

بررسی اثرات محافظتی عصاره‌ی سبوس برنج بر تغییرات بافت‌شناسی روده کوچک در مواجهه با میکروپلاستیک پلی‌استایرن در موش سفید کوچک آزمایشگاهی

حجت عنبر^۱، ابوالفضل متولی^۲، جمیله سالار آملی^۳

مقاله پژوهشی

چکیده

مقدمه: میکروپلاستیک‌ها آلاینده‌های نوظهور و گسترده‌ای هستند و می‌توانند از موانع تغذیه‌ای عبور کرده و در بافت‌های مختلف بدن تجمع یابند. اثرات بافت‌شناسی میکروپلاستیک پلی‌استایرن بر بافت روده کوچک نامشخص است. مطالعه‌ی حاضر به‌منظور ارزیابی کارایی عصاره‌ی سبوس برنج در برابر سمیت روده‌ای ناشی از میکروپلاستیک پلی‌استایرن انجام شد.

روش‌ها: در این مطالعه‌ی تجربی، ۲۰ سر موش سفید کوچک آزمایشگاهی نر بالغ نژاد NMRI به‌صورت تصادفی به چهار گروه پنج سر تقسیم شدند. دو گروه از موش‌ها میکروپلاستیک پلی‌استایرن را به‌میزان ۱ میلی‌گرم به‌ازای هر کیلوگرم وزن بدن به‌صورت خوراکی از طریق گاوژ به مدت ۴۰ روز دریافت کردند. به یک گروه از گروه‌های فوق، عصاره‌ی سبوس برنج به میزان ۱ گرم بر کیلوگرم به‌صورت خوراکی از طریق گاوژ تجویز گردید. گروه کنترل با دریافت ۰/۱ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به‌صورت خوراکی از طریق گاوژ و گروهی که تنها عصاره‌ی سبوس برنج را دریافت می‌کرد نیز در نظر گرفته شد. ۲۴ ساعت پس از آخرین درمان حیوانات توسط مخلوط کتامین و زایلازین آسان‌کشی و نمونه‌های بافتی روده‌ی کوچک جهت انجام ارزیابی‌های بافتی و اکسیدانی جمع‌آوری گردید.

یافته‌ها: در بررسی‌های هیستومورفولوژی و هیستومورفومتری روده کوچک، دریافت پلی‌استایرن موجب تأثیرات مخرب در ساختار هیستومورفولوژیک و کاهش معنی‌دار پارامترهای هیستومورفومتری و میزان سوپراکسید دیسموتاز بافتی نسبت به گروه کنترل شد ($P < 0.05$). همچنین دریافت پلی‌استایرن موجب افزایش معنی‌داری در میزان آپوپتوز سلولی نسبت به گروه کنترل گردید ($P < 0.05$). تجویز عصاره‌ی سبوس برنج به شکل قابل توجهی تغییرات مشاهده شده در پارامترهای مذکور را بهبود بخشید.

نتیجه‌گیری: به‌نظر می‌رسد عصاره‌ی سبوس برنج می‌تواند موجب کاهش اثرات منفی هیستومورفولوژی، هیستومورفومتری و پارامترهای اکسیدانی شده و میزان آپوپتوز ناشی از پلی‌استایرن را در روده کوچک کاهش دهد.

واژگان کلیدی: پلی‌استایرن؛ روده کوچک؛ عصاره‌ی سبوس برنج؛ آپوپتوز

ارجاع: عنبر حجت، متولی ابوالفضل، سالار آملی جمیله. بررسی اثرات محافظتی عصاره‌ی سبوس برنج بر تغییرات بافت‌شناسی روده کوچک در مواجهه با میکروپلاستیک پلی‌استایرن در موش سفید کوچک آزمایشگاهی. مجله دانشکده پزشکی اصفهان ۱۴۰۴؛ ۴۳ (۸۲۴): ۸۶۷-۸۷۹.

مقدمه

آبی از جمله دریاها، رودخانه‌ها، بطری‌های آب‌معدنی، آب تصفیه شده و حتی کوه‌های یخی قطبی حضور دارند و تحت اشعه‌ی ماوراء بنفش، تجزیه زیستی و نور، قطر این مواد در محیط به ۵ میکرومتر یا کمتر می‌رسد که به آنها میکروپلاستیک (MPs) اطلاق می‌شود (۳). به‌طور کلی ۵۸ درصد از پلاستیک‌های تولید شده در جهان وارد محیط زیست می‌شوند (۳). این ذرات توسط موجودات مختلف آب شیرین از جمله پلانکتون‌ها، ماهی‌ها، پرندگان و حتی پستانداران جذب و سپس وارد

ما در عصر پلاستیک زندگی می‌کنیم و امروزه مصرف آنها به یکی از معضلات محیط زیستی و بهداشت عمومی تبدیل شده است (۱). به‌طوری‌که پلاستیک تولید شده در سال ۲۰۱۸، به میزان ۳۶۰ میلیون تن گزارش شده است که این مقدار در حال افزایش است (۲). استفاده‌ی گسترده از پلاستیک اثرات نامطلوب گسترده‌ای بر روی آبزیان، حیوانات خشکی‌زی و بدن انسان دارد. امروزه، پلاستیک‌ها در تمام محیط‌های

۱- دکترای تخصصی بافت‌شناسی مقایسه‌ای، گروه علوم پایه، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد سم‌شناسی، گروه علوم زیستی مقایسه‌ای، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

۳- استاد سم‌شناسی، گروه علوم زیستی مقایسه‌ای، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

نویسنده‌ی مسؤؤل: جمیله سالار آملی؛ استاد سم‌شناسی، گروه علوم زیستی مقایسه‌ای، دانشکده‌ی دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

برنج بر روی پارامترهای هیستومورفولوژی، هیستومورفومتری و یوشیمیایی بافت روده کوچک در موش‌های سفید کوچک آزمایشگاهی دریافت‌کننده‌ی میکروپلاستیک پلی‌استایرن به‌عنوان جایگزین انسانی تیمار شده طی یک دوره ۴۰ روزه که تا به‌حال مورد بررسی قرار نگرفته است، می‌باشد.

روش‌ها

برای انجام این پژوهش که به‌صورت یک کارآزمایی تجربی تصادفی شده شاهددار طرح‌ریزی شده بود، ۲۰ سر موش سفید کوچک آزمایشگاهی نر بالغ از نژاد NMRI با وزن ۲۵-۲۰ گرم از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه گردید. حیوانات در شرایط استاندارد ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی با دمای 25 ± 2 سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 50 ± 10 درصد در قفس‌های پلی‌اتیلنی مخصوص نگهداری موش با دسترسی آزاد به آب آشامیدنی نگهداری شدند. تمامی حیوانات به‌صورت برابر از پلت‌های مخصوص موش تغذیه شده و کلیه‌ی ضوابط و شرایط نگهداری و انجام آزمایش‌ها روی حیوانات در این مطالعه طبق دستورالعمل‌های مصوب کمیته‌ی اخلاق (IR.UT.VETMED.REC.1403.007) دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه تهران صورت پذیرفت. قبل از شروع دوره‌ی تیمار، به‌منظور سازگاری با شرایط جدید محیط، حیوانات به‌مدت دو هفته نگهداری شده و بعد از نشان‌دار کردن، موش‌های نر به مدت ۴۰ روز متوالی میکروپلاستیک پلی‌استایرن (78452-10ML-F) از شرکت سیگما-آلدیج را به‌صورت خوراکی از طریق گاوآذ دریافت کردند.

گروه‌بندی حیوانات:

۲۰ سر موش سفید کوچک آزمایشگاهی نر بالغ به‌صورت تصادفی به چهار گروه ۵ تایی به‌ترتیب زیر تقسیم شدند. گروه (کنترل): حیوانات این گروه به مقدار $0/1$ میلی‌لیتر سرم فیزیولوژی به صورت خوراکی از طریق گاوآذ روزانه دریافت نمودند. گروه (RBE): حیوانات این گروه عصاره سبوس برنج به میزان ۱ گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت خوراکی از طریق گاوآذ روزانه دریافت نمودند. گروه (PS-MPs): حیوانات این گروه میکروپلاستیک با پایه پلی‌استایرن با میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت خوراکی از طریق گاوآذ روزانه دریافت نمودند. گروه (PS-MPs+RBE): حیوانات این گروه میکروپلاستیک با پایه پلی‌استایرن به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن همراه با عصاره‌ی سبوس برنج به میزان ۱ گرم بر کیلوگرم وزن بدن به صورت خوراکی از طریق گاوآذ روزانه دریافت نمودند. میکروپلاستیک بر پایه‌ی پلی‌استایرن و عصاره‌ی سبوس برنج در

