

## مقاله پژوهشی

## مطالعه تغییرات هیستولوژی و هیستومتری معده و روده موش‌های سوری نر مصرف‌کننده میکروپلاستیک نانو استایرن

محمدرضا غفاری‌منش<sup>۱</sup>، اسماعیل فتاحی<sup>۱\*</sup>، فرشته میرمحمدرضایی<sup>۲</sup>، سیما مشایخ<sup>۱</sup>

۱- گروه زیست‌شناسی، واحد آیت‌الله آملی، دانشگاه آزاد اسلامی، آمل، ایران

۲- گروه زیست‌شناسی جانوری، دانشکده علوم پایه، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

\*مسئول مکاتبات: esmail\_fattahy@yahoo.com

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۳۰

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۹/۲۲

DOI: 10.22034/ascij.2024.2003866.1573

## چکیده

امروزه میکروپلاستیک‌ها جزو مهم‌ترین آلودگی‌های محیط زیستی به شمار می‌روند که توجه دانشمندان را به خود جلب کرده است. این ذرات پلاستیکی با بلعیده شدن توسط جانوران وارد زنجیره غذایی شده و سبب آسیب‌های جدی به انسان و جانوران می‌شوند. هدف از انجام این پژوهش بررسی اثر میکروپلاستیک نانو استایرنی بر سیستم گوارش پستانداران می‌باشد. موش‌ها به ۳ گروه ۶ تایی تقسیم‌بندی شدند: گروه کنترل که یک مرتبه در روز ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر به مدت ۳۰ روز دریافت کرد. گروه اول که یک مرتبه در روز ۲۰۰ میکرولیتر نانو استایرن با دوز ۰/۱ میلی‌گرم/کیلوگرم به مدت ۳۰ روز دریافت کرد. گروه دوم که یک مرتبه در روز ۲۰۰ میکرولیتر نانو استایرن با دوز ۰/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم به مدت ۳۰ روز دریافت کرد. روز بعد از آخرین گاوژ حیوان با کلروفورم بیهوش شد و نمونه‌های روده و معده جهت بررسی‌های بافتی در محلول فرمالین ۱۰ درصد بافری تثبیت با روش رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین رنگ‌آمیزی شدند. برای تجزیه و تحلیل آماری و مقایسه بین گروه‌ها از آزمون توکی استفاده شد. تمامی محاسبات با استفاده از نرم‌افزار Prism انجام شد و سطح معنی‌دار آزمون‌ها  $p < 0/05$  در نظر گرفته شد. یافته‌های آماری نشان‌دهنده کاهش قطر زیرمخاط، تعداد سلول پوششی، سلول اپیتلیوم در گروه آزمایشی ۲ نسبت به گروه کنترل است. ارتفاع پرز روده و معده در گروه آزمایشی ۲ نسبت به گروه کنترل افزایش نشان داد. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که اثرات نانو استایرن وابسته به غلظت می‌باشد و هرچه غلظت افزایش پیدا کند اثرات مخرب تری بر روده و معده بر جای خواهد گذاشت.

کلمات کلیدی: میکروپلاستیک، نانو استایرن، بافت‌شناسی، معده، روده.

## مقدمه

و گرما در ساخت طیف وسیعی از محصولات بکار می‌شوند (۲، ۱۰). با وجود آنکه پلاستیک‌ها مزایای بسیاری دارند ولی افزایش تولید آن طی سال‌های اخیر موجب تولید انبوهی از زباله‌های پلاستیکی در محیط شده است که دوام، ماندگاری و سرعت پایین بازیافت

پلاستیک‌ها مواد قابل انعطافی هستند که جهت ساخت بسیاری از اجسام با اشکال و ابعاد مختلف استفاده می‌گردند. این مواد بخاطر سهولت در ساخت، ارزان بودن، مقاومت در برابر آب و رطوبت، خصوصیات شیمیایی متفاوت و مقاومت در برابر نور

آنها موجب بروز معضلات زیست محیطی شده‌اند؛ این مواد که تولید آنها طی ۱۵ سال گذشته افزایش قابل ملاحظه‌ای داشته‌اند. به طوری که نتایج نشان داده است که تولید جهانی پلاستیک از سال ۱۹۵۰ تا سال ۲۰۰۵ از ۵ میلیون تن به بیش از ۲۲۵ میلیون تن افزایش یافته است. با این حجم از مصرف پلاستیک‌ها و عدم تجزیه‌پذیری، این مواد می‌توانند در محیط زیست تجمع بیابند. همچنین با توجه به نرخ رشد جمعیت در جهان و میزان مصرف فعلی تخمین زده می‌شود تا سال ۲۰۲۵، مقدار تولید آن حتی ۲ برابر و تا سال ۲۰۵۰ به بیش از ۳ برابر افزایش چشمگیری خواهند داشت (۱۰، ۱۳).

پلی‌اتیلن ترفتالات (PET)، پلی‌اتیلن (PE)، پلی‌استایرن (PS) و PVC انواعی از پلیمرها می‌باشند که در ساخت بیش از نیمی از محصولات پلاستیکی بکار رفته‌اند (۹). در واقع مواد پلاستیکی پلیمرهایی هستند که ساختار شیمیایی شان به آنها اجازه می‌دهد که در دمای فشار بالا به اشکال مختلف در آیند پس این پلیمرهای زنجیره بلند وقتی حرارت ببینند به صورت مایع پلاستیکی ظاهر می‌شوند و می‌توانند به اشکال مختلف در آیند (۸). پلی‌استایرن و PVC به علت داشتن حلقه ی بنزنی نسبت به بقیه‌ی پلیمرها بسیار خطرناک تر هستند (۵). این بقایای پلاستیکی موجود در طبیعت به تدریج به تکه‌های بسیار ریز شکسته و تقسیم می‌شوند که باعث می‌شود به راحتی توسط جانوران مختلف بلعیده شوند (۱۵، ۱۶). استایرن با نام‌های سینامن، سینامول، اتیل-بنزن، استیرویل و فنیل اتیلن شناخته می‌شود. ماده خامی که استایرن از آن بدست می‌آید نفت خام یا LPG است. بزرگترین مورد مصرف پلی‌استایرن در بسته‌بندی‌ها است اما از آن در تجهیزات و لوازم ورزشی، ظروف، لوازم خانگی، اسباب بازی‌ها و ... استفاده می‌گردد. مقادیر از استایرن در طیف گسترده و پیچیده‌ای از غذاها نیز وجود دارد

