

تأثیر میکروپلاستیک پلی استایرن بر پارامترهای هیستومورفومتریک بیضه در موش نر بالغ

سمیه زنگنه^۱، حسن مروتی^{۲*} و حجت عنبر^۳

^۱ دانشجوی دکتری تخصصی بافت‌شناسی مقایسه‌ای، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

^۲ استاد گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

^۳ دانش‌آموخته دکتری تخصصی بافت‌شناسی مقایسه‌ای، گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۳/۱۷

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۲۰

چکیده

میکروپلاستیک‌ها به عنوان یک آلاینده جدید محیطی پایدار، می‌توانند از موانع تغذیه‌ای عبور و در بافت‌های مختلف بدن تجمع کنند. با این حال، اثرات بافت‌شناسی و هیستومورفومتری میکروپلاستیک پلی‌استایرن بر بافت بیضه و مکانیسم آن‌ها نامشخص است. مطالعه حاضر به منظور ارزیابی اثرات میکروپلاستیک پلی‌استایرن بر پارامترهای هیستومورفومتریک بافت بیضه در موش انجام گرفت. در این مطالعه، ۳۶ سر موش نر بالغ نژاد NMRI به چهار گروه ۹ تایی تقسیم شدند. سه گروه از موش‌ها میکروپلاستیک پلی‌استایرن را با دوزهای ۰/۰۱، ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از طریق گاوژ به مدت ۴۲ روز دریافت کردند. گروه کنترل نیز ۱ میلی‌لیتر آب مقطر را به صورت گاوژ دریافت کرد. نمونه‌های بافتی بیضه ۲۴ ساعت پس از آخرین درمان از موش‌ها جمع‌آوری و جهت بررسی‌های هیستومورفومتریک مورد استفاده قرار گرفت. مطالعه حاضر نشان داد که پلی‌استایرن موجب کاهش معنی‌داری در پارامترهای ارتفاع اپیتلیوم ژرمینال، قطر لوله‌های اسپرم‌ساز، تعداد سلول‌های سرتولی، تعداد سلول‌های لیدیک، تعداد اسپرماتوسیت‌ها، ضریب تمایز لوله‌ای، ضریب اسپرمیورژن، ضریب جمعی، ضریب میوزی و شاخص جانسن نسبت به گروه کنترل گردید و همچنین پلی‌استایرن موجب شد پارامترهای ضخامت کیسول بیضه، تعداد سلول‌های ایمنی تک‌هسته‌ای و ضخامت بافت همبند بینابینی نسبت به گروه کنترل به طور معنی‌داری افزایش یابد. یافته‌های ما نشان داد که تجویز میکروپلاستیک پلی‌استایرن موجب تغییرات گسترده در اندازه و ساختار بافتی بیضه در موش‌ها می‌شود که بر سیستم تولیدمثلی تأثیرگذار است و در نهایت موجب اثرات منفی بر توان باروری در موش می‌گردد.

کلمات کلیدی: میکروپلاستیک، پلی‌استایرن، هیستومورفومتری، اسپرماتوژنز، موش

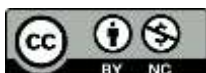
مقدمه

روی آبریان، حیوانات خشکی‌زی (Duis and Coors, 2016) و بدن انسان (Schwabl et al, 2019) دارد. امروزه پلاستیک‌ها در تمام محیط‌های آبی (Hou et al, 2021; Wang et al, 2019) از جمله دریاها، رودخانه‌ها، بطری‌های آب‌معدنی، آب تصفیه شده و حتی کوه‌های یخی قطبی

ما در عصر پلاستیک زندگی می‌کنیم (Napper and Thompson, 2020). به طوری که پلاستیک تولید شده در سال ۲۰۱۸، به میزان ۳۶۰ میلیون تن گزارش شده است که این مقدار در حال افزایش است (Zhang et al, 2021). استفاده گسترده از پلاستیک اثرات نامطلوب گسترده‌ای بر

* نویسنده مسئول: حسن مروتی، استاد گروه علوم پایه، دانشکده دامپزشکی، دانشگاه تهران، تهران، ایران

E-mail: hmarovvati@ut.ac.ir



© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

سرعت رشد و باروری میکروارگانیسم‌ها و بی‌مهرگان آسیب می‌زنند (Preston-Whyte et al, 2021). این مواد می‌توانند در ماهیچه‌ها تجمع کنند و در برخی موارد باعث ایجاد تغییرات بافتی گسترده در اندام‌های داخلی به خصوص در مورد پرزهای روده شوند که شامل آسیب شدید به اپیتلیوم استوانه‌ای و از بین رفتن گرانولوسیت‌های ائوزینوفیل شود (Hariharan et al, 2021). MPs در آبزیان باعث افزایش مرگ و میر، کاهش وزن، آسیب آبشش، کاهش زنده ماندن نوزاد، آسیب التهابی به روده و کبد، اختلال در هورمون‌های آزاد کننده گنادوتروپین از هیپوتالاموس و اختلال در ویتولوزن جفتی از کبد می‌شوند. MPs می‌توانند هورمون آزاد کننده گنادوتروپین (GnRH) را که تنظیم کننده فیزیولوژیک ترشح گنادوتروپین و همچنین استروئیدزایی و گامتوزن در بی‌مهرگان است را مختل کنند. قرار گرفتن در معرض این مواد در ماهی می‌تواند باعث استرس اکسیداتیو، آسیب آشکار بافتی و اختلالات گسترده سیستم غدد درون‌ریز شود (Wang et al, 2019; Soltani et al, 2024). مواد غذایی حاوی MPs بلعیده شده از موانع تغذیه‌ای عبور می‌کنند و در سایر اندام‌ها ذخیره شده و پاسخ‌های ایمنی موضعی را برمی‌انگیزند (Andrady, 2017; Liu et al, 2020).

بررسی‌ها نشان دهنده وجود انواع مختلف MPs در مدفوع انسان‌های ساکن در نقاط مختلف جهان است که در این میان هفت نوع میکروپلاستیک مختلف در تمامی موارد بررسی شده مشابه بوده که از این میان، سه نوع میکروپلاستیک شامل پلی‌پروپیلن (PP)، پلی‌اتیلن (PE) و پلی‌استایرن (PS) بیش‌ترین تجمع را داشتند (Schwabl et al, 2019).