چرخه غذایی سایر موجودات می‌شوند (۴). این مواد از طریق هوا، آب، خاک، تماس با پوست و غذا وارد بدن سایر پستانداران و انسان می‌شوند (۴). مکانیسم تصفیه‌ی آب قادر به حذف کامل میکروپلاستیک‌ها نیست و این مواد در مخازن تصفیه ذخیره و سپس مقادیر زیادی از این ذرات وارد آب آشامیدنی می‌شوند (۵). میکروپلاستیک پلی‌استایرن (PS-MPs) یکی از پرکاربردترین میکروپلاستیک‌ها است که در تمام محصولات پلاستیکی یکبار مصرف و محصولات بسته‌بندی یافت شده و باعث افزایش قابل توجه پارامترهای استرس اکسیداتیو در روده می‌شود (۶). این مواد می‌توانند در ماهیچه‌ها تجمع کنند و در برخی موارد باعث ایجاد تغییرات بافتی گسترده در اندام‌های داخلی به‌خصوص در مورد پرزهای روده شوند که شامل آسیب شدید به اپیتلیوم استوانه‌ای، از بین رفتن گرانولوسیت‌های ائوزینوفیل و التهاب در روده می‌شود (۷). برنج از جمله محصولات کشاورزی تولید شده در کشور می‌باشد که سرشار از ریبولوین، نیاسین، فسفر، آهن، پتاسیم و کربوهیدرات است. سبوس برنج در حدود ۱۰ درصد از وزن دانه برنج را تشکیل داده و از لحاظ تغذیه‌ای غنی از موادی نظیر پروتئین، چربی، فیبر خام، ویتامین‌ها و مواد معدنی نظیر تیامین، نیاسین، آلومینوم، کلر، آهن، منیزیم، فسفر، پتاسیم، سیلیسیوم، سدیم و روی می‌باشد. علاوه بر آن منبع غنی از ویتامین E بوده و یکی از قوی‌ترین آنتی‌اکسیدان‌ها است (۸، ۹). عصاره‌ی سبوس برنج (RBE) به‌دلیل دارا بودن مواد مغذی و آنتی‌اکسیدانی می‌تواند در ترمیم التهاب و آسیب‌های بافتی ناشی از میکروپلاستیک پلی‌استایرن مؤثر باشد و نیز به‌دلیل بالا بودن مقادیر فیبر موجود در آن می‌تواند حرکت دستگاه گوارش را تسریع و ویسکوزیته مخاط را کاهش می‌دهد (۸، ۹). روده، به عنوان اولین سد دفاعی بدن در برابر مواد خارجی، مستقیماً در معرض تماس با میکروپلاستیک‌های موجود در غذا و آب قرار دارد. بنابراین، انجام مطالعات جامع برای بررسی تأثیرات این ذرات بر سلامت روده و شناسایی مکانیسم‌های آسیب‌رسانی آن‌ها، از اهمیت بالایی برخوردار است. همچنین با توجه به نفوذ گسترده میکروپلاستیک‌ها در محیط‌زیست و زنجیره‌ی غذایی، مطالعه‌ی دقیق تأثیرات این ذرات بر برفلت روده انسان، برای درک بهتر ریسک‌های سلامتی ناشی از آلودگی پلاستیکی و توسعه‌ی استراتژی‌های مؤثر جهت پیشگیری و درمان آنها، ضروری است (۱۰، ۱۱). از آنجایی که سایر میکروپلاستیک‌ها همانند پلی‌پروپیلن و پلی‌اتیلن توانسته‌اند با افزایش رادیکال‌های آزاد موجب تغییراتی در دستگاه‌های مختلف بدن شوند و همچنین گزارش‌های اخیر که اثبات نموده‌اند پلی‌استایرن موجب آسیب‌های بافتی و ایجاد فرایند آپوپتوز در بافت‌های مختلف بدن شده است (۱۲، ۱۳)؛ احتمالاً پلی‌استایرن بتواند موجب تغییراتی در ساختار بافتی و عملکردی در روده کوچک در موش گردد. لذا هدف از این مطالعه، بررسی اثرات محافظتی عصاره‌ی سبوس

به دوربین (Dino_Lite Microscope, AnMo Dino_Lite) جهت انجام پارامترهای هیستومورفومتریک برای هر موش، ۵۰ و در مجموع ۴۵۰ عدد پرز و کریپ برای هر یک از قسمت‌های مختلف روده کوچک در هر گروه شمارش گردید. رنگ‌آمیزی آلسین بلو (Alcian blue) جهت تشخیص سلول‌های جامی شکل و مشخص نمودن مواد کربوهیدرات در سیتوپلاسم سلول‌ها استفاده شد (۱۶).

فعالیت سوپراکسید دیسموتاز (SOD (Superoxide dismutase) از طریق کیت بیوشیمیایی (Nasdox™, Superoxide Dismutase Activity Assay Kit) مورد سنجش قرار گرفت. برای این منظور برای لیز نمونه‌های بافتی از بافر (Lysing Buffer) رقیق شده، استفاده شد و به ازای ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت نمونه، ۵۰۰ میکرولیتر از بافر را اضافه و توسط هموژنایزر هموژن شد. سپس نمونه مورد نظر را در ۱۲۰۰۰ دور به مدت پنج دقیقه در دمای چهار درجه‌ی سانتی‌گراد سانتریفیوژ و از مایع رویی به عنوان نمونه استفاده شد. برای انجام کار به ترتیب موارد اشاره شده در کیت به چاهک‌های پلیت ۹۶ خانه اضافه شد. پس از پنج دقیقه انکوباسیون در دمای اتاق و به دور از نور، جذب نوری نمونه‌ها را در طول موج ۴۰۵ نانومتر توسط دستگاه میکروپلیت ریدر قرائت و به عنوان OD نمونه در فرمول زیر محاسبه شد: $SOD\ activity\ (U/ml\ or\ mg\ protein) = OD\ TEST / OD\ CONTROL \times 200$ (۱۲).

ارزیابی میزان آپوپتوز سلولی با تکنیک TUNEL:

به منظور ارزیابی میزان آپوپتوز در سلول‌های مربوط به قسمت‌های مختلف روده کوچک از روش رنگ‌آمیزی تشخیصی تانل (TUNEL) و بر اساس دستورالعمل سازنده کیت (In situ Direct DNA Fragmentation (TUNEL) Assay Kit, Abcam, Germany) استفاده شد. در این روش، هسته‌ی سلول‌های آپوپتوتیک شده با رنگ سبز روشن قابل تشخیص بوده و در ادامه با استفاده از میکروسکوپ فلورسنت مشخص شدند. ضریب آپوپتوزی به صورت تعداد سلول‌های تانل مثبت به ازای هر ۱۰۰ سلول در قسمت‌های مختلف روده کوچک شامل دندونوم، ژئوزنوم و ایلئوم توسط نرم‌افزار Fiji-ImageJ 1.52v تعریف و محاسبه گردید (۱۲).

با توجه به کمی و پیوسته بودن داده‌ها، تعداد گروه‌های مستقل مورد ارزیابی قرار گرفت و نیز متعاقب اطمینان از نرمال بودن توزیع داده‌ها توسط آزمون Kolmogorov-Smirnov، ارزیابی آماری داده‌های این مطالعه با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه‌ی ۱۹ (version 19, SPSS Inc., Chicago, IL) انجام پذیرفت و تمامی نتایج بر اساس میانگین \pm انحراف معیار بیان گردید. جهت مقایسه‌ی بین گروه‌ها آنالیز واریانس یک‌طرفه و به دنبال آن تست‌های مقایسه‌ی

همه گروه‌ها به روش خوراکی از طریق گاواژ و به مدت ۴۰ روز و هر ۲۴ ساعت تجویز شد. میزان و دوزهای انتخاب شده برای پلی استایرن و عصاره‌ی سبوس برنج بر اساس مطالعات و پژوهش‌های جدیدی که به تازگی چاپ گردیده بود، برگزیده شد (۹، ۱۲).

نمونه برداری:

یک روز پس از پایان دوره تیمار ۴۰ روزه، موش‌ها دوباره توسط ترازی دقیق آزمایشگاهی در حد میلی‌گرم توزین شده و کلیه حیوانات موجود در چهار گروه ذکر شده با مخلوط کامین و زایلانین (۰/۱ میلی‌لیتر زایلانین، ۱ میلی‌لیتر کامین و ۸/۹ میلی‌لیتر آب مقطر) با دوز ۰/۱ میلی‌لیتر به ازای هر ۱۰ گرم وزن بدن بیهوش و آسان‌کشی شدند. سپس تحت شرایط استریل، محوطه شکمی باز و نمونه‌های بافتی مربوط به قسمت‌های مختلف روده کوچک شامل دندونوم، ژئوزنوم و ایلئوم به دقت جداسازی و پس از شستشو با سرم فیزیولوژی برای کارهای هیستومورفولوژی، هیستومورفومتري و بیوشیمیایی در نظر گرفته شد.

بررسی‌های هیستومورفولوژی، هیستومورفومتري و بیوشیمیایی:

پس از پایان دوره تیمار اقدام به نمونه برداری از موش‌ها شد که به این منظور بعد از آسان‌کشی موش‌ها و بازکردن محوطه شکمی تحت شرایط استریل، قسمت‌های مختلف روده کوچک شامل دندونوم، ژئوزنوم و ایلئوم جداسازی شد. قسمت‌های مختلف روده کوچک با سرم فیزیولوژی مورد شستشوی کامل قرار گرفته و به صورت مساوی (هر کدام از قسمت‌های مختلف روده کوچک ۱۰ قطعه بافتی شد) توزیع گردید. در ادامه قسمتی از نمونه‌های توزیع شده به منظور برش‌های پارافینی در داخل محلول ثبوتی فرمالین ۱۰ درصد بافری (۵ قطعه‌ی بافتی) قرار داده شد و قسمتی دیگر به منظور بررسی‌های بیوشیمیایی در داخل ازت مایع (۵ قطعه بافتی) قرار گرفت. بلوک پارافینی و برش بافت با ضخامت ۵-۷ میکرومتر تهیه گردید. برای مطالعات هیستولوژی شامل هیستومورفولوژی و هیستومورفومتري از رنگ‌آمیزی معمولی هماتوکسیلین-ائوزین استفاده شد. مطالعات هیستومورفولوژی شامل بررسی پیوستگی ساختار بافتی از نظر ظاهری، پراکندگی، از هم پاشیدگی و حالات غیرنرمال هیستوپاتولوژیکی بود (۱۴، ۱۵).