که در بسیاری از نمونه‌ها به علت انتقال استایرن از بسته بندی غذایی که از جنس استایرن است به دستگاه گوارش منتقل می‌گیرند (۱۷). معده گشادترین بخش لوله گوارش است که به شکل حرف J انگلیسی است. این عضو بین مری شکمی و روده کوچک قرار گرفته و در نواحی اپی گاستریک، نافی و هیپو کندریال چپ شکم استقرار یافته و شامل ۴ بخش است: کاردیا، که احاطه کننده محل ورود مری به معده می‌باشد. فوندوس، که شامل قسمتی از معده است که در بالای سطح سوراخ کاردیا قرار دارد. تنه یا بدنه معده، که بزرگترین قسمت معده است. ناحیه پیلور، که انتهای دیستال معده است و به دو بخش آنتروم پیلوری و مجرای پیلور تقسیم می‌شود (۶). اما روده باریک بزرگترین قسمت لوله گوارش است که از سوراخ پیلور شروع و تا چین خوردگی‌ها ایلئوسکال ادامه دارد. این لوله توخالی به طور نسبی ۶-۷ متر درازا داشته ولی قطر متغیری دارد. قطر روده از ابتدا به انتها کاهش می‌یابد. روده باریک از بخش‌های دوازدهه، ژژنوم و ایلئوم تشکیل شده است (۱۲). به دلیل آنکه جذب مواد غذایی در انسان عمدتاً در جذب بر عهده روده کوچک است و روده مقداری آب نیز جذب می‌کند و از سوی هرچند که معده توانایی جذب بسیار محدودی دارد اما می‌توان گفت که یکی از وظایف فرعی معده نیز جذب غذا هست و همچنین از سوی دیگر استایرن در زنجیره غذایی از سطوح پایین زنجیره به سطوح بالاتر آن و سپس در دستگاه گوارش موجودات زنده راه پیدا می‌کند به طوری که بلعیدن میکروپلاستیک‌ها می‌تواند باعث انسداد لوله‌های تغذیه‌ای، ایجاد پاسخ‌های التهابی و به دنبال آن به راه انداختن یک سری از اثرات منفی مانند ذخیره اندک انرژی، کاهش تولید مثل، آسیب‌های اکسیداتیو و اختلالات متابولیسمی شود (۲۰). استایرن توانسته

سبب القای استرس کبدی در گونه‌ی *Japanese medaka* شود که شامل تخلیه‌ی گلیکوژن، حفرات چربی و نکروز سلولی شود و یا دیگر محققان دریافته‌اند که نانو استایرن سبب تغییر در فلور میکروبیوتای روده موش گردیده است (۱۴). لذا این تحقیق با هدف بررسی اثرات این ترکیب بر بافت‌های روده و معده‌ی موش‌های آزمایشگاهی انجام شد.

### مواد و روش‌ها

در این آزمایش از موش‌های سفید نر سوری نژاد NMRI خریداری شده از مرکز پرورش حیوانات دانشکده علوم پزشکی مازندران استفاده شد. موش‌ها در مرکز نگهداری حیوانات در شرایط تحت کنترل از نظر دما، رطوبت، نور و... به مدت یک هفته جهت سازگاری با محیط جدید نگه داشته شدند. همچنین سیکل ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی برای موش‌ها رعایت گردید. در تمام طول آزمایش موش‌ها آب و غذای کافی دریافت کردند. در این پژوهش از ۳ گروه ۶ تایی موش سوری نر نژاد NMRI استفاده شد. گروه کنترل که یک مرتبه در روز ۲۰۰ میکرولیتر آب مقطر به مدت ۳۰ روز دریافت کرد. گروه ۱ که یک مرتبه در روز ۲۰۰ میکرولیتر نانو استایرن با دوز ۰/۱ میلی‌گرم/کیلوگرم به مدت ۳۰ روز دریافت کرد. گروه ۲ که یک مرتبه در روز ۲۰۰ میکرولیتر نانو استایرن با دوز ۰/۵ میلی‌گرم/کیلوگرم به مدت ۳۰ روز دریافت کرد. روز بعد از آخرین گاوآژ حیوان با کلروفورم بیهوش شد و نمونه‌های روده و معده جهت بررسی‌های بافتی در محلول فرمالین ۱۰ درصد بافری تثبیت گردید. مراحل رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین - ائوزین عبارت بودند از: ۱- پارافین‌زدایی: پارافین ماده‌ای آبگریز است و اجازه ورود رنگ‌ها به سلول را نمی‌دهد. به همین دلیل برای رنگ‌آمیزی نمونه ابتدا باید تمام پارافینی که در مرحله قبل برای تثبیت بافت

استفاده شده است، به وسیله زایلن خارج شود. ۲- آبدهی: پس از پارافین‌زدایی و برای خارج کردن زایلن، نمونه در الکل‌هایی با غلظت متفاوت قرار می‌گیرد. پس از این مرحله واکنشگرهای آبدوست وارد سلول می‌شوند و می‌توان سلول را رنگ کرد. ۳- هماتوکسیلین: در این مرحله هماتوکسیلین (رنگ هسته) به نمونه اضافه می‌شود. این رنگ هسته سلول را به بنفش مایل به قرمز تغییر می‌دهد. ۴- ائوزین: ائوزین رنگ متضاد هماتوکسیلین است. این رنگ محلول در آب ساختارهای غیر از هسته را به رنگ صورتی روشن تغییر می‌دهد. ۵- آب‌گیری، تمیز کردن لام، استفاده از لامل و مشاهده سلول: پس از رنگ‌آمیزی با ائوزین برای خروج آب، نمونه در درصد‌های مختلف الکل قرار داده می‌شود. سپس برای رنگ‌زدایی و تمیز کردن لام، نمونه را در زایلن قرار می‌دهیم. در نهایت با استفاده از لامل و میکروسکوپ نوری نمونه سلولی یا بافتی مشاهده شد. (۷).

برای تجزیه و تحلیل آماری و مقایسه بین گروه‌ها از آزمون TUKEY استفاده شد. تمامی محاسبات با استفاده از نرم‌افزار Prism انجام شد و سطح معنی‌دار آزمون‌ها  $p < 0/05$  در نظر گرفته شد.

### نتایج

**ارتفاع پرز:** نتایج آنالیز واریانس داده‌های حاصل از بررسی تاثیر نانو استایرن بر ارتفاع (میکرومتر) پرز معده و روده موش‌های آزمایشگاهی در نمودار ۱ نشان می‌دهد که میانگین ارتفاع پرز در روده بیشتر از معده می‌باشد. ارتفاع پرز در روده در گروه‌های کنترل و اول فاقد اختلاف آماری معنی‌داری بوده است. در گروه ۲ ارتفاع پرز کاهش یافته و با گروه کنترل و اول دارای اختلاف آماری معنی‌دار می‌باشد. در بافت معده، ارتفاع پرز در گروه‌های کنترل و تجربی ۲ فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بوده است. گروه اول دارای

نمودار ۵ نشان می‌دهد که میانگین قطر زیرمخاط در معده بیشتر از روده می‌باشد. میانگین قطر زیرمخاط در روده بین گروه‌های کنترل و اول و همچنین بین گروه‌های کنترل و دوم اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشته است. در گروه ۲ میانگین قطر زیرمخاط کاهش داشته است، لذا گروه‌های اول و دوم از بیشترین و کمترین میانگین قطر زیرمخاط به ترتیب برخوردار بوده‌اند. در بافت معده، میانگین قطر زیرمخاط در گروه‌های کنترل، اول و دوم فاقد اختلاف آماری معنی‌داری بوده است (جدول ۳).

**تعداد سلول پوششی:** آنالیز واریانس داده‌های حاصل از بررسی تاثیر نانو استایرن بر تعداد سلول پوششی معده و روده موش‌های آزمایشگاهی در نمودار ۶ نشان می‌دهد که میانگین تعداد سلول پوششی در معده بیشتر از روده می‌باشد. در هر دو بافت معده و روده، میانگین تعداد سلول پوششی بین گروه‌های کنترل و اول اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشته است. در گروه ۲ میانگین تعداد سلول پوششی کاهش داشته است، لذا گروه‌های اول و دوم در بافت معده و روده از بیشترین و کمترین میانگین تعداد سلول پوششی به ترتیب برخوردار بوده‌اند (جدول ۳).

