakes, K.A., 2001. Cellulolytic biodegradation of cotton fibers from a deep-ocean environment. *J. Am. Inst. Conserv.* 40, 91–103. (<https://doi.org/10.1179/019713601806113076>)
- Chen, Y., Li, X., Zhang, X., Zhang, Y., Gao, W., Wang, R., He, D., 2022b. Air conditioner filters become sinks and sources of indoor microplastics fibers. *Environ. Pollut.* 292, 118465. (<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118465>)
- Da Costa Filho, P.A., Andrey, D., Eriksen, B., Peixoto, R.P., Carreres, B.M., Ambühl, M.E., Descarrega, J.B., Dubascoux, S., Zbiden, P., Panchaud, A., Poitevin, E., 2021. Detection and characterization of small-sized microplastics ($\geq 5 \mu\text{m}$) in milk products. *Sci. Rep.* 11, 1–13. (<https://doi.org/10.1038/s41598-021-03458-7>)
- De Falco, F., Cocca, M., Avella, M., Thompson, R.C., 2020. Microfiber release to water, via laundering, and to air, via everyday use: a comparison between polyester clothing with differing textile parameters. *Environ. Sci. Technol.* 54, 3288–3296. (<https://doi.org/10.1021/acs.est.9b06892>)
- Dehaut, A., Hermabessiere, L., Duflos, G., 2019. Current frontiers and recommendations for the study of microplastics in seafood. *Trend. Anal. Chem.* 116, 346–359. (<https://doi.org/10.1016/j.trac.2018.11.011>)
- Dioses-Salinas, D.C., Pizarro-Ortega, C.I., De-la-Torre, G.E., 2020. A methodological approach of the current literature on microplastic contamination in terrestrial environments: Current knowledge and baseline considerations. *Sci. Total Environ.* 730, 139164. (<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.139164>)
- Dris, R., Gasperi, J., Mirande, C., Mandin, C., Guerrouache, M., Langlois, V., Tassin, B., 2017. A first overview of textile fibers, including microplastics, in indoor and outdoor environments. *Environ. Pollut.* 221, 453–458. (<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.12.013>)
- Dris, R., Gasperi, J., Saad, M., Mirande, C., Tassin, B., 2016. Synthetic fibers in atmospheric fallout: a source of microplastics in the environment? *Mar. Pollut. Bull.* 104, 290–293. (<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.01.006>)
- Dumortier, P., Broucke, I., De Vuyst, P., 2001. Pseudoasbestos bodies and fibers in bronchoalveolar lavage of refractory ceramic fiber users. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 164, 499–503. (<https://doi.org/10.1164/ajrccm.164.3.2012020>)
- Evangelidou, N., Grythe, H., Klimont, Z., Heyes, C., Eckhardt, S., Lopez-Aparicio, S., Stohl, A., 2020. Atmospheric transport is a major pathway of microplastics to remote regions. *Nat. Commun.* 11, 1–11. (<https://doi.org/10.1038/s41467-020-17201-9>)
- Ferrante, M., Pietro, Z., Allegui, C., Maria, F., Antonio, C., Pulvirenti, E., Favara, C., Chiara, C., Grasso, A., Omayma, M., Gea, O.C., Banni, M., 2022. Microplastics in fillets of Mediterranean seafood. A risk assessment study. *Environ. Res.* 204, 112247. (<https://doi.org/10.1016/j.envres.2021.112247>)
- Frias, J.P.G.L., Gago, J., Otero, V., Sobral, P., 2016. Microplastics in coastal sediments from Southern Portuguese shelf waters. *Mar. Environ. Res.* 114, 24–30. (<https://doi.org/10.1016/j.marenvres.2015.12.006>)
- Gasperi, J., Dris, R., Mirande-Bret, C., Mandin, C., Langlois, V., Tassin, B., 2015. First overview of microplastics in indoor and outdoor air. In: 15th EuCheMS International Conference on Chemistry and the Environment. (<https://hal-enpc.archives-ouvertes.fr/hal-01195546>)
- Gniadek, M., Dąbrowska, A., 2019. The marine nano-and microplastics characterisation by SEM-EDX: the potential of the method in comparison with various physical and chemical approaches. *Mar. Pollut. Bull.* 148, 210–216. (<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.07.067>)