مطالعات هیستومورفومتري نیز شامل میانگین طول پرزها، میانگین عرض پرزها، میانگین عمق کریپت‌ها، میانگین نسبت طول پرزها بر عمق کریپت‌ها، میانگین ضخامت لایه ماهیچه‌ای، میانگین پراکندگی سلول‌های جامی شکل در هر پرز، میانگین پراکندگی سلول‌های غیرجامی شکل در هر پرز و درصد سلول‌های جامی شکل در قسمت‌های مختلف روده کوچک شامل دندونوم، ژئوزنوم و ایلئوم بوده و توسط میکروسکوپ نوری، دوربین دیجیتال و نرم افزار مربوط

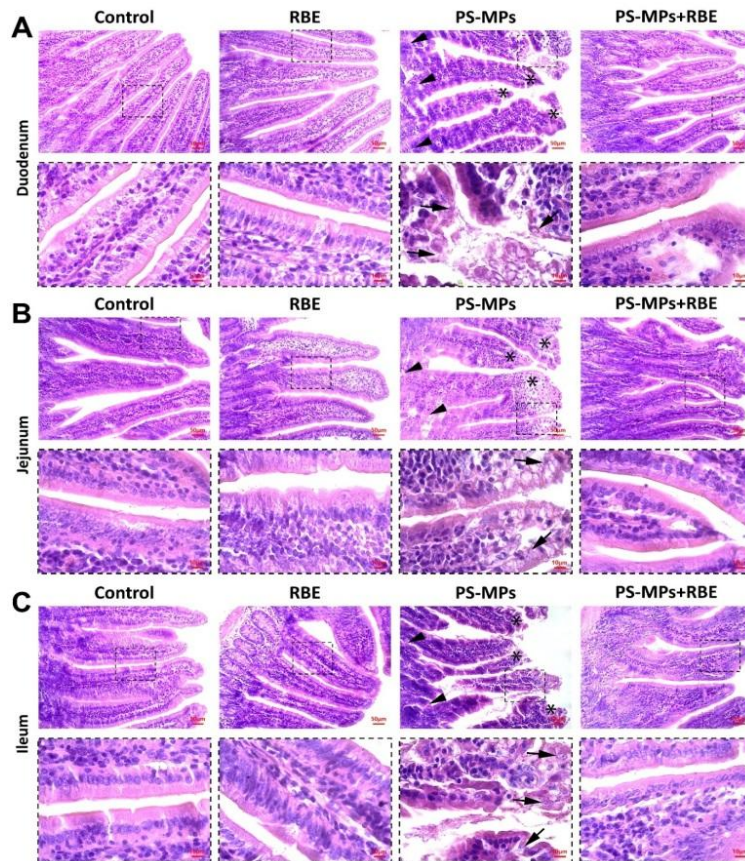
گروه دریافت‌کننده‌ی پلی استایرن دچار تحلیل شده و تخریب سلول‌های اپی تلیوم سطح مخاط و کاهش جمعیت سلولی در این قسمت‌ها مشاهده شد. همچنین التهاب و ادم در قسمت‌ها و لایه‌های مختلف بافتی روده کوچک در موش‌های دریافت‌کننده‌ی پلی استایرن در بررسی‌های هیستومورفولوژی مشاهده شد که شامل افزایش تراکم سلول‌های التهابی بود. این شاخص‌ها نشان‌دهنده‌ی پاسخ التهابی در بافت دئودنوم، ژنژونوم و ایلئوم روده کوچک در گروه دریافت‌کننده‌ی پلی استایرن نسبت به گروه کنترل و دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی سبوس برنج بود. در مقبل دریافت عصاره‌ی سبوس برنج موجب کاهش اثرات مخرب پلی استایرن در پارامترهای هیستومورفولوژی اشاره شده در گروه دریافت‌کننده‌ی پلی استایرن به همراه عصاره‌ی سبوس برنج گردید (شکل ۱، رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-انوزین).

چندگانه Tukey مورد استفاده قرار گرفت. مقدار $P < 0/05$ برای تعیین سطح معنی‌داری مابین گروه‌ها در نظر گرفته شد.

یافته‌ها

بررسی‌های هیستومورفولوژی:

مشاهدات هیستومورفولوژی نشان داد که دریافت میکروپلاستیک پلی استایرن موجب کاهش بارزی در تعداد، ارتفاع و عرض پرزها در قسمت‌های مختلف روده‌ی کوچک نسبت به گروه کنترل و دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی سبوس برنج شده است. پلی استایرن موجب بروز نشانه‌هایی از تخریب بافت طبیعی روده کوچک از جمله ازهم‌گسستگی و بهم‌ریختگی سلول‌ها در ناحیه‌ی مخاط و زیر مخاط دئودنوم، ژنژونوم و ایلئوم نسبت به گروه کنترل گردید. به‌طوری‌که قسمت رأسی پرزها در

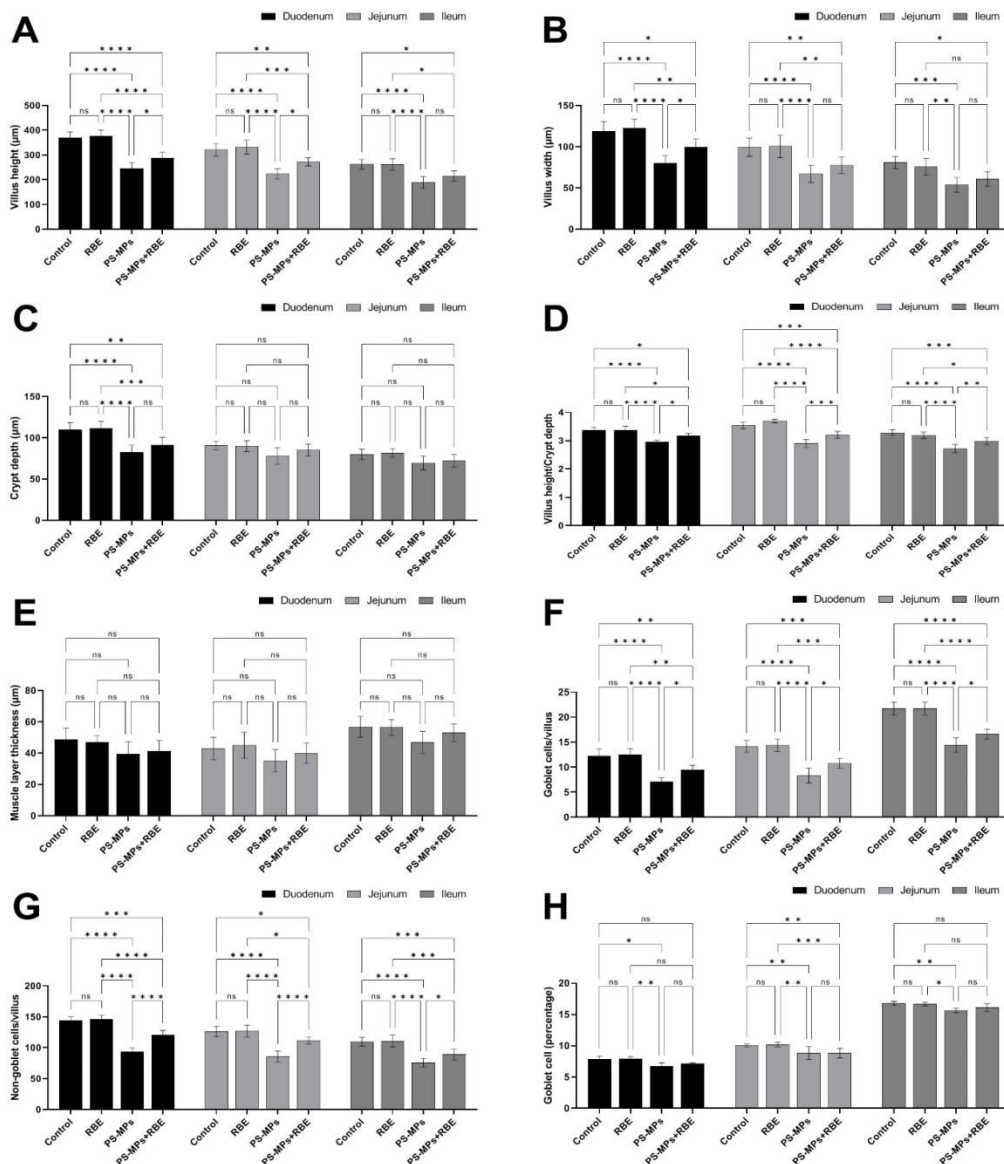


شکل ۱: برش عرضی از قسمت‌های مختلف روده کوچک شامل بافت دئودنوم، ژنژونوم و ایلئوم در گروه‌های مورد مطالعه مربوط به رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-انوزین. در بافت دئودنوم، ژنژونوم و ایلئوم موش‌هایی که پلی استایرن دریافت کرده بودند، تخریب و کاهش بارزی در تعداد و ارتفاع پرزها (ستاره‌ها) و نیز تخریب بافتی مخاط و زیر مخاط این قسمت‌ها شامل تحلیل قسمت رأسی و آسیب سلول‌های اپیتلیوم سطح مخاط پرزهای روده‌ای (پیکان‌ها)، التهاب و ادم (سر پیکان‌ها) در مقایسه با گروه کنترل و دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی سبوس برنج مشاهده شد. در مقابل در گروه دریافت‌کننده‌ی پلی استایرن به‌همراه عصاره‌ی سبوس برنج این علائم مخرب هیستومورفولوژیکی کاهش یافته بود. Control: کنترل، RBE: عصاره‌ی سبوس برنج، PS-MPs: میکروپلاستیک پلی استایرن، Duodenum: دئودنوم، Jejunum: ژنژونوم، Ileum: ایلئوم.