**تعداد سلول التهابی:** نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از بررسی تاثیر نانو استایرن بر تعداد سلول التهابی معده و روده موش‌های آزمایشگاهی در نمودار ۷ نشان می‌دهد که میانگین تعداد سلول التهابی در روده بیشتر از معده می‌باشد. در هر دو بافت معده و روده، میانگین تعداد سلول التهابی بین گروه‌های اول و دوم اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشته است. میانگین تعداد سلول التهابی در گروه کنترل در هر دو بافت معده و روده بسیار پائین‌تر از دو گروه دیگر مورد مطالعه می‌باشد. به طوری که گروه‌های دوم و اول در هر دو بافت معده و روده از بیشترین و کمترین میانگین تعداد سلول التهابی به ترتیب

اختلاف آماری معنی‌داری با دو گروه دیگر می‌باشد. در هر دو بافت معده و روده، گروه‌های اول و دوم از بیشترین و کمترین ارتفاع پرز به ترتیب برخوردار بوده‌اند (جدول ۱).

**عرض پرز:** آنالیز واریانس داده‌های حاصل از بررسی تاثیر نانو استایرن بر عرض پرز (میکرومتر) معده و روده موش‌های آزمایشگاهی در نمودار ۲ نشان می‌دهد که میانگین عرض پرز در روده بیشتر از معده می‌باشد. عرض پرز در معده و روده در گروه‌های کنترل، اول و دوم فاقد اختلاف آماری معنی‌داری بوده است (جدول ۱).

**عمق کریپت:** نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از بررسی تاثیر نانو استایرن بر عمق کریپت (میکرومتر) معده و روده موش‌های آزمایشگاهی در نمودار ۳ نشان می‌دهد که میانگین عمق کریپت در روده بیشتر از معده می‌باشد. عمق کریپت در معده و روده در گروه‌های کنترل، اول و دوم فاقد اختلاف آماری معنی‌داری بوده است (جدول ۲).

**طول اپیتلیوم:** نتایج آنالیز واریانس داده‌های حاصل از بررسی تاثیر نانو استایرن بر طول اپیتلیوم (میکرومتر) معده و روده موش‌های آزمایشگاهی در نمودار ۴ نشان می‌دهد که میانگین طول اپیتلیوم در روده بیشتر از معده می‌باشد. طول اپیتلیوم در روده بین گروه‌های کنترل و اول و همچنین بین گروه‌های کنترل و دوم اختلاف آماری معنی‌داری وجود نداشته است. در گروه ۲ طول اپیتلیوم کاهش یافته است، لذا گروه‌های اول و دوم از بیشترین و کمترین میانگین طول اپیتلیوم به ترتیب برخوردار بوده‌اند. در بافت معده، میانگین طول اپیتلیوم در گروه‌های کنترل، اول و دوم اختلاف آماری معنی‌داری موجود نبوده است (جدول ۲).

**قطر زیرمخاط:** نتایج آنالیز واریانس داده‌های حاصل از بررسی تاثیر نانو استایرن بر قطر زیرمخاط (میکرومتر) معده و روده موش‌های آزمایشگاهی در

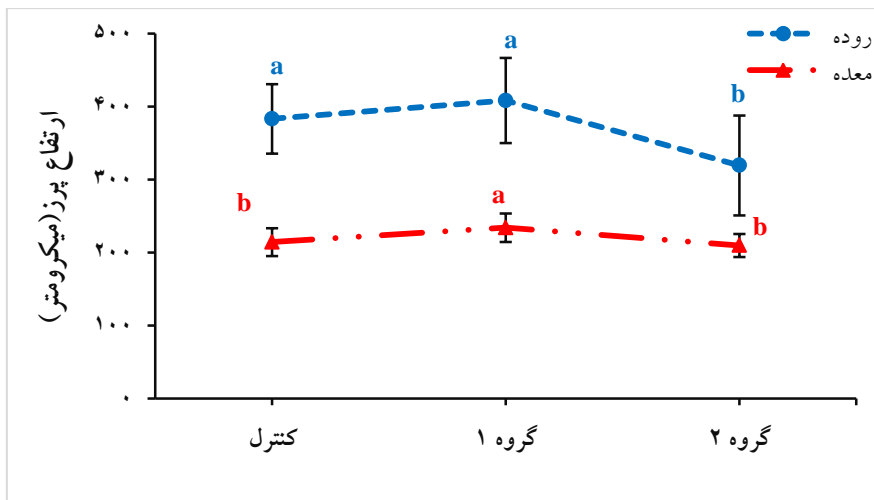
برخوردار بوده‌اند (جدول ۴).

**بافت روده در موش‌های تحت تیمار با نانو استایرن:**

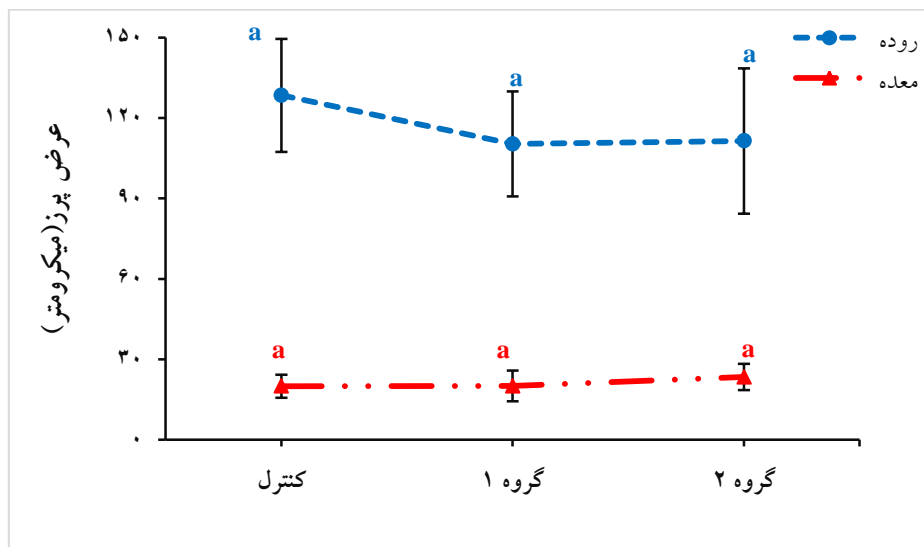
شکل ۱، آنالیز بافت روده را نشان می‌دهد. در گروه کنترل شرایط بافتی نرمال است. در گروه دریافت‌کننده دوز ۰/۱ میلی‌گرم در روز نانو استایرن در مقایسه با گروه کنترل اینفیلتریشن سلول‌های آماسی را نشان می‌دهد. همچنین گروه دریافت‌کننده دوز ۰/۵ میلی‌گرم در روز نانو استایرن در مقایسه با گروه کنترل تخریب اپیتلیوم پوششی و نفوذ (اینفیلتراسیون) سلول‌های آماسی را نشان می‌دهد (جدول ۵).