- González-Pleiter, M., Edo, C., Casero-Chamorro, M.C., Aguilera, A., González-Toril, E., Wierzchos, J., Leganés, F., Fernández-Piñas, F., Rosal, R., 2020. Viable microorganisms on fibers collected within and beyond the planetary boundary layer. *Environ. Sci. Technol. Lett.* 7, 819–825. (<https://doi.org/10.1021/acs.estlett.0c00667>)
- González-Pleiter, M., Pedrouzo-Rodríguez, A., Verdú, I., Leganés, F., Marco, E., Rosal, R., Fernández-Piñas, F., 2021. Microplastics as vectors of the antibiotics azithromycin and clarithromycin: Effects towards freshwater microalgae. *Chemosphere* 268, 128824. (<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128824>)
- Goodman, K.E., Hare, J.T., Khamis, Z.I., Hua, T., Sang, Q.X.A., 2021. Exposure of human lung cells to polystyrene microplastics significantly retards cell proliferation and triggers morphological changes. *Chem. Res. Toxicol.* 34, 1069–1081. (<https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.0c00486>)
- Guo, C., Hoek, G., Chang, L.Y., Bo, Y., Lin, C., Huang, B., Chan, T.C., Tam, T., Lau, A.K.H., Lao, X.Q., 2019. Long-term exposure to ambient fine particulate matter (PM 2.5) and lung function in children, adolescents, and young adults: a longitudinal cohort study. *Environ. Health Perspect.* 127, 127008. (<https://doi.org/10.1289/EHP5220>)
- Huang, S., Huang, X., Bi, R., Guo, Q., Yu, X., Zeng, Q., Huang, Z., Liu, T., Wu, H., Chen, Y., Xu, J., Wu, Y., Guo, P., 2022. Detection and analysis of microplastics in human sputum. *Environ. Sci. Technol.* 56, 2476–2486. (<https://doi.org/10.1021/acs.est.1c03859>)
- Ibrahim, Y.S., Anuar, S.T., Azmi, A.A., Khalik, W.M.A.W.M., Lehata, S., Hamzah, S.R., Ismail, D., Ma, Z.F., Dzulkarnaen, A., Zakaria, Z., Mustaffa, N., Shariff, S.E.T., Lee, Y.Y., 2021. Detection of microplastics in human colectomy specimens. *JGH Open* 5, 116–121. (<https://doi.org/10.1002/jgh3.12457>)
- Jenner, L.C., Rotchell, J.M., Bennett, R.T., Cowen, M., Tentzeris, V., Sadofsky, L.R., 2022. Detection of microplastics in human lung tissue using μ FTIR spectroscopy. *Sci. Total Environ.*, 831, 154907. (<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154907>)
- Karami, A., Golieskardi, A., Choo, C.K., Romano, N., Ho, Y.B., Salamatinia, B., 2017. A high-performance protocol for extraction of microplastics in fish. *Sci. Total Environ.* 578, 485–494. (<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2016.10.213>)
- Kärkkäinen, N., Sillanpää, M., 2021. Quantification of different microplastic fibres discharged from textiles in machine wash and tumble drying. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 28, 16253–16263. (<https://doi.org/10.1007/s11356-020-11988-2>)
- Kashfi, F.S., Ramavandi, B., Arfaeina, H., Mohammadi, A., Saeedi, R., De-la-Torre, G.E., Dobaradaran, S., 2022. Occurrence and exposure assessment of microplastics in indoor dusts of buildings with different applications in Bushehr and Shiraz cities, Iran. *Sci. Total Environ.* 829, 154651. (<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.154651>)
- Kebbe, J., Abdo, T., 2017. Interstitial lung disease: The diagnostic role of bronchoscopy. *J. Thorac. Dis.* 9, S996–S1010. (<https://doi.org/10.21037/jtd.2017.06.39>)
- Kownacki, K.L., Gao, C., Kuklane, K., Wierzbička, A., 2019. Heat stress in indoor environments of Scandinavian urban areas: A literature review. *Int. J. Environ. Res. Public Health* 16, 560. (<https://doi.org/10.3390/ijerph16040560>)