بررسی‌های هیستومورفومتری:

پرزها در گروه دریافت‌کننده‌ی پلی استایرن به همراه عصاره‌ی سبوس برنج نسبت به گروه پلی استایرن دارای افزایش معنی‌داری ($P < 0/05$) بود (شکل ۲ قسمت A, B). میانگین عمق کریپت‌ها در گروه دریافت‌کننده‌ی پلی استایرن نسبت به گروه کنترل و گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی سبوس برنج، تنها در قسمت دئودنوم روده کوچک دارای کاهش معنی‌داری ($P < 0/05$) بود.

بررسی هیستومورفومتری بافت روده کوچک مابین گروه‌های آزمایشی نشان داد که میانگین طول و عرض پرزها در گروه دریافت‌کننده‌ی پلی استایرن در هر سه قسمت روده کوچک نسبت به گروه کنترل و گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی سبوس برنج دارای کاهش معنی‌داری ($P < 0/05$) بود. در مقابل میانگین طول و عرض



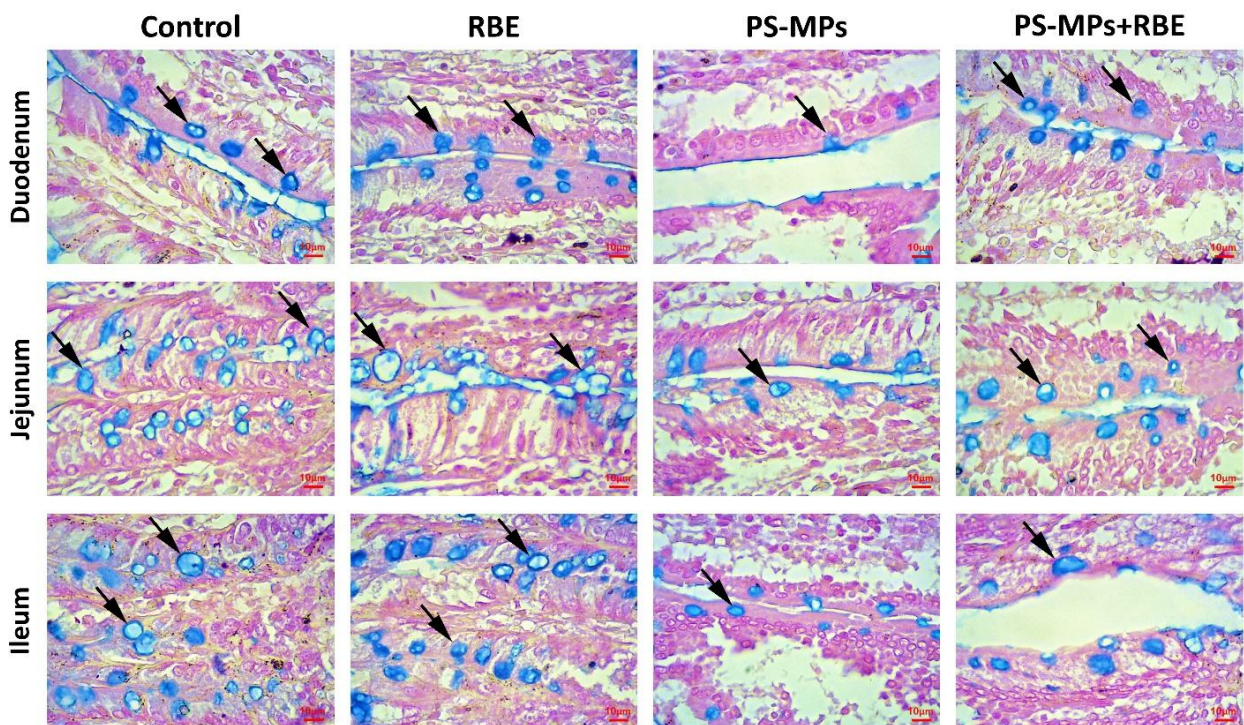
شکل ۲: مقایسه‌ی میانگین پارامترهای هیستومورفومتری در قسمت‌های مختلف روده کوچک شامل دئودنوم، ژئوژنوم و ایلئوم در گروه‌های مختلف آزمایشی. میانگین طول پرزها (A)، میانگین عرض پرزها (B)، میانگین عمق کریپت‌ها (C)، میانگین نسبت طول پرزها بر عمق کریپت‌ها (D)، میانگین ضخامت لایه‌ی ماهیچه‌ای (E)، میانگین پراکندگی سلول‌های جامی شکل در هر پرز (F)، میانگین پراکندگی سلول‌های غیرجامی شکل در هر پرز (G) و درصد سلول‌های جامی شکل (H) داده‌ها براساس میانگین \pm انحراف معیار بیان شده‌اند. در نمودارها علائم یک ستاره (*) نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار در سطح ($P < 0/05$), دو ستاره (**) در سطح ($P < 0/01$), سه ستاره (***) در سطح ($P < 0/001$) و چهار ستاره (****) در سطح ($P < 0/0001$) بوده و ns نشان‌دهنده‌ی عدم وجود اختلاف معنی‌دار است. Control: کنترل، RBE: عصاره‌ی سبوس برنج، PS-MPs: میکروپلاستیک پلی استایرن، Duodenum: دئودنوم، Jejunum: ژئوژنوم، Ileum: ایلئوم، μ m: میکرومتر.

دریافت‌کننده‌ی پلی استایرن به همراه عصاره‌ی سبوس برنج نسبت به گروه پلی استایرن دارای افزایش معنی‌داری ($P < 0/05$) در پراکندگی سلول‌های جامی شکل و غیرجامی شکل در هر پرز بود (شکل ۲ قسمت F, G و شکل ۳). در نهایت در پارامتر درصد سلول‌های جامی شکل، درصد این سلول‌ها در گروه دریافت‌کننده‌ی پلی استایرن در تمامی قسمت‌های روده کوچک نسبت به گروه کنترل و گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی سبوس برنج دارای کاهش معنی‌دار ($P < 0/05$) بود (شکل ۲ قسمت H و شکل ۳).

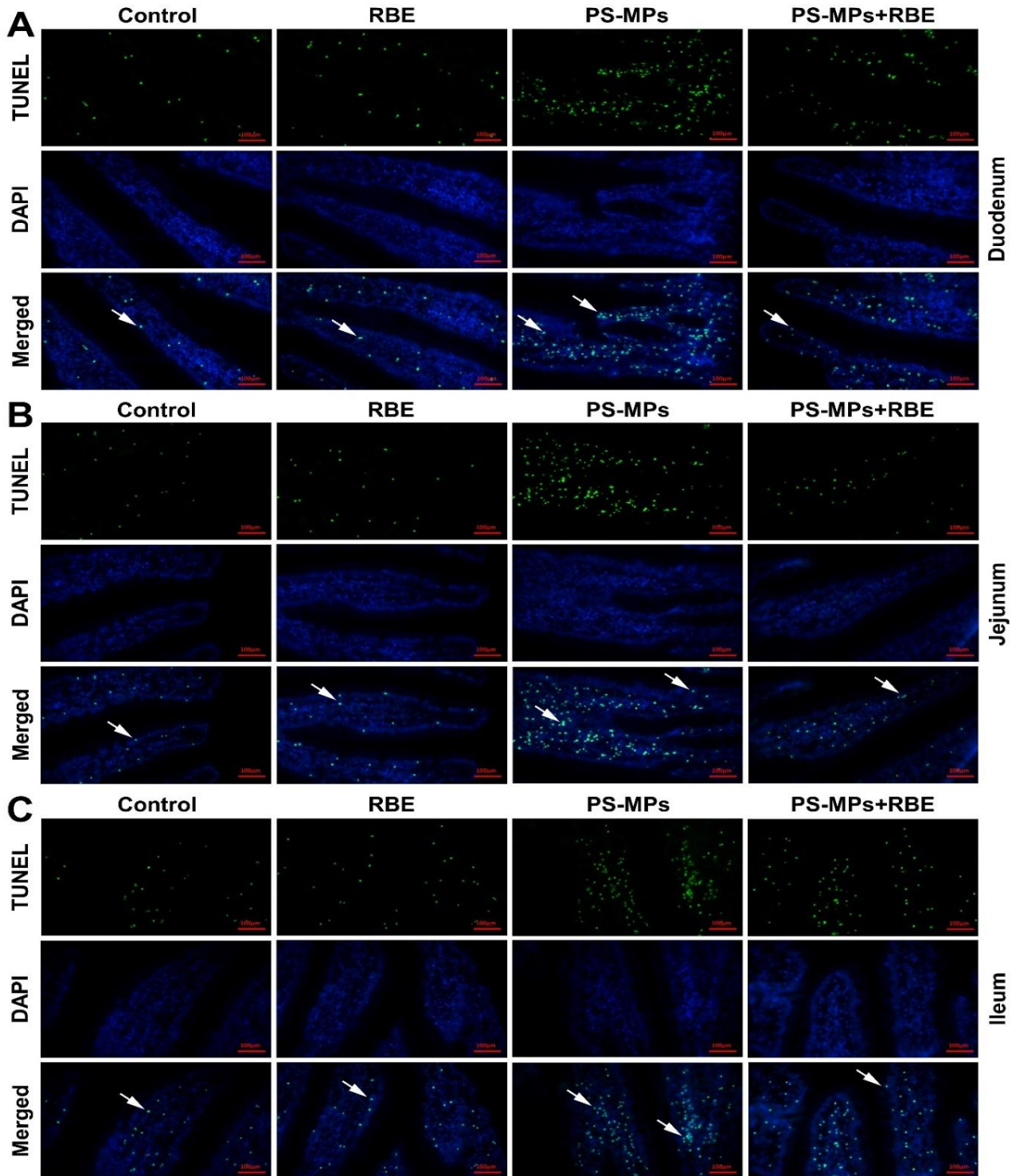
ارزیابی میزان آپوپتوز سلولی با تکنیک TUNEL:

این بررسی نشان داد که دریافت پلی استایرن موجب افزایش معنی‌داری ($P < 0/05$) در وقوع فرایند آپوپتوز سلولی در تمامی قسمت‌های روده کوچک در مقایسه با گروه‌های کنترل و گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی سبوس برنج گردیده است. همچنین در گروه دریافت‌کننده‌ی پلی استایرن به همراه عصاره‌ی سبوس برنج میزان آپوپتوز سلولی دارای کاهش معنی‌داری ($P < 0/05$) در مقایسه با گروه پلی استایرن بود (شکل ۴ و شکل ۵ قسمت A).

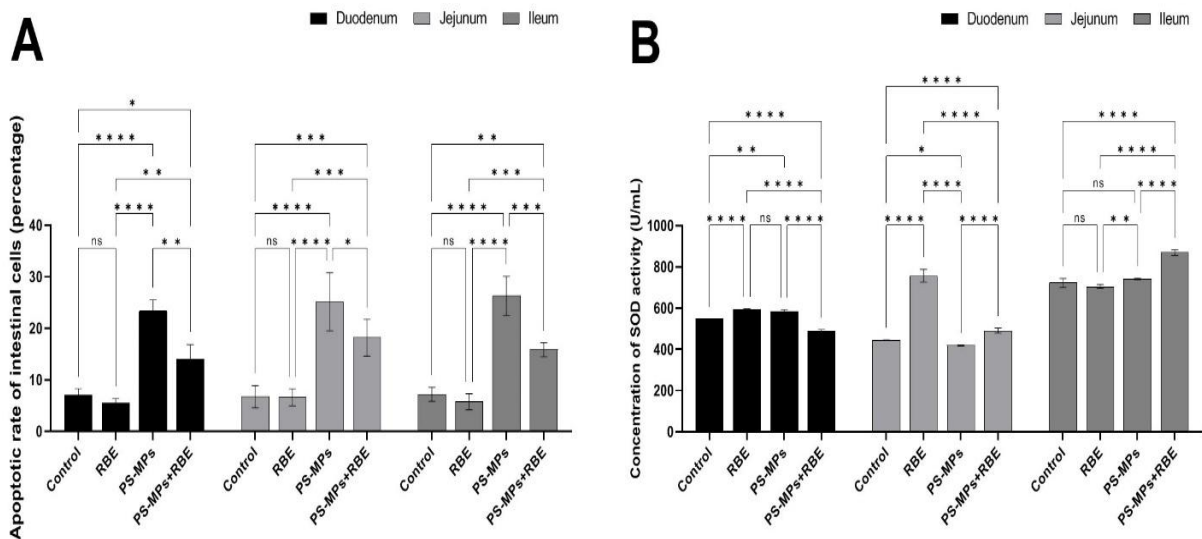
همچنین گروه دریافت‌کننده‌ی پلی استایرن به همراه عصاره‌ی سبوس برنج نسبت به گروه پلی استایرن دارای اختلاف معنی‌داری ($P > 0/05$) نبود (شکل ۲ قسمت C). میانگین نسبت طول پرزها بر عمق کریپت‌ها در تمام قسمت‌های روده کوچک در گروه دریافت‌کننده‌ی پلی استایرن نسبت به گروه کنترل و گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی سبوس برنج کاهش معنی‌داری ($P < 0/05$) را از خود نشان داد. در این میان گروه دریافت‌کننده‌ی پلی استایرن به همراه عصاره‌ی سبوس برنج نسبت به گروه پلی استایرن دارای افزایش معنی‌داری ($P < 0/05$) در نسبت طول پرزها بر عمق کریپت‌ها بود (شکل ۲ قسمت D). میانگین ضخامت لایه‌ی ماهیچه‌ای در قسمت‌های مختلف روده کوچک مابین تمامی گروه‌های آزمایشی فاقد اختلاف معنی‌دار ($P > 0/05$) بود (شکل ۲ قسمت E). میانگین پراکندگی سلول‌های جامی شکل و غیرجامی شکل در هر پرز در گروه دریافت‌کننده‌ی پلی استایرن نسبت به گروه کنترل و گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی سبوس برنج دارای کاهش معنی‌داری ($P < 0/05$) در تمام قسمت‌های روده کوچک بود. همچنین گروه



شکل ۳: برش عرضی از قسمت‌های مختلف روده کوچک شامل بافت دندونوم، ژنوزنوم و ایلنوم در گروه‌های مورد مطالعه مربوط به رنگ‌آمیزی آلسین بلو. گروه‌های کنترل و دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی سبوس برنج شاهد مقادیر مواد کربوهیدرات طبیعی و واکنش مثبت آلسین بلو (پیکان‌ها) بودند. در مقابل در گروه دریافت‌کننده‌ی پلی استایرن کاهش در میزان کربوهیدرات‌ها و دانه‌های مثبت آلسین بلو در بافت روده کوچک و سلول‌های جامی شکل مشهود بود. گروه پلی استایرن به همراه عصاره‌ی سبوس برنج دارای مقادیر بیشتری از کربوهیدرات‌ها و دانه‌های مثبت آلسین بلو نسبت به گروه پلی استایرن بود. Control: کنترل، RBE: عصاره سبوس برنج، PS-MPs: میکروپلاستیک پلی استایرن، Duodenum: دندونوم، Jejunum: ژنوزنوم، Ileum: ایلنوم.



شکل ۴: برش عرضی از قسمت‌های مختلف روده کوچک شامل بافت دئودنوم، ژئوژنوم و ایلئوم در گروه‌های مورد مطالعه مربوط به رنگ آمیزی تانل. گروه‌های کنترل و دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی سبوس برنج در بافت دئودنوم، ژئوژنوم و ایلئوم دارای مقادیر طبیعی از سلول‌های آپوپتوز شده (پیکان‌ها) بودند. در مقابل گروه پلی‌استایرن در قیاس با کنترل و دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی سبوس برنج در بافت دئودنوم، ژئوژنوم و ایلئوم افزایش محسوسی در میزان سلول‌های دچار آپوپتوز بود. در این میان دریافت عصاره‌ی سبوس برنج موجب کاهش میزان سلول‌های آپوپتوز شده در گروه پلی‌استایرن همراه با عصاره‌ی سبوس برنج نسبت به گروه پلی‌استایرن شد. Control: کنترل، RBE: عصاره‌ی سبوس برنج، PS-MPs: میکروپلاستیک پلی‌استایرن، Duodenum: دئودنوم، Jejunum: ژئوژنوم، Ileum: ایلئوم.



شکل ۴: مقایسه‌ی میزان آپوپتوز سلولی و سوپراکسید دیسموتاز بافتی و در قسمت‌های مختلف روده کوچک شامل دئودنوم، ژنژونوم و ایلیوم در گروه‌های مورد مطالعه. میانگین فرایند آپوپتوز سلولی (A) و سوپراکسید دیسموتاز بافتی (B). داده‌ها بر اساس میانگین \pm انحراف معیار بیان شده‌اند. در نمودارها علائم یک ستاره (*) نشان‌دهنده‌ی اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0/05$ ، دو ستاره (**) در سطح $P < 0/01$ ، سه ستاره (***) در سطح $P < 0/001$ و چهار ستاره (****) در سطح $P < 0/0001$ بوده و ns نشان‌دهنده‌ی عدم وجود اختلاف معنادار است. Control: کنترل، RBE: عصاره‌ی سبوس برنج، PS-MPs: میکروپلاستیک پلی‌استایرن، Duodenum: دئودنوم، Jejunum: ژنژونوم، Ileum: ایلیوم، U/mL: واحد بین‌المللی بر میلی‌لیتر.

دیسموتاز در بافت روده کوچک در مواجهه با پلی‌استایرن شده است که این نتایج با مطالعات قبلی مطابقت داشت (۱۱، ۱۷).

با فراگیر شدن میکروپلاستیک‌ها در اکوسیستم‌ها، درک پیامدهای آلاینده‌های زیست‌محیطی بر سلامتی به‌طور فزاینده‌ای ضروری است. در میان این آلاینده‌ها، میکروپلاستیک‌های پلی‌استایرن به دلیل استفاده گسترده و ماندگاری آن‌ها در محیط، نگران‌کننده هستند. در این مطالعه اثرات میکروپلاستیک‌های پلی‌استایرن را بر ساختار بافت روده موش مورد بررسی قرار گرفته است. میکروپلاستیک‌ها در محیط‌های مختلف یافت می‌شوند و تهدید قابل توجهی برای آبزیان و پستانداران خشکی‌زی از جمله انسان به شمار می‌روند. هنگامی که میکروپلاستیک‌ها بلعیده می‌شود در دستگاه گوارش تجمع می‌یابند و منجر به آسیب بالقوه بافتی و تغییر میکروبیوتای روده می‌شوند. مطالعات نشان داده‌اند که پلی‌استایرن می‌تواند باعث ایجاد دیس‌بیوز شود و به طور قابل توجهی بر ترکیب میکروبی روده و عملکرد کلی تأثیر بگذارد (۳، ۱۱، ۱۲). میکروپلاستیک‌ها با بافت‌های روده تعامل می‌کنند و اثرات پاتولوژیک آن‌ها را تشدید می‌کنند و نگرانی‌هایی را در مورد نقش آن‌ها در اختلالات روده ایجاد می‌کنند (۳، ۱۲).