میکروپلاستیک پلی‌استایرن (PS-MPs) باعث افزایش قابل توجه مالون‌دی‌آلدئید (MDA) در روده، کبد و غدد جنسی می‌شود. این مواد باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) شده و از طرفی باعث کاهش فعالیت کاتالاز (CAT) می‌شوند که آنزیمی است که پراکسید هیدروژن را از بین می‌برد و همچنین فعالیت آنزیم‌های

حضور دارند (Deng et al, 2021). تحت اشعه ماوراء بنفش، تجزیه زیستی و نور، قطر این مواد در محیط می‌تواند به ۵ میکرومتر یا کمتر برسد. این ذرات اغلب در محیط‌های آبی با غلظت‌های 10^{-2} تا 10^8 بر متر مکعب یافت می‌شوند (Deng et al, 2021). به طور کلی ۵۸ درصد از پلاستیک‌های تولید شده در جهان وارد محیط زیست می‌شوند (Chamas et al, 2020). قطر این مواد می‌تواند در محیط تحت تأثیر اشعه ماوراء بنفش، بیولوژیکی و تخریب نوری به ۵ میلی‌متر یا کمتر برسد (Andrady, 2017). میکروپلاستیک‌ها (MPs) ذرات پلاستیکی با اندازه کم‌تر از ۵ میلی‌متر هستند. تامپسون این اصطلاح را در سال ۲۰۰۴ ابداع کرد (Jin et al, 2019). این ذرات توسط موجودات مختلف آب شیرین از جمله پلانکتون‌ها، ماهی‌ها، پرندگان و حتی پستانداران جذب می‌شوند و سپس وارد چرخه غذایی سایر موجودات می‌شوند (Andrady, 2017). این مواد از طریق هوا، آب، خاک، تماس با پوست و غذا وارد بدن سایر پستانداران و انسان می‌شوند (Kim and An, 2020). مکانیسم تصفیه آب قادر به حذف کامل MPs نیست و این مواد در مخازن تصفیه ذخیره می‌شوند و سپس مقادیر زیادی از این ذرات وارد آب آشامیدنی می‌شوند (Wei et al, 2021a). افرادی که چای کیسه‌ای می‌نوشند هزاران ذره پلاستیکی را به بدن خود تزریق می‌کنند (Hernandez et al, 2019). نوع اولیه MPs به صورت برخی داروها و لوازم آرایشی مستقیماً به محیط زیست تخلیه می‌شود. نوع دوم MPs پس از تجزیه پلاستیک‌های بزرگ به ذرات کوچک‌تر وارد اکوسیستم می‌شود (Hale et al, 2020; Hariharan et al, 2021).

ترکیبات مختل کننده غدد درون ریز (EDCs) اثرات هورمون‌های در گردش طبیعی بدن را با اتصال به گیرنده‌های آن‌ها تقلید می‌کنند و یا آن‌ها را مسدود می‌کنند. نگرانی در مورد بلع میکروپلاستیک‌ها در سال ۲۰۱۹ به طور فزاینده‌ای گزارش شد، تجمع زیستی EDCs از طریق تماس پوست نیز ممکن است (Krzastek et al, 2021). مطالعات نشان داده‌اند که MPs به ذخیره انرژی، فتوسنتز، تنفس،

سایر پستانداران نیز مشاهده شده است (Zarus et al, 2021). علاوه بر این، PS-MPs با اندازه ۱ تا ۱۰ میکرومتر اثرات سمی روی سلول‌های کشت داده شده داشته و موجب بروز پاسخ التهابی و افزایش ترشح سایتوکاین‌های التهابی اینترلوکین-۱ (IL-1)، اینترلوکین-۶ (IL-6) و فاکتور نکروز دهنده توموری آلفا (TNF α) می‌شود. دستگاه تولیدمثلی در حیوانات خشکی‌زی یکی از حساس‌ترین سیستم‌های بدن آن‌ها می‌باشد، اما تا کنون بیش‌ترین توجه در مطالعه PS-MPs به آبریان معطوف شده است. به دلیل فعالیت‌های انسانی، آلودگی PS-MPs در خشکی نسبت به محیط‌های دریایی حادث‌تر است. با این حال، مطالعات کمی برای شناسایی سمیت PS-MPs بر روی سیستم‌های تولیدمثل پستانداران خشکی انجام شده است (Xie et al, 2020). همین تحقیقات کم نشان می‌دهد که این محصول پتانسیل آسیب رساندن به اسپرم را از طریق مسیر ایزوفرم ۳۸ پروتئین کیناز فعال شده با میتوزن (MAPK p38) را دارا می‌باشد. در این تحقیقات تعداد و زنده‌مانی اسپرم‌ها و نیز وزن بیضه‌ها به میزان قابل توجهی کاهش یافته و پارگی و انقباض در لوله‌های اسپرم‌ساز مشاهده شده است. با این-حال، مکانیسم این اثر هنوز ناشناخته بوده (Hou et al, 2021) و این مواد باعث مهار اسپرماتوزن و التهاب بافت بیضه می‌شوند (He et al, 2021). در این مطالعات سطوح اناف-کاپا بی (NF-kB) یا همان فاکتور هسته‌ای تقویت‌کننده زنجیره سبک کاپا از لنفوسیت‌های B فعال شده افزایش می‌یابد، که ایمنی ذاتی و اکتسابی، پاسخ استرس، رشد و آپوپتوز را مختل می‌کند (Zhang et al, 2019). حتی دوزهای پایین PS-MPs باعث کاهش حیات سلولی، افزایش استرس اکسیداتیو، کاهش سیالیت و پارگی غشای سلولی و افزایش فعالیت میتوکندری و دیپلاریزاسیون غشاها می‌شود (Wu et al, 2019). با توجه به تحقیقات انجام گرفته، اطلاعات محدودی درباره اثرات جانبی PS-MPs بر دستگاه تولیدمثلی در پستانداران خشکی‌زی وجود دارد و بررسی‌های جامعی درباره اثرات مخرب PS-MPs بر روی شاخص‌ها و پارامترهای هیستومورفومتریک بافت بیضه

سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلووتاتیون اس ترانسفراز (GST)، گلووتاتیون احیاء (GSH) و گلووتاتیون پراکسیداز (GSH-PX) را مختل می‌کند. PS-MPs به طور قابل توجهی میزان رونویسی از هورمون آزاد کننده گنادوتروپین پستانداران (mGnRH)، هورمون محرک فولیکول بتا (FSHb)، زیرواحد هورمون لوتئین کننده بتا (LHb) و هورمون گنادوتروپین آلفا (GtHa) را در مغز کاهش می‌دهد. این مواد باعث ایجاد اختلالات مرتبط با امور جنسی در سطح استروژن و تستوسترون شده (An et al, 2021) و تولید تستوسترون و فعالیت آنزیم‌های سوکسینات دهیدروژناز (SDH) و لاکتات دهیدروژناز (LDH) را کاهش می‌دهد (Xie et al, 2020). PS-MPs یکی از پرکاربردترین MPs است که در تمام محصولات پلاستیکی یکبار مصرف و محصولات بسته‌بندی یافت می‌شود (Qiang et al, 2020). مونومرهای برخی MPs مانند پلی‌اتیلن و پلی‌پروپیلن در محیط‌های آبی یافت نمی‌شوند با این حال، مونومرها و لیگومرهای PS-MPs با درصد وزنی ۰/۶ - ۰/۱ w/w در این محیط‌ها دیده می‌شوند (Andrady, 2017). ذرات PS-MPs در آبشش‌ها، روده‌ها و کبد تجمع و از راه بلع و تنفس وارد ارگان‌های زنده شده و از طریق جریان خون به کبد وارد می‌شوند (Wang et al, 2019). ذرات PS-MPs تولید تستوسترون و فعالیت آنزیم‌های SDH و LDH را کاهش می‌دهد که درمان با محصولات آنتی‌اکسیدانی و تعدیل کننده اثرات التهابی می‌تواند این عوارض جانبی را کاهش دهد (Xie et al, 2020). ماهی‌های در معرض PS-MPs ناهنجاری‌هایی در توان باروری و بقای لارو از خود نشان داده و کاهش قابل-توجهی در وزن لارو آن‌ها مشاهده شد. این نوزادان همانند والدین خود نشانه‌هایی از فرآیند استرس اکسیداتیو از خود نشان دادند. این مواد به طور جدی بر هورمون‌های جنسی تأثیر می‌گذارند و بلوغ را به تأخیر می‌اندازند (Pitt et al, 2019; Wang et al, 2018). تجویز ذرات کوچک PS-MPs می‌تواند باعث هجوم گسترده نوتروفیل‌ها به ریه‌های موش‌ها شود. تجمع این مواد در غدد لنفاوی در انسان و

طریق گاوژ به صورت خوراکی دریافت کردند، دوزهای استفاده شده در این مطالعه با توجه به منابع قبلی انتخاب شده است (Xie et al, 2020; Wei et al, 2022; Wang et al, 2022a). پس از ۴۲ روز انجام روزانه گاوژ موش‌ها آسان‌کشی شده و بیضه چپ پس از توزین به منظور انجام مطالعات هیستومورفومتريک در محلول ثبوت فرمالین ۱۰ درصد (Merck، آلمان) قرار داده شد.

روش‌های معمول پاساژ بافتی انجام و لام‌ها با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین-ائوزین (H&E) رنگ شدند (Pirzadeh et al, 2024). اندازه‌گیری‌های مربوط به پارامترهای هیستومورفومتريک با نرم‌افزار تصویربرداری میکروسکوپی DinoCapture 2.0 انجام شد. مطالعات هیستومورفومتريک شامل ضخامت کپسول بیضه، قطر لوله‌های اسپرم‌ساز، ارتفاع اپی‌تلیوم زایگر لوله‌های اسپرم‌ساز، تعداد سلول‌های لیدیک و سرتولی، تعداد اسپرماتوسیت‌ها، تعداد سلول‌های ایمنی تک‌هسته‌ای (MNICs)، شاخص‌های اسپرماتوژنیک و شاخص جانسن بودند (Anbara et al, 2018). برای ارزیابی روند اسپرماتوژنز توسط شاخص جانسن، از مقطع عرضی ۱۰۰ لوله اسپرم‌ساز در هر حیوان استفاده شد و هر لوله اسپرم‌ساز براساس الگوی Table 1 و مطابق دسته‌بندی جانسن نمره‌هایی مابین ۱ تا ۱۰ تعلق گرفت (Anbara et al, 2020). شاخص‌های اسپرماتوژنیک شامل ضریب تمایز لوله‌ای (TDI)، ضریب اسپرمیوژنز (SPI)، ضریب تجمعی (RI) و ضریب میوزی (MI) می‌باشد. بدین منظور، تعداد ۱۰۰ لوله اسپرم‌ساز در هر بیضه جهت ارزیابی مورد بررسی قرار گرفتند. جهت ارزیابی ضریب تمایز لوله‌ای، درصد لوله‌های اسپرم‌ساز که شامل سه یا بیش از سه رده از سلول‌های اسپرماتوژنز تمایز یافته از اسپرماتوگونی نوع A بودند، محاسبه گردید (Anbara et al, 2021). ضریب اسپرمیوژنز بیان‌گر درصد لوله‌های اسپرم‌ساز دارای اسپرمیوژنز طبیعی (حاوی اسپرم) می‌باشد (Anbara et al, 2021). جهت مشخص کردن ضریب تجمعی، درصد سلول‌های اسپرماتوگونی فعال به غیرفعال در لوله‌های اسپرم‌ساز محاسبه گردید (Anbara et al,

انجام نشده است. از این رو با توجه به اثر مستقیم PS-MPs بر فرآیند استرس اکسیداتیو و تولید گونه‌های فعال اکسیژن، بررسی اثرات PS-MPs بر هیستومورفومتريک بافت بیضه ضروری به نظر می‌رسد. لذا هدف از این مطالعه، بررسی اثرات PS-MPs روی برخی از پارامترهای هیستومورفومتريک بافت بیضه در موش‌های تیمار شده در یک دوره ۴۲ روزه که تا به حال مورد بررسی قرار نگرفته، می‌باشد.