**بافت معده در موش‌های تحت تیمار با نانو استایرن:**

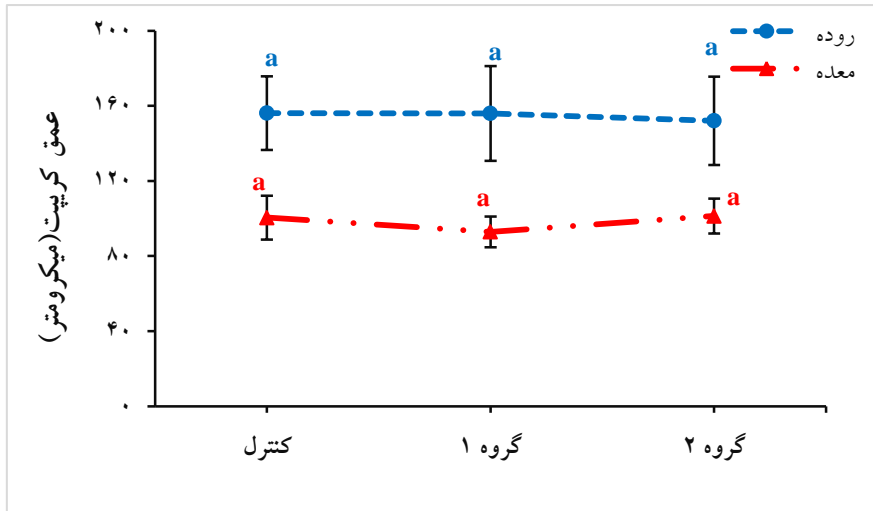
بررسی بافت معده در شکل ۲ نشان‌دهنده شرایط نرمال بافتی در گروه کنترل است. گروه دریافت‌کننده دوز ۰/۱ میلی‌گرم در روز نانو استایرن در مقایسه با گروه کنترل افزایش سلول‌های آماسی را نشان می‌دهد. ( $p < 0/05$ ) گروه دریافت‌کننده دوز ۰/۵ میلی‌گرم در روز نانو استایرن در مقایسه با گروه کنترل افزایش سلول‌های آماسی را نشان می‌دهد ( $p < 0/01$ ) (جدول ۶).



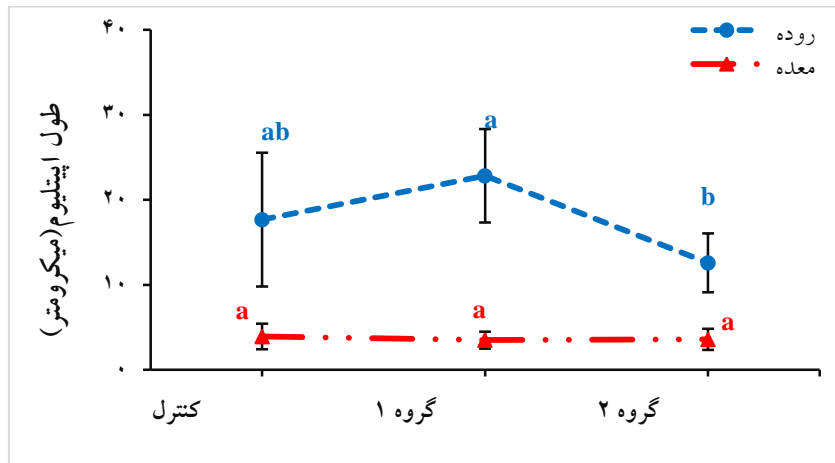
نمودار ۱- بررسی تاثیر نانو استایرن بر ارتفاع پرز معده و روده موش‌های آزمایشگاهی



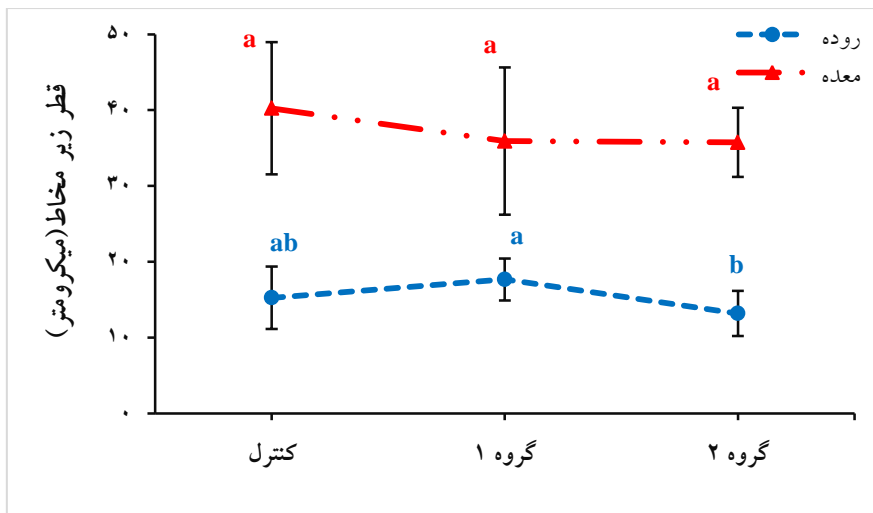
نمودار ۲- بررسی تاثیر نانو استایرن بر عرض پرز معده و روده موش‌های آزمایشگاهی



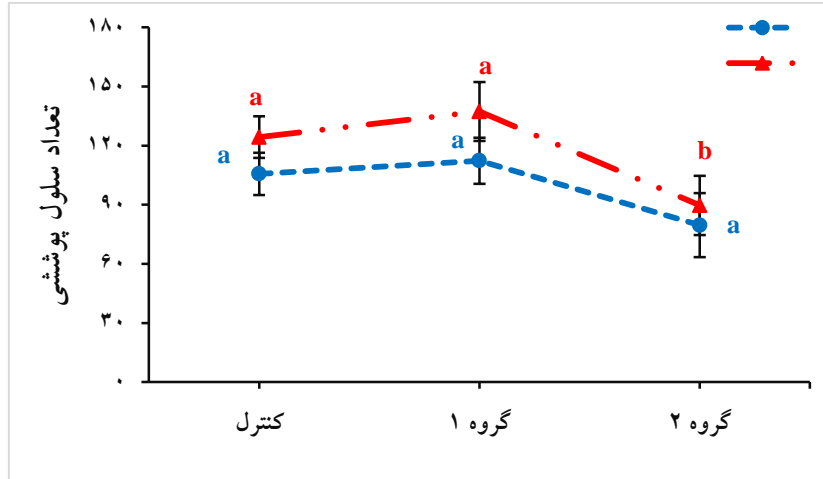
نمودار ۳- بررسی تاثیر نانو استایرن بر عمق کریپت معده و روده موش‌های آزمایشگاهی



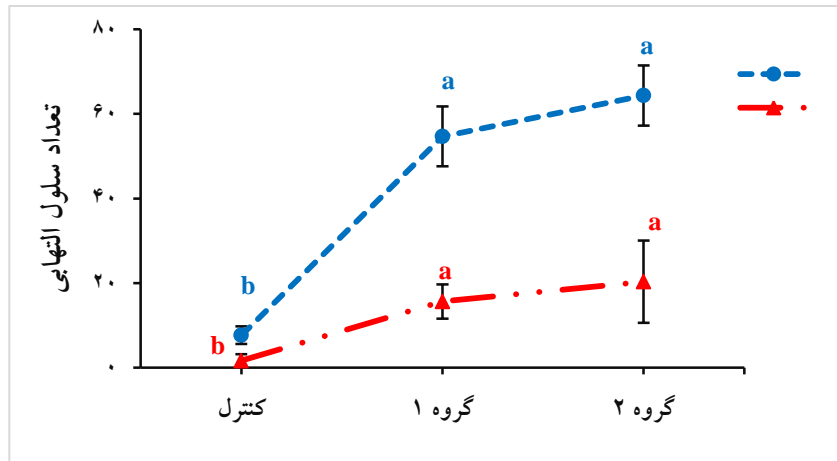
نمودار ۴- بررسی تاثیر نانو استایرن بر طول اپیتلیوم معده و روده موش‌های آزمایشگاهی