اهمیت ایجاد و توسعه‌ی راهکارهایی جهت مدیریت و کاهش گسترش میکروپلاستیک‌ها در مواد غذایی و محیط زیست و متعاقباً کاهش اثرات منفی آن‌ها بر ارگان‌سیستم‌های حیاتی مانند روده کوچک

بررسی‌های بیوشیمیایی:

سنجش میزان سوپراکسید دیسموتاز SOD.

سنجش میزان سوپراکسید دیسموتاز بافتی در گروه‌های مختلف نشان داد که سطح این فاکتور اکسیدانی در گروه دریافت پلی‌استایرن دارای کاهش معنی‌داری ($P < 0/05$) در قسمت ژنژونوم روده کوچک در مقایسه با گروه‌های کنترل و گروه دریافت‌کننده‌ی عصاره‌ی سبوس برنج بود. همچنین میزان سوپراکسید دیسموتاز بافتی در گروه دریافت‌کننده‌ی پلی‌استایرن به همراه عصاره‌ی سبوس برنج نسبت به گروه پلی‌استایرن دارای افزایش معنی‌دار ($P < 0/05$) بود (شکل ۵ قسمت B).

بحث

در این مطالعه، تجویز عصاره‌ی سبوس برنج، موجب بهبود آسیب‌های هیستومورفولوژیکی و هیستومورفومتریکی در مقایسه با موش‌های دریافت‌کننده‌ی پلی‌استایرن شد. تایج حاصل از این مطالعه نشان داد که افزایش معنی‌داری در میزان وقوع آپوپتوز سلولی در گروه‌هایی که پلی‌استایرن دریافت کرده بودند وجود دارد که با مطالعات پیشین در حیوانات آزمایشگاهی در رابطه با نقش پلی‌استایرن در افزایش آپوپتوز سلولی مطابقت داشت.

همچنین نتایج بررسی حاضر نشان داد که تجویز عصاره‌ی سبوس برنج باعث افزایش شاخص اکسیدانی مهمی مانند سوپراکسید

تحقیقات به ظرفیت ویتامین E برای کاهش آسیب اکسیداتیو که یکی از پیامدهای معمول مواجهه با میکروپلاستیک‌ها بر سلامت روده است، اشاره می‌نماید (۲۳). آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی حاوی ویتامین E، خواص ضدالتهابی بالقوه‌ای را نشان می‌دهند که ممکن است به بازیابی عملکرد سد روده‌ای که توسط میکروپلاستیک‌ها مختل شده است، کمک کند (۲۴).

در مطالعه‌ی Ahrendt و همکاران در سال ۲۰۱۹ در ماهی، بعد از مواجهه با میکروپلاستیک پلی‌استایرن، کاهش تعداد کریپت‌ها و ارتفاع ویلی‌های بافت روده مشاهده شد. این محققین اثرات مشاهده شده را ناشی از اثرات مکانیکی اعلام نمودند که به هر حال اهمیت نقش ترکیباتی که منجر به دفع سریع تر میکروپلاستیک‌ها از لوله گوارش می‌شوند را تأیید می‌نماید (۲۵).

تاکنون مطالعات متعددی بر نقش التهاب و استرس اکسیداتیو در مکانیسم آسیب‌های ناشی از میکروپلاستیک‌ها در غشای روده‌ها تأکید نموده‌اند. Zhou و همکاران در سال ۲۰۲۰ در مطالعه خود خطرات میکروپلاستیک‌ها برای سلامتی را شامل پاسخ‌های التهابی، اختلالات سوخت و ساز و نقص عملکرد سد روده‌ای گزارش نموده‌اند (۲۶).

Yan و همکاران در سال ۲۰۲۲ در مطالعه‌ی خود اعلام نمودند بین وجود میکروپلاستیک‌ها در مدفوع انسانی و بیماری‌های گوارشی مانند التهاب روده ارتباط مستقیمی وجود دارد (۲۷). مطالعات فوق نشان داد استرس اکسیداتیو در غشای روده‌ها متعاقب مواجهه با ذرات میکروپلاستیک در آسیب آن نقش قابل توجهی دارا می‌باشد.

Grodzicki و همکاران در سال ۲۰۲۴ نیز گزارش نمودند تجمع میکروپلاستیک‌ها در روده‌ها سبب آزاد شدن ایتروکین‌ها و شروع آبشار واکنش‌های التهابی می‌شود که به نوبه خود سبب افزایش رادیکال‌های اکسیژن و القای استرس اکسیداتیو و در نهایت وقوع فرایند آپوپتوز می‌گردد (۲۸). این استرس اکسیداتیو تولید شده توسط میکروپلاستیک‌ها با فعال شدن آپوپتوز مرتبط بوده و تحقیقات نشان داده است که میکروپلاستیک‌ها می‌توانند منجر به افزایش پراکسیداسیون لیپیدی، جهش DNA و تجمع رادیکال‌های آزاد شوند که در مجموع به آپوپتوز کمک می‌کند (۲۹).

از نظر هیستولوژی میکروپلاستیک‌ها باعث التهاب بافتی در قسمت‌های مختلف روده کوچک از جمله دوازدهه و نیز کولون می‌شوند. مطالعات نشان داده‌اند که قرار گرفتن در معرض این ذرات منجر به التهاب می‌شود که با ادم، واکوتوله شدن، کاهش عمق کریپت و نقایص مزک مشخص می‌شود، که می‌تواند عملکرد طبیعی روده را به خطر بیندازد (۳۰).

تجزیه و تحلیل هیستومورفولوژیکی اغلب تخریب‌های بافتی مانند ترک خوردن پرزها و شکافتن آنتروسیست‌ها را تحت مصرف

به‌حدی است که سازمان‌ها و کنفوانسیون‌های جهانی قانون گذار، دستورالعمل‌هایی برای مدیریت این آلاینده‌ها تدوین و به‌طور مستمر این قوانین را به‌روزرسانی می‌نمایند (۱۸).

از این رو مطالعه‌ی حاضر، فرضیه‌ی تأثیر مواجهه همزمان این آلاینده‌ها با دریافت عصاره‌ی سبوس برنج به عنوان منبع فیبر جیره را بررسی نموده است. انتخاب سبوس برنج به دلیل دارا بودن مواد مغذی از جمله ویتامین‌ها و مواد معدنی که می‌تواند در ترمیم التهاب و آسیب‌های بافتی مؤثر باشد و نیز از این نظر که بالا بودن مقادیر فیبر حرکت دستگاه گوارش را تسریع و ویسکوزیته مخاط را کاهش می‌دهد، انتخاب شده است (۱۹).

آسیب میکروپلاستیک‌ها به غشاهای گوارشی به پارامترهای متعددی از جمله لندازه، طول دوره مواجهه و مدت زمان توقف آن‌ها در غشاهای گوارش بستگی دارد. در این ارتباط گفته می‌شود ذرات میکروپلاستیک بدلیل تجمع و توقف بیشتر در پرزهای روده کوچک بیش از نانوپلاستیک‌ها منجر به آسیب غشای روده کوچک می‌شوند. برای مکانیسم جذب میکروپلاستیک‌ها از راه گوارش دو فرضیه وجود دارد فرضیه اول آن است که میکروپلاستیک‌ها توسط سلول‌های M موجود در پلاک‌های پایر از غشای روده عبور نموده و به بافت لنفونیدی موجود در لایه زیرین غشای روده‌ها منتقل می‌گردند (۲۰). فرضیه‌ی دیگر این است که میکروپلاستیک‌ها می‌توانند از طریق پاراسلولار جذب شوند به این ترتیب که قطعات غیرقابل تخریب مثل میکروپلاستیک‌ها به صورت مکانیکی از فواصل بین اپی‌تلیوم غشای روده عبور می‌نمایند و وارد بافت‌های زیرین آن می‌شوند، جایی که در آن دندروسیت‌ها قادر هستند از طریق فاگوسیتوز این ذرات را دریافت و آن‌ها را به عروق لنفونیدی تحت مخاطی و از آنجا به بافت های ثانویه مانند کبد، کلیه و سایر بافت‌ها منتقل نمایند (۲۰).

تاکنون استراتژی‌های متعددی جهت کاهش مواجهه انسان، دام و محیط‌زیست با ذرات پلاستیک انجام گرفته است این تلاش‌ها اقداماتی شامل تلاش بر کاهش تولید و یا تخریب آن‌ها قبل از ورود به ارگانسیم‌های زنده تا ممانعت از جذب آن‌ها در دستگاه گوارش موجودات را شامل می‌گردد (۱۲).

Hussein و همکاران در سال ۲۰۲۱ در بررسی‌های خود به این نتیجه رسیده‌اند، فیبرهای نامحلول می‌تواند ضمن تسریع در دفع میکروپلاستیک به تقویت فون میکروبی دستگاه گوارش کمک نموده و سبب تعدیل واکنش‌های التهابی و افزایش محافظت از غشای روده‌ای شود (۲۱).