- Leslie, H.A., Van Velzen, M.J., Brandsma, S.H., Vethaak, D., Garcia-Vallejo, J.J., Lamoree, M.H., 2022. Discovery and quantification of plastic particle pollution in human blood. *Environ. Int.*, 107199. (<https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107199>)
- Li, Y., Shao, L., Wang, W., Zhang, M., Feng, X., Li, W., Zhang, D., 2020. Airborne fiber particles: types, size and concentration observed in Beijing. *Sci. Total Environ.* 705, 135967. (<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135967>)

- Liao, Z., Ji, X., Ma, Y., Lv, B., Huang, W., Zhu, X., Fang, M., Wang, Q., Wang, X., Dahlgren, R., Shang, X., 2021. Airborne microplastics in indoor and outdoor environments of a coastal city in Eastern China. *J. Hazard. Mat.* 417, 126007. (<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2021.126007>)
- Lusher, A.L., O'Donnell, C., Officer, R., O'Connor, I., 2016. Microplastic interactions with North Atlantic mesopelagic fish. *ICES J. Mar. Sci.* 73, 1214–1225. (<https://doi.org/10.1093/icesjms/fsv241>)
- Marina-Montes, C., Pérez-Arribas, L.V., Anzano, J., de Vallejuelo, S.F.O., Aramendia, J., Gómez-Nubla, L., de Diego, A., Madariaga, J.M., Cáceres, J.O., 2022. Characterization of atmospheric aerosols in the Antarctic region using Raman Spectroscopy and Scanning Electron Microscopy. *Spectrochim. Acta A Mol. Biomol. Spectrosc.* 266, 120452. (<https://doi.org/10.1016/j.saa.2021.120452>)
- Mathalon, A., Hill, P., 2014. Microplastic fibers in the intertidal ecosystem surrounding Halifax Harbor, Nova Scotia. *Mar. Pollut. Bull.* 81, 69–79. (<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2014.02.018>)
- Mbachu, O., Jenkins, G., Pratt, C., Kaparaju, P., 2020. A new contaminant superhighway? A review of sources, measurement techniques and fate of atmospheric microplastics. *Wat. Air Soil Poll.* 231, 1–27. (<https://doi.org/10.1007/s11270-020-4459-4>)
- Meng, J., Zhang, Q., Zheng, Y., He, G., Shi, H., 2021. Plastic waste as the potential carriers of pathogens. *Curr. Opin. Food Sci.* 41, 224–230. (<https://doi.org/10.1016/j.cofs.2021.04.016>)
- Meyer, K.C., Raghu, G., Baughman, R.P., et al., 2012. An official American Thoracic Society clinical practice guideline: the clinical utility of bronchoalveolar lavage cellular analysis in interstitial lung disease. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 185, 1004–1014. (<https://doi.org/10.1164/rccm.201202-0320ST>)
- Militky, J., Novak, O., Kremenakova, D., Wiener, J., Venkataraman, M., Zhu, G., Yao, J., Aneja, A., 2021. A review of impact of textile research on protective face masks. *Materials* 14, 1937. (<https://doi.org/10.3390/ma14081937>)
- Miller, M.R., Crapo, R., Hankinson, J., Brusasco, V., Burgos, F., Casaburi, R., Coates, A., Enright, P., van der Grinten, C.P.M., Gustafsson, P., Janssen, R., Johnson, D.C., MacIntyre, N., McKay, R., Navajas, D., Pedersen, O.F., Pellegrino, R., Viegi, G., Wanger, J., 2005. General considerations for lung function testing. *Eur. Respir. J.* 26, 153–161. (<https://doi.org/10.1183/09031936.05.00034505>)
- Morawska, L., Zhang, J.J., 2002. Combustion sources of particles. 1. Health relevance and source signatures. *Chemosphere* 49, 1045–1058. ([https://doi.org/10.1016/S0045-6535\(02\)00241-2](https://doi.org/10.1016/S0045-6535(02)00241-2))
- Napper, I.E., Thompson, R.C., 2016. Release of synthetic microplastic plastic fibres from domestic washing machines: Effects of fabric type and washing conditions. *Mar. Pollut. Bull.* 112, 39–45. (<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2016.09.025>)