نمودار ۵- بررسی تاثیر نانو استایرن بر قطر زیر مخاط معده و روده موش‌های آزمایشگاهی



نمودار ۶- بررسی تاثیر نانو استایرن بر تعداد سلول پوششی معده و روده موش‌های آزمایشگاهی



نمودار ۷- بررسی تاثیر نانو استایرن بر تعداد سلول التهابی معده و روده موش‌های آزمایشگاهی

جدول ۱- مقایسه میانگین ارتفاع پرز (میکرومتر) و عرض پرز (میکرومتر) در گروه‌های مورد آزمایش

گروه‌ها	ارتفاع پرز (میکرومتر)		عرض پرز (میکرومتر)	
	روده	معده	روده	معده
کنترل	383/08 ± 47/47 <sup>a</sup>	214/25 ± 19/01 <sup>b</sup>	128/42 ± 21/08 <sup>a</sup>	20/00 ± 4/26 <sup>a</sup>
گروه ۱	408/08 ± 58/36 <sup>a</sup>	234/00 ± 19/46 <sup>a</sup>	110/33 ± 19/58 <sup>a</sup>	20/08 ± 5/71 <sup>a</sup>
گروه ۲	319/25 ± 68/24 <sup>b</sup>	209/67 ± 15/81 <sup>b</sup>	11/42 ± 27/06 <sup>a</sup>	23/42 ± 4/92 <sup>a</sup>

\* اعداد ( انحراف معیار ± میانگین) دارای حروف مشترک در هر ستون از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند ( $p < 0/05$ ).

جدول ۲- مقایسه میانگین عمق کریپت (میکرومتر) و طول اپیتلیوم (میکرومتر) در گروه‌های مورد آزمایش

گروه‌ها	عمق کریپت (میکرومتر)		طول اپیتلیوم (میکرومتر)	
	روده	معده	روده	معده
کنترل	156/17 ± 19/64 <sup>a</sup>	100/50 ± 11/68 <sup>a</sup>	17/67 ± 7/87 <sup>ab</sup>	3/92 ± 1/50 <sup>a</sup>
گروه ۱	156/00 ± 25/20 <sup>a</sup>	92/92 ± 8/16 <sup>a</sup>	22/83 ± 5/49 <sup>a</sup>	3/50 ± 1/00 <sup>a</sup>
گروه ۲	152/08 ± 23/58 <sup>a</sup>	101/33 ± 9/23 <sup>a</sup>	12/58 ± 3/47 <sup>b</sup>	3/58 ± 1/24 <sup>a</sup>

جدول ۳- مقایسه میانگین قطر زیر مخاط (میکرومتر) و تعداد سلول پوششی در گروه‌های مورد آزمایش

گروه‌ها	قطر زیر مخاط (میکرومتر)		تعداد سلول پوششی	
	روده	معده	روده	معده
کنترل	۱۵/۲۵ ± ۴/۱۱ <sup>ab</sup>	۴۰/۲۵ ± ۸/۷۳ <sup>a</sup>	۱۰۵/۶۷ ± ۱۰/۶۹ <sup>a</sup>	۱۲۴/۳۳ ± ۱۰/۵۹ <sup>a</sup>
گروه ۱	۱۷/۶۷ ± ۲/۷۷ <sup>a</sup>	۳۵/۹۲ ± ۹/۷۱ <sup>a</sup>	۱۱۲/۳۳ ± ۱۱/۶۷ <sup>a</sup>	۱۳۷/۳۳ ± ۱۵/۰۱ <sup>a</sup>
گروه ۲	۱۳/۱۷ ± ۲/۹۸ <sup>b</sup>	۳۵/۷۵ ± ۴/۵۵ <sup>a</sup>	۷۹/۶۷ ± ۱۶/۲۸ <sup>b</sup>	۸۹/۶۷ ± ۱۵/۰۱ <sup>a</sup>

جدول ۴- مقایسه میانگین تعداد سلول التهابی در گروه‌های مورد آزمایش

گروه‌ها	تعداد سلول التهابی	
	روده	معده
کنترل	۷/۶۷ ± ۲/۰۸ <sup>b</sup>	۱/۶۷ ± ۱/۵۲ <sup>b</sup>
گروه ۱	۵۴/۶۷ ± ۷/۰۹ <sup>a</sup>	۱۵/۶۷ ± ۴/۰۴ <sup>a</sup>
گروه ۲	۶۴/۳۳ ± ۷/۰۹ <sup>a</sup>	۲۰/۳۳ ± ۹/۷۱ <sup>a</sup>

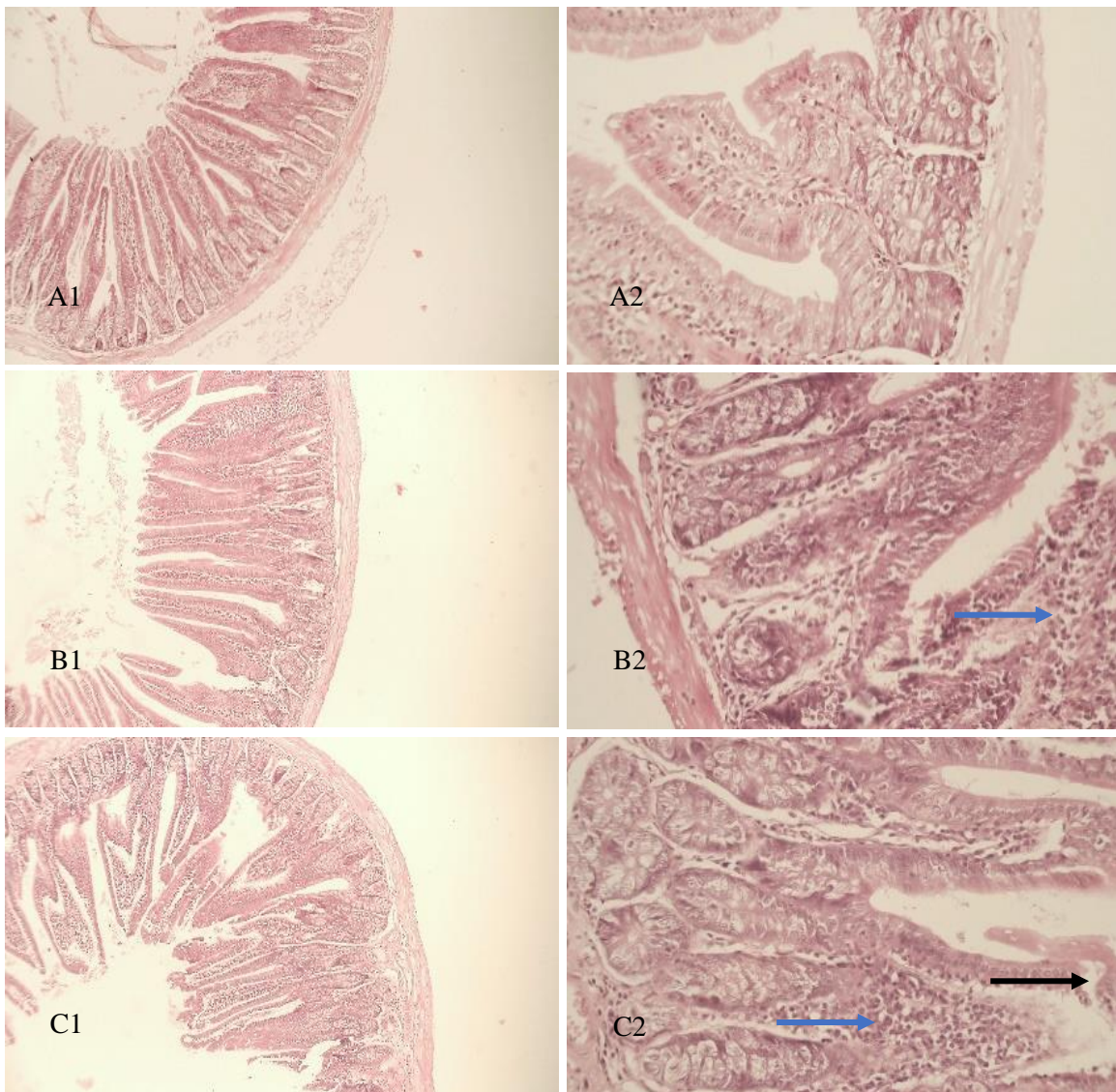
جدول ۵- بررسی بافت روده گروه‌های مورد آزمایش