مواد و روش کار

در این مطالعه تجربی بنیادی، تعداد ۳۶ سر موش نر نژاد NMRI به ظاهر سالم ۶ هفته‌ای با وزن بدن ۲۰ تا ۲۵ گرم، از موسسه تحقیقات واکسن و سرم سازی رازی ایران تهیه شد. موش‌ها در مرکز نگهداری حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران طبق شرایط استاندارد با دمای 22 ± 1 درجه سانتی‌گراد، چرخه نور و تاریکی ۱۲ ساعته و دسترسی آزاد به آب و غذای استاندارد نگهداری شدند. مراقبت‌ها و آزمایشات روی این موش‌ها توسط کمیته اخلاق حیوانات تجربی دانشگاه تهران (شماره: IR.UT.VETMED.REC.1400.002) پشتیبانی گردید. دستورالعمل‌های بین‌المللی رفاه حیوانات و مقررات سازگار سازی با محیط برای آزمایش در طول این مطالعه انجام شد. موش‌ها به طور تصادفی به چهار گروه ۹ تایی تقسیم شدند و به مدت ۴۲ روز متوالی PS-MPs را به صورت خوراکی از طریق گاوژ دریافت کردند. PS-MPs با اندازه ۲ میکرومتر (ML-F5-78452) از شرکت سیگما-آلدریچ تهیه شد. PS-MPs در آب دیونیزه پراکنده شده و توسط امواج مافوق صوت به مدت ۲۰ دقیقه به وسیله فراصوت هم زده شدند تا قبل از استفاده به طور کامل معلق شوند. گروه کنترل به میزان ۱ میلی‌لیتر آب مقطر به صورت روزانه، گروه دوز پایین به میزان ۰/۰۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم PS-MPs به صورت روزانه، گروه دوز متوسط به میزان ۰/۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم PS-MPs به صورت روزانه و گروه دوز بالا به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم PS-MPs روزانه از

گروه کنترل فاقد اختلاف معنی‌دار ($P > 0.05$) بود (Table 2, Figure 2). مطالعه ضخامت کپسول بیضه نشان داد که گروه‌های دریافت‌کننده PS-MPs به طور وابسته به دوز افزایش معنی‌داری ($P < 0.05$) را نسبت به گروه کنترل از خود نشان دادند (Table 2, Figure 2). گروه‌های دوز متوسط و بالا دریافت‌کننده PS-MPs از نظر ضخامت بافت همبند بینابینی در مقایسه با گروه‌های کنترل و دوز پایین دریافت‌کننده PS-MPs دارای افزایش معنی‌داری ($P < 0.05$) بودند (Table 2). بررسی تعداد سلول‌های ایمنی تک‌هسته‌ای در بافت بیضه نشان داد که تمام گروه‌های دریافت‌کننده PS-MPs در مقایسه با گروه کنترل، افزایش معنی‌داری ($P < 0.05$) از نظر پراکندگی تعداد سلول‌های ایمنی تک‌هسته‌ای در بافت بیضه داشتند (Table 2). در گروه‌های دوز متوسط و بالا دریافت‌کننده PS-MPs ضریب تمایز لوله‌ای مثبت نسبت به گروه کنترل و گروه دوز پایین دریافت‌کننده PS-MPs دارای کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) بود (Table 3). ضریب اسپرمیوزنر مثبت در گروه‌های دوز بالا و متوسط دریافت‌کننده PS-MPs در مقایسه با گروه کنترل کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) داشتند. همچنین گروه دوز پایین دریافت‌کننده PS-MPs از نظر ضریب اسپرمیوزنر مثبت در مقایسه با گروه کنترل فاقد اختلاف معنی‌داری ($P > 0.05$) بود (Table 3). ضریب جمع‌ی مثبت در گروه‌های دوز بالا و متوسط دریافت‌کننده PS-MPs در مقایسه با گروه کنترل دارای کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) بودند. همچنین گروه دوز پایین دریافت‌کننده PS-MPs از نظر ضریب جمع‌ی مثبت در مقایسه با گروه کنترل فاقد اختلاف معنی‌داری ($P > 0.05$) بود (Table 3). ضریب میوزی مثبت نیز در گروه‌های دوز بالا و متوسط دریافت‌کننده PS-MPs نسبت به گروه کنترل و دوز پایین دریافت‌کننده PS-MPs کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) نشان داد (Table 3). همچنین بررسی‌های هیستومورفومتریک در شاخص جانسن مشخص کرد که این شاخص در گروه‌های دریافت‌کننده PS-MPs به صورت وابسته به دوز کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) در مقایسه با گروه کنترل داشتند (Figure 3).

2021). به منظور بررسی ضریب میوزی نیز پس از شمارش تعداد اسپرماتیدهای گرد و اسپرماتوسیت‌های اولیه در هر لوله، نسبت این دو محاسبه گردید (Anbara et al, 2021). داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS (نسخه ۲۲/۰۰) تجزیه و تحلیل شد. تفاوت بین گروه‌ها با استفاده از آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) و سپس آزمون تعقیبی توکی بررسی شد. نتایج به صورت میانگین \pm خطای استاندارد بیان شد و $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌داری در نظر گرفته شد.

نتایج

نتایج مطالعه حاضر نشان داد که شاخص گنادوسوماتیک (GSI) در تمامی گروه‌های دریافت‌کننده PS-MPs نسبت به گروه کنترل از خود تفاوت معنی‌داری ($P > 0.05$) نشان ندادند (Figure 1). تعداد سلول‌های لیدینگ در تمامی گروه‌های دریافت‌کننده PS-MPs نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) داشتند و کمترین تعداد سلول‌های لیدینگ در گروه دوز بالا مشاهده شد (Table 2). بررسی تعداد سلول‌های سرتولی نشان داد که تعداد این سلول‌ها در تمامی گروه‌های دریافت‌کننده PS-MPs نسبت به گروه کنترل به صورت وابسته به دوز کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) داشت (Table 2). مطالعه تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت در تمامی گروه‌های دریافت‌کننده PS-MPs نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) نشان داد و کمترین تعداد سلول‌های اسپرماتوسیت در گروه‌های دوز بالا و متوسط دریافت‌کننده PS-MPs بود (Table 2). ارتفاع اپیتلیوم ژرمینال در گروه‌های دریافت‌کننده PS-MPs نسبت به گروه کنترل دارای کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) بود و کمترین ارتفاع در گروه دریافت‌کننده دوز بالا مشاهده شد. ارتفاع اپیتلیوم ژرمینال مابین دو گروه دریافت‌کننده دوز پایین و متوسط PS-MPs تفاوت معنی‌داری ($P > 0.05$) نداشت (Table 2, Figure 2). پارامتر قطر لوله‌های اسپرم-ساز در گروه‌های دوز بالا و متوسط دریافت‌کننده PS-MPs نسبت به گروه کنترل کاهش معنی‌داری ($P < 0.05$) داشت، این کاهش در گروه دوز پایین دریافت‌کننده PS-MPs با