- Nematollahi, M.J., Keshavarzi, B., Mohit, F., Moore, F., Busquets, R., 2022. Microplastic occurrence in urban and industrial soils of Ahvaz metropolis: a city with a sustained record of air pollution. *Sci. Total Environ.* 819, 152051. (<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.152051>)
- Nuelle, M.T., Dekiff, J.H., Remy, D., Fries, E., 2014. A new analytical approach for monitoring microplastics in marine sediments. *Environ. Pollut.* 184, 161–169. (<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2013.07.027>)
- O'Brien, S., Okoffo, E. D., O'Brien, J. W., Ribeiro, F., Wang, X., Wright, S.L., Samanipour, S., Rauert, C., Toapanta, T.Y.A., Albarracin, R., Thomas, K.V., 2020. Airborne emissions of

- microplastic fibres from domestic laundry dryers. *Sci. Total Environ.* 747, 141175. (<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.141175>)
- Pairon, J.C., Billon-Galland, M.A., Iwatsubo, Y., Bernstein, M., Gaudichet, A., Bignon, J., Brochard, P., 1994. Biopersistence of nonfibrous mineral particles in the respiratory tracts of subjects following occupational exposure. *Environ. Health Perspect.* 102, 269–275. (<https://doi.org/10.1289/ehp.94102s5269>)
- Panko, J.M., Hitchcock, K.M., Fuller, G.W., Green, D., 2019. Evaluation of tire wear contribution to PM_{2.5} in urban environments. *Atmosphere* 10, 99. (<https://doi.org/10.3390/atmos10020099>)
- Pauly, J.L., Stegmeier, S.J., Allaart, H.A., Cheney, R.T., Zhang, P.J., Mayer, A.G., Streck, R.J., 1998. Inhaled cellulosic and plastic fibers found in human lung tissue. *Cancer Epidemiol. Biomarkers. Prev.* 7, 419–428.
- Pedersen, K.M., Çolak, Y., Bojesen, S.E., Nordestgaard, B.G., 2020. Low high-density lipoprotein and increased risk of several cancers: 2 population-based cohort studies including 116,728 individuals. *J. Hematol. Oncol.* 13, 1–11. (<https://doi.org/10.1186/s13045-020-00963-6>)
- Pérez-Guevara, F., Kutralam-Muniasamy, G., Shruti, V.C., 2021. Critical review on microplastics in fecal matter: Research progress, analytical methods and future outlook. *Sci. Total Environ.* 778, 146395. (<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146395>)
- Perna, F., Iavarone, M., Skrimpas, S., Mazzarella, G., Sanduzzi, A., 2002. Detection and qualitative identification of mineral fibers and particles in alveolar macrophages of BAL fluid by SEM and EDXA. *Monaldi Arch. Chest Dis.* 57, 193–195.
- Petersen, F., Hubbart, J.A., 2021. The occurrence and transport of microplastics: The state of the science. *Sci. Total Environ.* 758, 143936. (<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143936>)
- PlasticsEurope, 2021. Plastics – the Facts 2021. An analysis of European plastics production, demand and waste data (WWW document). (<https://plasticseurope.org/knowledge-hub/plastics-the-facts-2021/>). (Accessed March 2022).
- Rabe, K.F., Hurd, S., Anzueto, A., Barnes, P.J., Buist, S.A., Calverley, P., Fukuchi, Y., Jenkins, C., Rodriguez-Roisin, R., van Weel, C., Zielinski, J., 2007. Global strategy for the diagnosis, management, and prevention of chronic obstructive pulmonary disease: GOLD executive summary. *Am. J. Respir. Crit. Care Med.* 176, 532–555. (<https://doi.org/10.1164/rccm.200703-456SO>)
- Sartorelli, P., Indini, S., Bianchi, F., d'Alessandro, M., Bergantini, L., Cameli, P., Scancarello, G., Mazzei, M.A., Barabesi, L., Bargagli, E., 2020. Cytological analysis of bronchoalveolar lavage fluid in asbestos-exposed workers. *Med. Lav.* 111, 379. (<https://doi.org/10.23749/mdl.v111i5.9170>)
- Shruti, V.C., Pérez-Guevara, F., Elizalde-Martínez, I., Kutralam-Muniasamy, G., 2021. Toward a unified framework for investigating micro (nano) plastics in packaged beverages intended for human consumption. *Environ. Pollut.* 268, 115811. (<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115811>)