گروه‌ها	نفوذ (اینفیلتراسیون) سلول‌های آماسی	تخریب اپیتلیوم پوششی
گروه کنترل	-	-
گروه تیمار ۱	+	-
گروه تیمار ۲	++	+

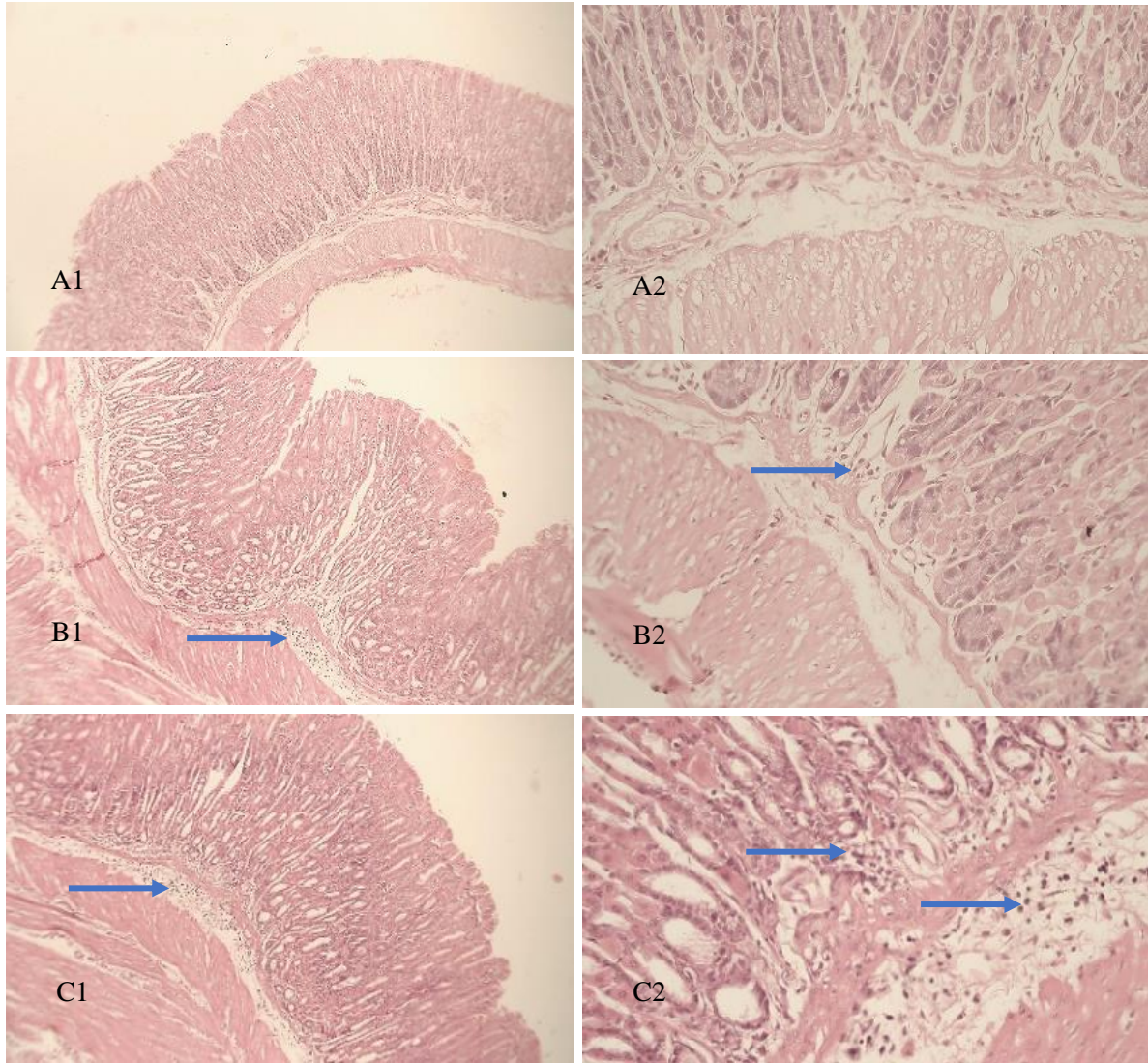
جدول ۶- بررسی بافت معده موش‌های مورد آزمایش

گروه‌ها	اینفیلتریشن سلول‌های آماسی
گروه کنترل	-
گروه تیمار ۱	+
گروه تیمار ۲	++





شکل ۱- بافت روده. A: گروه کنترل، شرایط نرمال بافتی، B: تیمار ۱، نفوذ سلول‌های آماسی، C: تیمار ۲، نفوذ سلول‌های آماسی، تخریب اپیتلیوم پوششی. بزرگنمایی 10X, 40X، رنگ آمیزی H&E.



شکل ۲- بافت معده. A: گروه کنترل، شرایط نرمال بافتی، B: بیمار ۱، نفوذ سلول‌های آماسی، C: بیمار ۲، نفوذ سلول‌های آماسی. بزرگنمایی 10X, 40X، رنگ آمیزی H&E.

### بحث

میکروپلاستیک‌ها توانایی تخریب و عبور از سد روده-ای را دارا هستند (۱۱). جین و همکارانش در سال ۲۰۲۰ نشان دادند گاوآژ پلی‌استایرن ۲، ۱۰ و ۰/۵ میکرومتری سبب تخریب سد خونی-بیضه‌ای شده و با نفوذ به سلول‌های جنسی باعث ایجاد التهاب و نکروز سلول‌ها می‌شود (۸). احتمال می‌رود ذرات پلاستیکی مورد استفاده در این مطالعه نیز سد روده‌ای را تخریب کرده و عامل ایجاد التهاب در بافت روده و معده شود که تحقیق

امروزه پلاستیک‌ها به صورت انبوه تولید می‌شوند. میکروپلاستیک‌ها به ذرات پلاستیکی کمتر از ۵ میلی-متر گفته می‌شود که تحت تاثیر عوامل محیطی و مکانیکی مانند سایش، امواج، اشعه خورشید و ... تولید می‌شوند. مطالعات انجام شده نشان می‌دهند که میکروپلاستیک‌ها می‌توانند رادیکال‌های آزاد اکسیژن تولید کرده و سبب القای استرس اکسیداتیو در جانوران شوند. مهم‌ترین اندام‌های در معرض میکروپلاستیک‌ها معده و روده هستند؛ چرا که مشخص شده

سرم حیوانات نشان داد اختلالات متابولیکی در این جانوران ایجاد شده است (۱۰).