Table 1: Johnsen score prevalence of testicular histology

Score	Histological Criteria
10	full spermatogenesis
9	Slightly impaired spermatogenesis, many late spermatids, disorganized epithelium
8	Less than five spermatozoa per tubule, few late spermatids
7	No spermatozoa, no late spermatids, many early spermatids
6	No spermatozoa, no late spermatids, few early spermatocytes
5	No spermatozoa or spermatids, many spermatocytes
4	No spermatozoa or spermatids, few spermatocytes
3	Spermatogonia only
2	No germinal cells, Sertoli cells only
1	No seminiferous epithelium

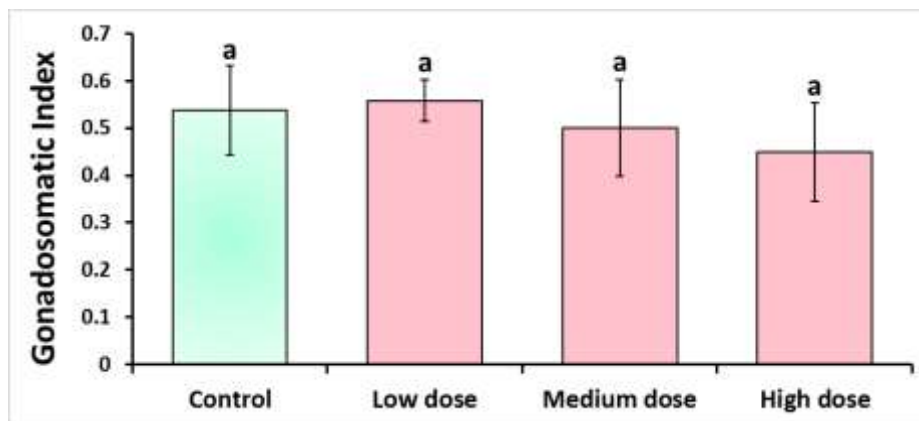


Figure 1: Evaluation of the impact of PS-MPS exposure on GSI index in testicular tissue. Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$) between groups. Data is presented as mean \pm SD (N = 9).

Table 2: Evaluation of the impact of PS-MPS exposure on histomorphometric indices. Testicular capsule thickness, Seminiferous tubules diameters, Germinal epithelium height, Thickness of intermediate connective tissue, (μm). Number of Leydig cells, Number of mononuclear immune cells (MNICs), per one mm^2 of tissue. Number of spermatocyte, Number of Sertoli cells in each tube. Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$) between groups. Data is presented as mean \pm SD (N = 9).

Parameters	Control	Low dose	Medium dose	High dose
Number of Leydig cells (mm^2)	94.08 \pm 2.26 ^a	81.09 \pm 1.52 ^b	50.33 \pm 1.93 ^c	46.29 \pm 2.53 ^c
Number of Sertoli cells (seminiferous tubules)	23.19 \pm 2.22 ^a	21.90 \pm 2.18 ^b	19.09 \pm 1.73 ^c	16.42 \pm 1.80 ^d
Number of Spermatocyte (seminiferous tubules)	75.28 \pm 2.61 ^a	66.90 \pm 3.96 ^b	60.52 \pm 3.50 ^c	59.88 \pm 5.66 ^c
Germinal epithelium height (μm)	60.60 \pm 7.29 ^a	43.01 \pm 6.54 ^b	42.63 \pm 5.05 ^b	33.82 \pm 4.83 ^c
Seminiferous tubules diameters (μm)	175.38 \pm 19.18 ^a	168.61 \pm 20.24 ^{ab}	165.64 \pm 15.48 ^b	165.94 \pm 6.24 ^b
Testicular capsule thickness (μm)	10.01 \pm 2.14 ^a	11.67 \pm 2.59 ^b	16.52 \pm 3.42 ^c	18.33 \pm 2.35 ^d
Thickness of intermediate connective tissue (μm)	30.34 \pm 2.08 ^a	31.32 \pm 2.16 ^a	38.26 \pm 2.83 ^b	44.98 \pm 2.72 ^c
Number of mononuclear immune cells (mm^2)	5.22 \pm 0.44 ^a	8.44 \pm 0.52 ^b	13.88 \pm 0.60 ^c	15.11 \pm 0.78 ^c

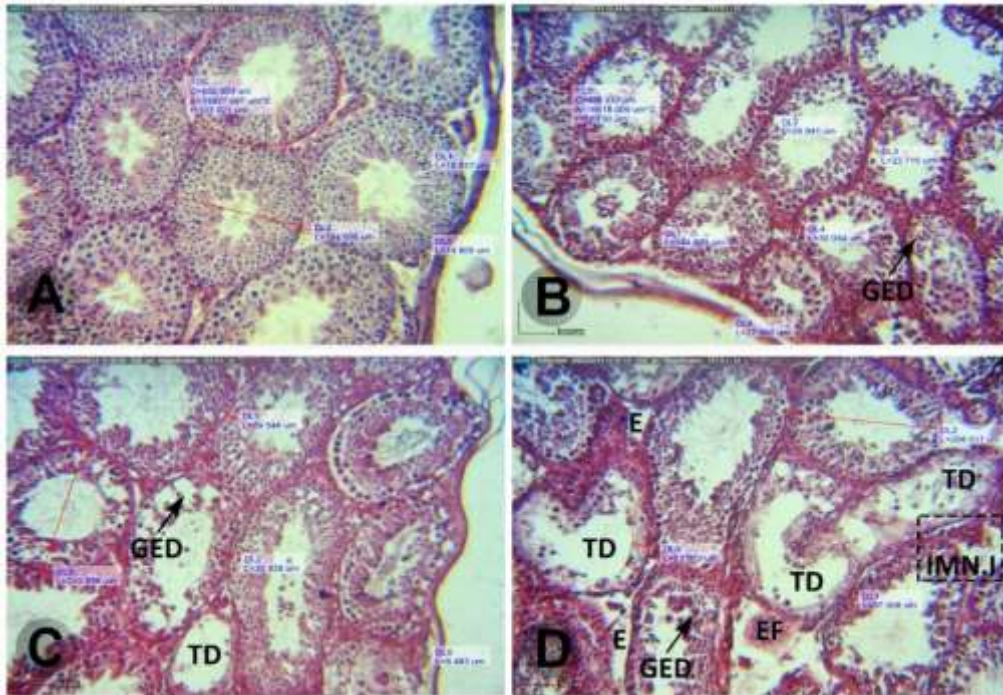


Figure 2: Hematoxylin and eosin staining of mouse testis tissue. A: control group, B: low dose group, C: medium dose group, D: high dose group. The red lines indicates the measurements of different parts of the seminiferous tubules. Cross sections from low, medium, and high-dose groups exhibit oedematous fluid accumulation (EF) and edema (E) of interstitial connective tissue, reduced epithelial height as well as germinal epithelium dissociation (GED), immune cells infiltration (IMN.I), atrophic and depleted seminiferous tubules (TD).