- Soeroso, N.N., Intan, T.K., Ichwan, M., 2019. Factors associated decrease of forced vital capacity on gas station employees exposed to sulfur dioxide (SO₂). *IOP Conf. Ser.: Earth Environ. Sci.* 245, 012015. (<https://doi.org/10.1088/1755-1315/245/1/012015>)
- Tao, D., Zhang, K., Xu, S., Lin, H., Liu, Y., Kang, J., Tao, D., Zhang, K., Xu, S., Lin, H., Liu, Y., Kang, J., Yim, T., Giesy, J.P., Leung, K.M.Y., 2022. Microfibers Released into the Air from a Household Tumble Dryer. *Environ. Sci. Technol. Lett.* 9, 120–126. (<https://doi.org/10.1021/acs.estlett.1c00911>)

- Tiwari, M., Rathod, T.D., Ajmal, P.Y., Bhangare, R.C., Sahu, S.K., 2019. Distribution and characterization of microplastics in beach sand from three different Indian coastal environments. *Mar. Pollut. Bull.* 140, 262–273. (<https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2019.01.055>)
- Verdú, I., González-Pleiter, M., Leganés, F., Rosal, R., Fernández-Piñas, F., 2021. Microplastics can act as vector of the biocide triclosan exerting damage to freshwater microalgae. *Chemosphere* 266, 129193. (<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.129193>)
- Verla, A.W., Enyoh, C.E., Verla, E.N., Nwarnorh, K.O., 2019. Microplastic–toxic chemical interaction: a review study on quantified levels, mechanism and implication. *SN Appl. Sci.* 1, 1–30. (<https://doi.org/10.1007/s42452-019-1352-0>)
- Wang, K., Huang, Y., Zhang, Z., Liao, J., Ding, Y., Fang, X., Liu, L., Luo, J., Kong, J., 2019. A preliminary study of microbiota diversity in saliva and bronchoalveolar lavage fluid from patients with primary bronchogenic carcinoma. *Med. Sci. Monit.* 25, 2819. (<https://doi.org/10.12659/MSM.915332>)
- Wang, Y.L., Lee, Y.H., Hsu, Y.H., Chiu, I.J., Huang, C.C.Y., Huang, C.C., Chia, Z.C., Lee, C.P., Lin, Y.F., Chiu, H.W., 2021. The kidney-related effects of polystyrene microplastics on human kidney proximal tubular epithelial cells HK-2 and male C57BL/6 mice. *Environ. Health Perspect.* 129, 057003. (<https://doi.org/10.1289/EHP7612>)
- Warheit, D.B., Hart, G.A., Hesterberg, T.W., Collins, J.J., Dyer, W.M., Swaen, G.M. H., Castranova, V., Soiefer, A.I., Kennedy, G.L., 2001. Potential pulmonary effects of man-made organic fiber (MMOF) dusts. *Crit. Rev. Toxicol.* 31, 697–736. (<https://doi.org/10.1080/20014091111965>)
- Woodall, L.C., Sanchez-Vidal, A., Canals, M., Paterson, G.L.J., Coppock, R., Sleight, V., Calafat, A., Rogers, A.D., Narayanaswamy, E., Thompson, R.C., 2014. The deep sea is a major sink for microplastic debris. *Royal Soc. Open Sci.* 1, 140317. (<https://doi.org/10.1098/rsos.140317>)
- Wright, S.L., Kelly, F.J., 2017. Plastic and human health: A micro issue? *Environ. Sci. Technol.* 51, 6634–6647. (<https://doi.org/10.1021/acs.est.7b00423>)
- Yan, Z., Liu, Y., Zhang, T., Zhang, F., Ren, H., Zhang, Y., 2022. Analysis of microplastics in human feces reveals a correlation between fecal microplastics and inflammatory bowel disease status. *Environ. Sci. Technol.* 56, 414–421. (<https://doi.org/10.1021/acs.est.1c03924>)
- Yee, M.S.L., Hii, L. W., Looi, C.K., Lim, W.M., Wong, S.F., Kok, Y.Y., Tan, B.K., Wong, C.Y., Leong, C.O., 2021. Impact of microplastics and nanoplastics on human health. *Nanomaterials* 11, 496. (<https://doi.org/10.3390/nano11020496>)
- Zhang, Q., Du, F., Liang, W., Chen, Q., Meng, J., Shi, H., 2022. Microfiber fallout during dining and potential human intake. *J. Hazard. Mat.* 430, 128477. (<https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2022.128477>)