دنگ و همکارانش در سال ۲۰۲۰ نشان دادند گاوآژ پلی‌استایرن به موش باعث کاهش DAO و افزایش نفوذپذیری روده می‌شود. DAO آنزیمی درون سلول اپیتلیوم روده پستانداران است و فعالیت آن نشان دهنده یکپارچگی مخاط روده کوچک است. نفوذپذیری روده به عنوان عملکرد اصلی روده، جایگزین مهمی برای انعکاس سلامت روده است. اختلال در عملکرد اپیتلیال روده و افزایش نفوذپذیری روده باعث قرار گرفتن در معرض جابه‌جایی باکتری-های روده شود که عامل ایجاد پاسخ‌های ایمنی و التهابی است. نفوذپذیری التهابی در روده از گروه‌های در معرض میکروپلاستیک مشاهده شده است که ممکن است به خراش یا اصطکاک دستگاه گوارش توسط میکروپلاستیک‌ها یا القای مستقیم التهاب روده توسط آنها نسبت داده شود که نتیجه فوق با مطالعه حاضر می‌تواند مطابقت داشته باشد (۳).

ژی و همکارانش در سال ۲۰۲۰ تأثیر میکروپلاستیک‌های پلی‌استایرن (micro-PS) بر روی سیستم تولیدمثل موش‌های نر را بررسی کردند. نتایج نشان داد که قرار گرفتن در معرض میکرو-PS منجر به کاهش قابل توجهی در تعداد و تحرک اسپرم و افزایش قابل توجه میزان تغییر شکل اسپرم می‌شود. آنها همچنین کاهش فعالیت آنزیم‌های مربوط به متابولیسم اسپرم، دهیدروژناز سوکسینات (SDH) و دهیدروژناز لاکتات (LDH) و کاهش میزان تستوسترون سرم را در گروه قرار گرفته در معرض میکروپلاستیک PS مشاهده نمودند. قرار گرفتن در معرض میکروپلاستیک PS باعث استرس اکسیداتیو شده و مسیرهای JNK و p38 MAPK را فعال می‌کند. علاوه بر این، هنگامی که N استیل سیستینین ROS را تخلیه می‌کند و هنگامی که مهار کننده

فوق با نتایج حاصل از این پژوهش کاملاً همخوانی دارد.

مطالعه عامره و همکارانش در سال ۲۰۲۰ گزارش اولین ارزیابی در گونه‌های جونندگان (موش) از تأثیر قرار گرفتن در معرض نانوپلاستیک PS بکر در اختلالات غدد درون ریز با مکانیسم‌های خاص قابل تحمل برای سمیت پلاستیک‌های نانو (میکرو) در پستانداران است. پس از قرار گرفتن در معرض PS NP، ضایعات بافت شناختی جدی و نشانگرهای زیستی مایع منی در بافت بیضه مشاهده شد که با تصویربرداری فلورسانس با استفاده از PS NPs دارای برچسب فلورسانس مطابقت دارد. در واقع، تغییرات آشکار در هورمون‌های تولید مثل و الگوهای بیان ژن به دست آمده نشان‌دهنده اختلال در عملکرد سیستم غدد درون ریز است (۱).

پژوهش‌های دنگ و همکارانش در سال ۲۰۱۷ نشان داد گاوآژ دوز ۰/۱ میلی‌گرم در روز نانواستایرن باعث ایجاد التهاب در بافت کبد شده و با القای مسیرهای استرس اکسیداتیو مسیرهای پاسخ ایمنی را فعال می‌کند (۴). جین و همکارانش در سال ۲۰۱۸ خوراندن دوز ۱۰۰۰ میلی‌گرم بر لیتر میکروپلاستیک پلی‌استایرنی به مدت ۱۴ روز به گورخر ماهی تغییر معناداری در بافت روده ماهی مشاهده نشد اما در رنگ‌آمیزی AB-Pas مشخص شد سطح موکوس روده به طور چشمگیری کاهش یافت (۹). همچنین پلی‌استایرن‌های ۵ میکرومتری دست نخورده و فلورستی را طی ۶ هفته به موش‌ها خوراندند. میکروپلاستیک‌های پلی‌استایرنی در روده موش‌ها مشاهده شدند و توانستند ترشح موکوس در روده را کاهش دهند و سبب اختلال در عملکرد سد روده‌ای حیوانات شوند. سطوح شاخه‌ی میکروبیوتای روده موش‌های تحت تیمار با نانواستایرن نیز کاهش چشمگیری از خود نشان داد. همچنین بررسی‌های

### نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که اثرات نانو استایرن وابسته به غلظت می‌باشد و هرچه غلظت افزایش پیدا کند اثرات مخرب تری بر روده و معده بر جای خواهد گذاشت. در این تحقیق، گاوژ میکروپلاستیک پلی‌استایرنی در اندازه حدود ۲۰۰ نانومتر طی زمان ۳۰ روز عامل ایجاد التهاب در بافت روده و معده موش شده است. بر اساس مطالعات پیشین احتمالاً میکروپلاستیک با ایجاد التهاب و فعال کردن مسیرهای استرس اکسیداتیو سبب تخریب و آسیب‌های بافتی می‌شود. همچنین این ذرات به سبب اندازه کوچکشان می‌توانند از سد روده‌ای عبور کرده و وارد سیستم گردش خون شوند. با توجه به مصرف بالای پلاستیک‌ها در زندگی روزمره باید به عوارض و عواقب آن بر سلامت انسان و محیط زیست دقت شود.

### منابع

1. Amereh F., Babaei M., Eslami A., Fazelipour S., Rafiee, M. 2020. The emerging risk of exposure to nano (micro) plastics on endocrine disturbance and reproductive toxicity: From a hypothetical scenario to a global public health challenge. *Environmental Pollution*, 261:114158.
2. Browne M.A., Dissanayake A., Galloway T.S., Lowe D.M., Thompson R.C. 2008. Ingested microscopic plastic translocates to the circulatory system of the mussel, *Mytilus edulis* (L.). *Environmental Science and Technology*, 42(13):5026-5031.
3. Deng Y., Yan Z., Shen R. 2020. Microplastics release phthalate esters and cause aggravated adverse effects in the mouse gut. *Environment International*, 143: 105916.
4. Deng Y., Zhang Y., Lemos B., Hongqiang R. 2017. Tissue accumulation of microplastics in mice and biomarker

اختصاصی p38 MAPK باعث مهار p38MAPK می‌شود، آسیب اسپرم ناشی از میکروپلاستیک PS کاهش یافته و ترشح تستوسترون بهبود می‌یابد. در نتیجه، یافته‌ها نشان می‌دهد که میکروپلاستیک PS از طریق استرس اکسیداتیو و فعال‌سازی مسیرهای سیگنالینگ p38 MAPK باعث سمیت تولید مثل در موش‌ها می‌شود (۲۰).