Table 3: Evaluation of the impact of PS-MPS exposure on histomorphometric indices. RI, repopulation index; SPI, spermiogenesis index, TDI, tubular differentiation index, MI, meiosis index. Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$) between groups. Data is presented as mean \pm SD (N = 9).

Parameters	Control	Low dose	Medium dose	High dose
Tubular differentiation index (percentage)	90.14 \pm 3.55 ^a	89.54 \pm 5.73 ^a	79.95 \pm 4.68 ^b	75.40 \pm 4.51 ^c
Spermiogenesis index (percentage)	88.60 \pm 4.49 ^a	87.20 \pm 3.38 ^a	67.16 \pm 4.63 ^b	55.69 \pm 3.73 ^c
Repopulation index (percentage)	94.18 \pm 4.43 ^a	92.37 \pm 4.90 ^a	77.25 \pm 5.56 ^b	69.06 \pm 5.15 ^c
Meiosis index (percentage)	2.48 \pm 0.26 ^a	2.52 \pm 0.31 ^a	2.28 \pm 0.24 ^b	1.81 \pm 0.15 ^c

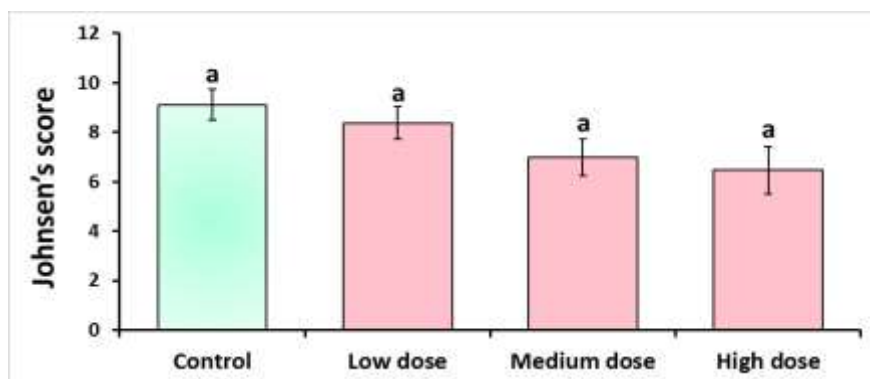


Figure 3: Evaluation of the impact of PS-MPs exposure on Johnsen's index in testicular tissue. Different letters indicate significant differences ($P < 0.05$) between groups. Data is presented as mean \pm SD (N = 9).

بحث

به هم‌ریختگی سلول‌های زایا، واکوئله و جدا شدن سلول‌های سری اسپرما توژنز و همچنین ریزش این سلول‌ها در لومن لوله‌های اسپرم‌ساز همراه بود (Wang et al, 2022b). در یک تحقیق با قرار دادن سه نوع از سلول‌های موجود در بافت بیضه (سلول‌های زایگر، سلول‌های لیدیگ و سلول‌های سرتولی) به مدت ۲۴ ساعت در محیط دارای PS-MPs نشان‌دار شده با مواد فلورسنت که دارای ابعاد مختلفی بودند مشخص گردید که PS-MPs نشان‌دار شده با فلورسنت با ابعاد ۰/۵ تا ۱۰ میکرومتر می‌توانند وارد سلول‌های یاد شده در بیضه شوند. سلول‌های زایگر، سلول‌های لیدیگ و سلول‌های سرتولی سه نوع از سلول موجود در بافت بیضه هستند که نقش مهمی در فرآیند اسپرم‌زایی ایفا می‌کنند. از لحاظ عملکردی، سلول‌های لیدیگ عمدتاً تستوسترون را سنتز و ترشح می‌کنند که باعث افزایش اسپرم‌زایی می‌شود، در حالی که سلول‌های سرتولی از سلول‌های زایگر حمایت تغذیه‌ای کرده و به تشکیل شدن سد خونی بیضه‌ای کمک می‌کنند، که مشخص گردید که PS-MP در ساختار ظاهری و فعالیت هر سه نوع این سلول‌ها ایجاد مشکل کرده است (Jin et al, 2021a).

طی مطالعات اخیر مشخص شد که قرار گرفتن در معرض PS-MPs به مدت ۲۸ روز موجب تغییرات بافت-شناسی در ساختار بیضه می‌شود، سطح هورمون تستوسترون سرم و کیفیت اسپرم را کاهش و منجر به اختلال در عملکرد سیستم تولیدمثلی نر در موش‌ها می‌شود. هورمون تستوسترون مهمترین آندروژن در مردان می‌باشد که نقش مهمی در تولید اسپرم دارد و کاهش سطح این هورمون به شدت با آسیب عملکردی در بیضه‌ها و سلول‌های لیدیگ مرتبط است. بنابراین، فرض می‌شود که PS-MPs با کاهش سطح تستوسترون، سمیت تولیدمثلی را در موش‌های نر القا می‌نماید. با این وجود، مکانیسم اصلی کاهش سطح تستوسترون ناشی از PS-MPs ناشناخته باقی مانده است (Jin et al, 2022). سلول‌های لیدیگ فراوان-ترین سلول‌ها در بافت همبند بینابینی بیضه هستند که برای

بسیاری از مطالعاتی که در سال‌های اخیر روی اثرات قرار گرفتن در معرض MPs انجام شده، بر موجودات دریایی تمرکز داشته و مطالعات کمی در مورد بررسی عواقب قرار گرفتن در معرض MPs روی حیوانات خشکی به ویژه پستانداران انجام شده است (Xie et al, 2020). MPs آلاینده‌هایی هستند که می‌توانند از طریق زنجیره غذایی به موجودات دیگر منتقل شوند و به این دلیل حضور این مواد در محیط زیست نگران‌کننده است. اثرات سمی این مواد روی بافت روده و کبد حیوانات آبی به اثبات رسیده است و مطالعاتی در مورد اثرات مخرب این مواد بر روده، کبد (Lu et al, 2018)، سیستم عصبی (Wang et al, 2022a) و سیستم تولیدمثلی نر و ماده پستانداران (Wei et al, 2022) انجام شده است. MPs می‌توانند از طریق آب آشامیدنی، غذاهای دریایی (Xie et al, 2020)، غذاهای غیر دریایی مانند عسل، آجود، نمک یا غذاهای فرآوری شده وارد بدن انسان شوند (Bouwmeester et al, 2015) و حتی استنشاق گرد و غبار (Soltani et al, 2022).