در این مطالعه، سبوس برنج به عنوان منبع فیبر محلول و غیر محلول و یک منبع مغذی سرشار از ویتامین‌های E و B که در مقابله با اثرات استرس و التهاب مؤثر هستند انتخاب شده است (۲۲).

جذب و انتقال آنها به اندام‌های حیاتی جلوگیری می‌کند (۳۵).
عصاره‌ی سبوس برنج می‌تواند به عنوان یک درمان طبیعی برای کاهش سمیت مرتبط با میکروپلاستیک‌ها مورد استفاده قرار گیرد. عصاره‌ی سبوس برنج غنی از ترکیبات زیست فعال، از جمله آنتی‌اکسیدان‌ها و تعدیل کننده‌های ایمنی است، که با استرس اکسیداتیو و التهاب ناشی از میکروپلاستیک‌ها مقابله می‌کند. تحقیقات نشان می‌دهد که عصاره‌ی سبوس برنج می‌تواند گونه‌های فعال اکسیژن را خنثی کند و به‌طور بالقوه آسیب سلولی را کاهش دهد و از پاسخ‌های ایمنی حمایت کند (۱۹).

نشان داده شده است که ترکیباتی مانند توکوفرول‌ها و ترکیبات فنلی موجود در عصاره‌ی سبوس برنج دارای خواص آنتی‌اکسیدانی قابل توجهی هستند که ممکن است به کاهش اثرات سمی مرتبط با قرار گرفتن در معرض میکروپلاستیک کمک کند (۱۲).

با وجود پتانسیل امیدوارکننده‌ی عصاره‌ی سبوس برنج، مکانیسم‌های دقیقی که توسط آن عصاره‌ی سبوس برنج با میکروپلاستیک‌ها برهم‌کنش می‌کند ناشناخته است، که نیاز به تحقیقات بیشتر برای ایجاد نتایج قطعی در مورد قابلیت‌های حفاظتی آن دارد.

نتیجه‌گیری

مطالعه‌ی حاضر با هدف بررسی اثرات میکروپلاستیک پلی‌استایرن بر روده کوچک موش سفید کوچک آزمایشگاهی و نقش محافظتی عصاره‌ی سبوس برنج انجام گرفته است. در این راستا تغییرات هیستومورفولوژیکی و پارامترهای هیستومورفومتریکی و اکسیدانی و نیز میزان فرایند آپوپتوز در موش مورد بررسی قرار گرفته است. با جمع‌بندی یافته‌های مذکور، مشخص می‌شود که میکروپلاستیک پلی‌استایرن در طول یک دوره ۴۰ روزه منجر به بروز اثرات مخربی در سیستم گوارشی می‌شود. افزایش تولید رادیکال‌های آزاد، ایجاد تنش‌های اکسیداتیو و ضعف سیستم آنتی‌اکسیدانی بدن، منجر به اختلالات مختلف در پارامترهای هیستومورفولوژیکی و هیستومورفومتریکی در موش‌های دریافت‌کننده‌ی میکروپلاستیک پلی‌استایرن شده و تحت تأثیر استرس اکسیداتیو باعث افزایش فرایند آپوپتوز سلولی در بافت روده کوچک شود. علاوه بر این، مشخص گردید که دریافت عصاره‌ی سبوس برنج می‌تواند موجب تعدیل اثرات مخرب بافتی اشاره شده در قسمت‌های مختلف روده کوچک گردد. با این وجود، تأیید مضرات و توکسیک بودن میکروپلاستیک پلی‌استایرن و همچنین نقش محافظتی عصاره‌ی سبوس برنج در سایر بخش‌های دستگاه گوارشی، نیازمند طرح‌ریزی، مطالعات تجربی گسترده‌تر و نیز کارآزمایی‌های بالینی می‌باشد. این مطالعات می‌توانند به‌وضوح تاثیرات مصرف پلی‌استایرن و عصاره‌ی سبوس برنج بر

میکروپلاستیک‌ها که نشان‌دهنده‌ی یک روند التهابی مداوم است، نشان می‌دهد (۳۰).

مطلبی نتایج مطالعه‌ی حاضر، قرار گرفتن در معرض میکروپلاستیک‌ها بر یکپارچگی روده تأثیر منفی می‌گذارد و عملکرد سد اپیتلیومی روده را مختل می‌کند. این اختلال با تغییرات در هیستومورفولوژی و نفوذپذیری سلول‌های اپیتلیال مرتبط است و التهاب بافت روده را تشدید می‌کند که به نوبه خود باعث بروز فرایند آپوپتوز در بافت روده کوچک خواهد شد (۳۱).

این مطالعه نشان داد که میکروپلاستیک پلی‌استایرن تأثیر قابل توجهی بر هیستومورفومتری روده کوچک موش‌ها دارد و باعث کاهش طول و عرض پرزهای روده‌ای، اختلال در یکپارچگی پرزها، کاهش میزان سلول‌های سطح پرزها و کاهش عمق کریپت می‌شوند. علاوه بر این، قرار گرفتن در معرض پلی‌استایرن منجر به کاهش نسبت طول پرز به عمق کریپت شد. این یافته‌ها با مطالعات قبلی مطابقت دارد که میکروپلاستیک پلی‌استایرن باعث تأثیرات منفی بر هیستومورفولوژی و نیز کاهش طول و عرض پرزها و کریپت‌های روده‌ای و نسبت طول پرز به عمق کریپت در هر سه قسمت روده کوچک در موش‌های مصرف‌کننده‌ی پلی‌استایرن به مدت ۲۸ روز شد (۱۷).

تغییرات در ساختار کریپت ممکن است تولید سلول‌های بالغ از پایه کریپت را کاهش دهد که منجر به کاهش ترشح موکوس و در نتیجه کاهش ظرفیت جذب شود. اختلال در ساختار کریپت منجر به کاهش ترشح موکوس توسط سلول‌های جامی شکل می‌شود که نقش محافظتی برای روده ایفا می‌کنند. این عملکرد ضعیف باعث می‌شود باکتری‌های بیماری‌زا راحت‌تر به اپیتلیوم روده نفوذ کنند و موجب آسیب بافتی در روده کوچک شوند که با نتایج مطالعه‌ی حاضر هم‌خوانی داشت (۳۲). به‌طور مشابه، کاهش نسبت ارتفاع پرز به عمق کریپت نشان‌دهنده ساختار مورفولوژیکی ناقص روده است. علاوه بر این، آسیب و کاهش سلول‌های اپیتلیال روده کوچک و اختلال در بلوغ می‌تواند بیشتر ستنز و ترشح آنزیم‌های گوارشی را مختل کند، در نتیجه ظرفیت جذب را تضعیف می‌کند (۳۳). این مشاهدات شواهدی ارلنه می‌دهند که میکروپلاستیک پلی‌استایرن ساختار روده را مختل می‌کند، ظرفیت جذب را کاهش می‌دهند و مکانیسم‌های دفاعی را به خطر می‌اندازند که منجر به اختلال عملکرد گوارشی و تضعیف عملکردهای دفاعی در روده کوچک موش می‌شود (۳۴).

مطالعات اخیر در مورد اجرای رژیم غذایی مانند آنتی‌اکسیدان‌ها نتایج امیدوارکننده‌ای را در کاهش پاسخ استرس اکسیداتیو ناشی از میکروپلاستیک‌ها در موجودات دریایی مانند ماهی نشان داده است. این آنتی‌اکسیدان‌ها نه تنها آسیب اکسیداتیو را کاهش می‌دهند، بلکه باعث انعقاد میکروپلاستیک‌ها در دستگاه گوارش می‌شوند و از

می باشد که در دانشگاه تهران با شماره‌ی ۷۵۱۴۰۰۰۱۵ به تصویب رسیده و با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشکده‌ی دامپزشکی دانشگاه تهران به انجام رسیده است. بدین وسیله از زحمات مرکز تحقیقات سلامت مواد بیولوژیک، غذا و دارو دانشگاه تهران تقدیر و تشکر می‌شود.

سلامت دستگاه گوارشی و ارتباط آن با آسیب‌های سلولی و بافتی را با اطمینان تام‌تری تحت پوشش قرار دهند.