ویلرت و همکارانش در سال ۱۹۹۶ نشان دادند میکروپلاستیک سبب القای استرس اکسیداتیو و پاسخ‌های التهابی و ایمنی می‌شود (۱۹).

لیو و همکارانش در سال ۲۰۲۰ برای بررسی اثرات سمیتی میکروپلاستیک بر روده از مدل تک لایه CACO-2 در شرایط *in vitro* استفاده کردند. نتایج نشان داد که روند هضم شیمیایی تغییری در ساختار میکروپلاستیک پلی‌استایرنی ایجاد نمی‌کند. همچنین میزان آسیب میکروپلاستیک ۱۰۰ نانومتری بیشتر از میکروپلاستیک ۵ میلی‌متری است (۱۲).

لو و همکارانش در سال ۲۰۱۸ نشان دادند گاوژ دوز ۱۰۰۰ میکروگرم بر لیتر میکروپلاستیک ۵ و ۵۰ میکرومتری به موش باعث کاهش ترشح موکوس در روده موش می‌شود. در حیوانات سطح لومن روده دارای یک لایه مخاط با تعداد زیادی میکروارگانیزم است و موسین ترشح شده می‌تواند از مخاط روده محافظت کرده و در برابر نفوذ باکتری‌ها مقاومت کند. تعداد زیادی از مطالعات قبلی بیان می‌کنند قرار گرفتن در معرض میکروپلاستیک‌ها باعث آسیب بافتی روده در بافت‌های مختلف موجودات آبی می‌شود (۱۳). طبق نتایج مطالعات پیشین که با مطالعه فوق نیز مطابقت دارند، میکروپلاستیک پلی‌استایرنی می‌تواند از سد روده‌ای گذشته و در کبد تجمع یابد. برای بیماران با مشکلات گوارشی به علت تغییرات ایجاد شده در نفوذپذیری بافتی ناشی التهابات، میزان انتقال میکروپلاستیک‌ها از سد روده‌ای افزایش یابد.

- metabolism disorder in mice. *Science of the Total Environment*, 631:449-458.
14. Miller R.R., Newhook R., Poole A. 1994. Styrene production, use, and human exposure. *Critical Reviews in Toxicology*, 24(sup1):S1-S10.
  15. Munier B., Bendell L.I. 2018. Macro and micro plastics sorb and desorb metals and act as a point source of trace metals to coastal ecosystems. *PLoS One*, 13(2): e0191759.
  16. Rochman C.M., Parnis J.M., Browne M.A., Serrato S., Reiner E.J., Robson M., Young T., Diamond M.L., Teh S.J. 2017. Direct and indirect effects of different types of microplastics on freshwater prey (*Corbicula fluminea*) and their predator (*Acipenser transmontanus*). *PloS One*, 12(11): e0187664.
  17. Thompson R.C., Olsen Y., Mitchell, R. P., Davis A., Rowland S.J., John A.W., McGonigle D., Russell A.E. 2004. Lost at Sea: Where is All the Plastic. *Science*, 304(5672):838.
  18. Waite H.R., Donnelly M.J., Walters L.J. 2018. Quantity and types of microplastics in the organic tissues of the eastern oyster *Crassostrea virginica* and Atlantic mud crab *Panopeus herbstii* from a Florida estuary. *Marine Pollution Bulletin*, 129(1):179-185.
  19. Willert H.G., Semlitsch M., Peltier L.F. 1996. Tissue reactions to plastic and metallic wear products of joint endoprostheses. *Clinical Orthopaedics and Related Research*, 333:4-14.
  20. Xie X., Deng T., Duan J., Xie J., Yuan J., Chen M. 2020. Exposure to polystyrene microplastics causes reproductive toxicity through oxidative stress and activation of the p38 MAPK signaling pathway. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 190:110133.
  5. Deng Y., Zhang Y., Qiao R., Bonilla M.M., Yang X., Ren H., Lemos B. 2018. Evidence that microplastics aggravate the toxicity of organophosphorus flame retardants in mice (*Mus musculus*). *Journal of Hazardous Materials*, 357:348-354.
  6. Derek R, Vogel W, Mitchell A. 2020. *Gray's anatomy book, 1:325-327*.
  7. <https://blog.faradars.org/>
  8. Jin H., Ma T., Sha X., Liu Z., Zhou Y., Meng X., Chen Y., Han X., Ding J. 2020. Polystyrene microplastics induced male reproductive toxicity in mice. *Journal of Hazardous Materials*, 401:123430.
  9. Jin Y., Xia J., Pan Z. Wang W., Fu Z. 2018. Polystyrene microplastics induce microbiota dysbiosis and inflammation in the gut of adult zebrafish. *Environmental Pollution*, 235:322-329.
  10. Jin Y., Lu L., Tu, W., Luo T., Fu Z. 2019. Impacts of polystyrene microplastic on the gut barrier, microbiota and metabolism of mice. *Science of the Total Environment*, 649:308-317.
  11. Kishipou A., Mostafaloo R., Arast Y. 2020. Micro-plastics as a new challenge in water resource management; various forms and removal methods, (A review study). *Journal of Research in Environmental Health*, 6(1):34-44.
  12. Liu S., Wu X., Gu W. Yu J., Wu B. 2020. Influence of the digestive process on intestinal toxicity of polystyrene microplastics as determined by in vitro Caco-2 models. *Chemosphere*, 2020: 127204.
  13. Lu L., Wan Z., Luo T. Fu Z., Jin Y. 2018. Polystyrene microplastics induce gut microbiota dysbiosis and hepatic lipid

## The Study of Histology and Histometry Changes in the Stomach and Intestine of Male Mice Consuming Nano-Styrene Microplastics

Mohammad Reza Ghafarimanesh<sup>1</sup>, Esmail Fattahi<sup>1\*</sup>, Fereshteh Mir  
Mohammadrezaei<sup>2</sup>, Sima Mashayekh<sup>1</sup>

1- Department of Biology, Ayatolla Amoli Branch, Islamic Azad University, Amol, Iran  
2-Animal Biology Department, Faculty of Basic Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

### Abstract

Today, microplastics are among the most important environmental pollutants that have attracted the attention of scientists. These plastic particles enter the food chain by being swallowed by animals and cause serious damage to humans and animals. The purpose of this research is to investigate the effect of polystyrene microplastics on the digestive system of mammals. The rats were divided into 3 groups of 6; the sham group received 200 microliters of distilled water once a day for 30 days. The first group received 200 microliters of nano-styrene once a day with a dose of 0.1mg/kg for 30 days. The second group received 200 microliters of nano-styrene once a day. He received a dose of 0.5 mg/kg for 30 days. The day after the last gavage, the animal was anesthetized with chloroform, and the intestinal and stomach samples were stained for histological examination in 10% buffered formalin solution with hematoxylin-eosin staining method. TUKEY test was used for statistical analysis and comparison between groups. All the calculations were done using Prism software and the significance level of the tests P was considered less than 0.05. The statistical findings show a decrease in the diameter of the submucosa, the number of lining cells, and the number of epithelial cells in the experimental group 2 compared to the control group. The height of the intestinal villi and The stomach showed an increase in experimental group 2 compared to the sham group. The results of this study show that the effects of nano-styrene depend on the concentration and as the concentration increases, it will leave more destructive effects on the intestines and stomach.

**Keywords:** Microplastic, Nano-styrene, Histology, Stomach, Intestine.