تحقیقات پیشین نشان داده است که تجویز خوراکی PS-MPs به موش‌های آزمایشگاهی موجب افزایش بافت همبندی بینابینی، ریزش سلول‌های رده اسپرما توژنز و حضور بقایای این سری از سلول‌ها در لومن لوله‌های اسپرم‌ساز می‌شود، همچنین در امتداد این تغییرات PS-MPs موجب کاهش رنگ‌پذیری بخش آکروزومی در برخی از اسپرماتیدهای گرد موجود در لوله‌های اسپرم‌ساز شده و باعث دژنراسیون اپیتلیوم لوله‌های اسپرم‌ساز و در نهایت واکوئله شدن آنها شده است. به دنبال این مشاهدات که در بیضه موش آزمایشگاهی (Nikolic et al, 2022) و موش صحرايي (Li et al, 2021) گزارش شده است، در تحقیق دیگری بیان شده است که قرار گرفتن در معرض PS-MPs موجب افزایش فرآیند مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی یا همان آپوپتوز در سلول‌های بیضه می‌گردد که این فرآیند با چندین تغییر مخرب و منفی هیستومورفولوژیکی از جمله

مشاهده شده که به طور ویژه با اختلال در تنظیم و تولید مولکول‌های دخیل در ساختار داخلی سلول‌های زایگر (اکلودین، ان کاده‌رین، بتا کاتین و کانکسین ۴۳) مرتبط هستند (Marcelino et al, 2022). PS-MPs می‌تواند از طریق اعمال فرآیند استرس اکسیداتیو باعث اختلال عملکرد اتصال سلول‌های سرتولی در بافت لوله اسپرم‌ساز شوند (Wei et al, 2021b). همچنین ثابت گردیده است که این مواد پلاستیکی قادر به ایجاد استرس اکسیداتیو در بافت بیضه بوده و می‌توانند بر روی شاخص جانسن تأثیرگذار باشند که با نتایج حاصل از مطالعه حاضر مطابقت دارد (Mousavi et al, 2021). با جمع‌بندی یافته‌های مطالعه حاضر چنین برمی‌آید که مصرف PS-MPs به مدت ۴۲ روز حتی در کمترین میزان تجویز شده در مطالعه پیشروی، به واسطه اختلال در سنتز هورمون تستوسترون، افزایش تولید رادیکال‌های آزاد، پی‌ریزی تنش‌های اکسیداتیو، تضعیف دستگاه دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن و به دنبال آن افزایش عوامل دخیل در نکروز و فرآیند مرگ برنامه‌ریزی شده سلول سبب القای آپوپتوز و نکروز در سلول‌های بافت بیضه به ویژه سلول‌های موجود در فضای بینابینی و نیز لوله‌های اسپرم‌ساز شده و موجبات اختلالات مربوط به پارامترهای هیستومورفومتریک و شاخص‌های اسپرماتوژنز بافت بیضه را در موش‌های دریافت‌کننده PS-MPs فراهم می‌آورد که به نوبه‌ی خود قادر هستند تا عملکرد فیزیولوژیک سیستم تولیدمثل نر را دچار اختلال نمایند. با این وجود، تایید مضرات و گستردگی تخریب بافتی PS-MPs در دستگاه تولیدمثل نر، نیازمند طرح‌ریزی مطالعات تجربی گسترده‌تر و نیز کارآزمایی‌های بالینی می‌باشد.

حفظ اسپرماتوژنز و سنتز هورمون تستوسترون بسیار مهم می‌باشند و در سوی دیگر ماجرا آنزیم ۳ بتا هیدروکسی استروئید دهیدروژناز (3β -HSD) یکی از پرکاربردترین نشانگرهای عملکردی این سلول‌ها در بیضه پستانداران می‌باشد که PS-MPs قادر به ایجاد اشکالاتی در مسیر فعالیت این نشانگر است (Jin et al, 2021b). در مطالعه حاضر، ما موش‌ها را در معرض PS-MPs در غلظت‌های مختلف قرار دادیم تا سمیت تولیدمثلی موش‌های نر در مقابل PS-MPs را بررسی کنیم. یافته‌های مطالعه حاضر ممکن است بینش جدیدی در مورد عوارض ایجاد شده با اثر سمیت تولیدمثلی PS-MPs ارائه دهد. از این رو برای ارزیابی امکان و کمیت تأثیر PS-MPs بر ساختار بیضه پارامترهای مختلف هیستومورفومتریک در قسمت‌های مختلف بیضه موش‌ها مورد بررسی قرار گرفتند، که مشخص گردید تعداد زیادی از این پارامترهای هیستومورفومتریک تحت تأثیر میزان سنتز هورمون تستوسترون در بافت‌های بیضه است (Jin et al, 2022). به طور کلی پژوهش‌های انجام شده قبلی تجمع ذرات پلاستیک در غدد جنسی مردانه را ثابت و بیان نموده‌اند که تجمع این ذرات موجب آسیب ریزساختاری گسترده بافتی مانند تخریب اپیتلیوم اسپرم‌ساز، مرگ سلول‌های زایگر، لیدیک، سرتولی و سری اسپرماتوژنز، اختلال در یکپارچگی سد خونی بیضه‌ای، ناهنجاری یا دژنراسیون سلول‌ها، کاهش تعداد سلول‌ها، کاهش تعداد اسپرم‌ها و افت پارامترهای کیفیت اسپرم شده است. همچنین اسپرماتوژنز ناقص در لوله‌های اسپرم‌ساز، اختلال در سطوح هورمون‌های تستوسترون، پروژسترون و استروژن نیز در حیوانات تحت درمان با میکروپلاستیک‌ها

تشکر و قدردانی

بدین وسیله نویسندگان این مقاله بر خود لازم می‌دانند که مراتب تشکر و قدردانی خود را از معاونت پژوهشی دانشگاه تهران اعلام دارند.