تشکر و قدردانی

این مقاله منتج از پایان‌نامه مقطع کارشناسی ارشد رشته‌ی سم‌شناسی

References

- Napper IE, Thompson RC. Plastic Debris in the Marine Environment: History and Future Challenges. *Global Challenges* 2020; 4(6): 1900081.
- Zhang C, Wang J, Zhou A, Ye Q, Feng Y, Wang Z, et al. Species-specific effect of microplastics on fish embryos and observation of toxicity kinetics in larvae. *J Hazard Mater* 2021; 403: 123948.
- Zangene S, Morovvati H, Anbara H, Hye Khan MA, Goorani S. Polystyrene microplastics cause reproductive toxicity in male mice. *Food Chem Toxicol* 2024; 194: 115083.
- Andrady AL. The plastic in microplastics: A review. *Mar Pollut Bull* 2017; 119(1): 12-22.
- Wei W, Chen X, Peng L, Liu Y, Bao T, Ni BJ. The entering of polyethylene terephthalate microplastics into biological wastewater treatment system affects aerobic sludge digestion differently from their direct entering into sludge treatment system. *Water Res* 2021; 190: 116731.
- Qiang L, Lo LSH, Gao Y, Cheng J. Parental exposure to polystyrene microplastics at environmentally relevant concentrations has negligible transgenerational effects on zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicol Environ Saf* 2020; 206: 111382.
- Hariharan G, Purvaja R, Anandavelu I, Robin RS, Ramesh R. Accumulation and ecotoxicological risk of weathered polyethylene (wPE) microplastics on green mussel (*Perna viridis*). *Ecotoxicol Environ Saf* 2021; 208: 111765.
- Raiesi F, Razavi SH, Hojjatoleslami M, Mohammadian M. Investigation of extraction methods of rice bran in order to using in the formulation of beverages. *J Food Sci Technol* 2014; 11(42): 9-18.
- Munkong N, Lonan P, Mueangchang W, Yadyookai N, Kanjoo V, Yoysungnoen B. Red rice bran extract attenuates adipogenesis and inflammation on white adipose tissues in high-fat diet-induced obese mice. *Foods* 2022; 11(13): 1865.
- Anbara H, Sheibani MT, Razi M, Kian M. Insight into the mechanism of aspartame-induced toxicity in male reproductive system following long-term consumption in mice model. *Environ Toxicol* 2021; 36(2): 223-37.
- Zangene S, Morovvati H, Anbara H, Bernabò N. Assessment of the Toxicity of Polystyrene Microplastic in the Colon and Liver of Adult NMRI Mice. *Iranian Journal of Veterinary Medicine* 2024; 19(2): 367-76.
- Anbara H, Ghorbani M, Shahriari A. Anti-oxidant and anti-apoptotic effects of royal jelly against polystyrene microplastic-induced testicular injury in mice. *Iran J Basic Med Sci* 2024; 27(12): 1515-28.
- Fang Q, Wang C, Xiong Y. Polystyrene microplastics induce male reproductive toxicity in mice by activating spermatogonium mitochondrial oxidative stress and apoptosis. *Chem Biol Interact* 2024; 396: 111043.
- Rahmani SE, Morovvati H, Anbara H. The Effect of Long-term Exposure to Aspartame on Histomorphology, Histomorphometry, Histochemistry and Expression of Caspase-3 Gene in the Small Intestine of Mice [in Persian]. *J Isfahan Med Sch* 2023; 41(737): 884-95.
- Anbara H, Shalizar Jalali A, Shahrooz R, Razi M. Protective effect of royal jelly against phenylhydrazine-induced histological injuries of small intestine of mice: morphometric analyses [in Persian]. *Qom Univ Med Sci J* 2016; 9(11): 12-21.
- Stahl M, Tremblay S, Montero M, Vogl W, Xia L, Jacobson K, et al. The Muc2 mucin coats murine Paneth cell granules and facilitates their content release and dispersion. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2018; 315(2): G195-G205.
- Su QL, Wu J, Tan SW, Guo XY, Zou DZ, Kang K. The impact of microplastics polystyrene on the microscopic structure of mouse intestine, tight junction genes and gut microbiota. *PLoS One* 2024; 19(6): e0304686.
- Ziani K, Ionița-Mindrican CB, Mititelu M, Neacșu SM, Negrei C, Moroșan E, et al. Microplastics: A Real Global Threat for Environment and Food Safety: A State of the Art Review. *Nutrients* 2023; 15(3): 617.
- Manzoor A, Pandey VK, Dar AH, Fayaz U, Dash KK, Shams R, et al. Rice bran: Nutritional, phytochemical, and pharmacological profile and its contribution to human health promotion. *Food Chemistry Advances* 2023; 2(3): 100296.
- Liang J, Ji F, Abdullah ALB, Qin W, Zhu T, Tay YJ, et al. Micro/nano-plastics impacts in cardiovascular systems across species. *Sci Total Environ* 2024; 942: 173770.
- Hussein S, Farouk MH, Hussein A, Hailong J. The role of dietary fiber and microbiome composition to decrease the deleterious effects of nano-Plastic in monogastric animals. *J Prob Health* 2021; 9(1): 229.
- Gul K, Yousuf B, Singh AK, Singh P, Wani AA. Rice bran: Nutritional values and its emerging potential for development of functional food—A review. *Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre* 2015; 6(1): 24-30.
- Kadac-Czapska K, Oško J, Knez E, Grembecka M. Microplastics and Oxidative Stress-Current Problems and Prospects. *Antioxidants (Basel)* 2024; 13(5): 579.
- Wu Q, Luo Y, Lu H, Xie T, Hu Z, Chu Z, et al. The potential role of vitamin e and the mechanism in the

- prevention and treatment of inflammatory bowel disease. *Foods* 2024;13(6): 898.
25. Ahrendt C, Perez-Venegas DJ, Urbina M, Gonzalez C, Echeveste P, Aldana M, et al. Microplastic ingestion cause intestinal lesions in the intertidal fish *Girella laevis*. *Mar Pollut Bull* 2020; 151: 110795.
 26. Zhou Y, Wang J, Zou M, Jia Z, Zhou S, Li Y. Microplastics in soils: A review of methods, occurrence, fate, transport, ecological and environmental risks. *Sci Total Environ.* 2020; 748: 141368.
 27. Yan Z, Liu Y, Zhang T, Zhang F, Ren H, Zhang Y. Analysis of Microplastics in Human Feces Reveals a Correlation between Fecal Microplastics and Inflammatory Bowel Disease Status. *Environ Sci Technol* 2022; 56(1): 414-21.
 28. Grodzicki W, Dziendzikowska K, Gromadzka-Ostrowska J, Kruszewski M. Nanoplastic Impact on the Gut-Brain Axis: Current Knowledge and Future Directions. *Int J Mol Sci.* 2021; 22(23): 12795.
 29. Anbara H, Shahrooz R, Razi M, Malekinejad H, Najafi G, Shalizer-Jalali A. Repro-protective role of royal jelly in phenylhydrazine-induced hemolytic anemia in male mice: Histopathological, embryological, and biochemical evidence. *Environ Toxicol* 2022; 37(5): 1124-35.
 30. Sofield CE, Anderton RS, Gorecki AM. Mind over Microplastics: Exploring Microplastic-Induced Gut Disruption and Gut-Brain-Axis Consequences. *Curr Issues Mol Biol* 2024; 46(5): 4186-202.
 31. Hirt N, Body-Malapel M. Immunotoxicity and intestinal effects of nano- and microplastics: a review of the literature. *Part Fibre Toxicol* 2020; 17(1): 57.
 32. Rubin BK. Mucus and mucins. *Otolaryngol Clin North Am* 2010; 43(1): 27-34.
 33. Peterson LW, Artis D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis. *Nat Rev Immunol* 2014; 14(3): 141-53.
 34. Zhuang J, Chen Q, Xu L, Chen X. Combined exposure to polyvinyl chloride and polystyrene microplastics induces liver injury and perturbs gut microbial and serum metabolic homeostasis in mice. *Ecotoxicol Environ Saf.* 2023; 267: 115637.
 35. Zarantoniello M, Cattaneo N, Conti F, Carrino M, Cardinaletti G, Şener İ, et al. Mitigating Dietary Microplastic Accumulation and Oxidative Stress Response in European Seabass (*Dicentrarchus labrax*) Juveniles Using a Natural Microencapsulated Antioxidant. *Antioxidants (Basel)* 2024; 13(7): 812.

Investigation of the Protective Effects of Rice Bran Extract on Histological Changes in the Small Intestine of Mice Exposed to Polystyrene Microplastic

Hojat Anbara¹, Abolfazl Motevalli², Jamile Salaramoli³

Original Article

Abstract

Background: Microplastics are emerging and widespread pollutants that can pass through nutritional barriers and accumulate in various tissues of the body. However, the histological effects of polystyrene microplastics on the small intestine are unclear. This study was conducted to evaluate the efficacy of rice bran extract against intestinal toxicity caused by polystyrene microplastics.

Methods: In this experimental study, 20 male adult NMRI mice were randomly divided into four groups of five. Two groups of mice received polystyrene microplastics at a dose of 1 mg/kg, body weight orally via gavage for 40 days. One of these groups was also given rice bran extract at a dose of 1 g/kg, body weight orally via gavage. A control group received 0.1 mL of physiological saline orally by gavage and a group that received only rice bran extract were also included. Tissue samples were collected 24 hours after the last treatment for histological assessments. Twenty-four hours after the last treatment, the animals were euthanized using a ketamine and xylazine mixture, and small intestinal tissue samples were collected for histological and oxidative assessments.

Findings: Histomorphological and histomorphometric evaluations of the small intestine showed that the administration of polystyrene caused destructive effects on histomorphological structure and a significant decrease in histomorphometric parameters and tissue superoxide dismutase levels compared to the control group ($P < 0.05$). Furthermore, polystyrene exposure significantly increased the level of cellular apoptosis compared to the control group ($P < 0.05$). The administration of rice bran extract significantly improved the observed changes in the mentioned parameters.

Conclusion: It seems that rice bran extract can reduce the negative effects on histomorphology, histomorphometry, and oxidative parameters, as well as decrease the level of apoptosis induced by polystyrene in the small intestine.

Keywords: Polystyrene, Small intestine, Rice bran extract, Apoptosis

Citation: Anbara H, Motevalli A, Salaramoli J. Investigation of the Protective Effects of Rice Bran Extract on Histological Changes in the Small Intestine of Mice Exposed to Polystyrene Microplastic. J Isfahan Med Sch 2025; 43(824): 867-79.

1- PhD, Department of Comparative Histology & Embryology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

2- MSc Student, Department of Comparative Bioscience, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

3- Professor, Department of Comparative Bioscience, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

Corresponding Author: Jamile Salaramoli, Professor, Department of Comparative Bioscience, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran; Email: jsalar@ut.ac.ir