تعارض منافع

نویسندگان مقاله اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تعارض منافی ندارند.

منابع مالی

منابع مالی این پژوهش در قالب پایان‌نامه دکتری تخصصی (Ph.D) توسط دانشگاه تهران تأمین گردیده است.

منابع

- An, R., Wang, X., Yang, L., Zhang, J., Wang, N., Xu, F., Hou, Y., Zhang, H., & Zhang, L. (2021). Polystyrene microplastics cause granulosa cells apoptosis and fibrosis in ovary through oxidative stress in rats. *Toxicology*, 449, 152665.
- Anbara, H., Shahrooz, R., Razi, M., Malekinejad, H., & Najafi, G. (2018). The effect of vitamin C on mice hemolytic anemia induced by phenylhydrazine: an animal model study using histological changes in testis, pre-implantation embryo development, and biochemical changes. *Iranian journal of basic medical sciences*, 21(7), 668–677.
- Anbara, H., Sheibani, M. T., & Razi, M. (2020). Long-Term Effect of Aspartame on Male Reproductive System: Evidence for Testicular Histomorphometrics, Hsp70-2 Protein Expression and Biochemical Status. *International journal of fertility & sterility*, 14(2), 91-101.
- Anbara, H., Sheibani, M. T., Razi, M., & Kian, M. (2021). Insight into the mechanism of aspartame-induced toxicity in male reproductive system following long-term consumption in mice model. *Environmental toxicology*, 36(2), 223-237.
- Andrady A. L. (2017). The plastic in microplastics: A review. *Marine pollution bulletin*, 119(1), 12-22.
- Bouwmeester, H., Hollman, P. C., & Peters, R. J. (2015). Potential Health Impact of Environmentally Released Micro- and Nanoplastics in the Human Food Production Chain: Experiences from Nanotoxicology. *Environmental science & technology*, 49(15), 8932-8947.
- Chamas, A., Moon, H., Zheng, J., Qiu, Y., Tabassum, T., Jang, J. H., Abu-Omar, M., Scott, S. L., & Suh, S. (2020). Degradation Rates of Plastics in the Environment. *ACS Sustainable Chemistry and Engineering*, 8(9), 3494-3511.
- De Gendt, K., Swinnen, J. V., Saunders, P. T., Schoonjans, L., Dewerchin, M., Devos, A., Tan, K., Atanassova, N., Claessens, F., Lécureuil, C., Heyns, W., Carmeliet, P., Guillou, F., Sharpe, R. M., & Verhoeven, G. (2004). A Sertoli cell-selective knockout of the androgen receptor causes spermatogenic arrest in meiosis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 101(5), 1327-1332.
- Deng, Y., Yan, Z., Shen, R., Huang, Y., Ren, H., & Zhang, Y. (2021). Enhanced reproductive toxicities induced by phthalates contaminated microplastics in male mice (*Mus musculus*). *Journal of hazardous materials*, 406, 124644.
- Duis, K., & Coors, A. (2016). Microplastics in the aquatic and terrestrial environment: sources (with a specific focus on personal care products), fate and effects. *Environmental sciences Europe*, 28(1), 2.
- Hai, Y., Hou, J., Liu, Y., Liu, Y., Yang, H., Li, Z., & He, Z. (2014). The roles and regulation of Sertoli cells in fate determinations of spermatogonial stem cells and spermatogenesis. *Seminars in cell & developmental biology*, 29, 66-75.
- Hale, R. C., Seeley, M. E., La Guardia, M. J., Mai, L., & Zeng, E. Y. (2020). A Global Perspective on Microplastics. In *Journal of Geophysical Research: Oceans*, 125, e2018JC014719.
- Hariharan, G., Purvaja, R., Anandavelu, I., Robin, R. S., & Ramesh, R. (2021). Accumulation and ecotoxicological risk of weathered polyethylene (wPE) microplastics on green mussel (*Perna viridis*). *Ecotoxicology and environmental safety*, 208, 111765.
- He, J., Yang, X., & Liu, H. (2021). Enhanced toxicity of triphenyl phosphate to zebrafish in the presence of micro- and nano-plastics. *The Science of the total environment*, 756, 143986.
- Hernandez, L. M., Xu, E. G., Larsson, H. C. E., Tahara, R., Maisuria, V. B., & Tufenkji, N. (2019). Plastic Teabags Release Billions of Microparticles and Nanoparticles into Tea. *Environmental science & technology*, 53(21), 12300-12310.
- Hou, B., Wang, F., Liu, T., & Wang, Z. (2021). Reproductive toxicity of polystyrene microplastics: In vivo experimental study on testicular toxicity in mice. *Journal of hazardous materials*, 405, 124028.
- Jin, H., Ma, T., Sha, X., Liu, Z., Zhou, Y., Meng, X., Chen, Y., Han, X., & Ding, J. (2021a). Polystyrene microplastics induced male reproductive toxicity in mice. *Journal of hazardous materials*, 401, 123430.

- Jin, H., Yan, M., Pan, C., Liu, Z., Sha, X., Jiang, C., & Ding, J. (2021b). Reproductive Toxicity of Chronic Exposure To Polystyrene Microplastics And The Molecular Mechanism of Decrease In Testosterone Levels In Male Mice. *Research Square*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-689230/v1>
- Jin, H., Yan, M., Pan, C., Liu, Z., Sha, X., Jiang, C., Li, L., Pan, M., Li, D., Han, X., & Ding, J. (2022). Chronic exposure to polystyrene microplastics induced male reproductive toxicity and decreased testosterone levels via the LH-mediated LHR/cAMP/PKA/StAR pathway. *Particle and fibre toxicology*, 19(1), 13.
- Jin, Y., Lu, L., Tu, W., Luo, T., & Fu, Z. (2019). Impacts of polystyrene microplastic on the gut barrier, microbiota and metabolism of mice. *The Science of the total environment*, 649, 308-317.
- Kim, S. W., & An, Y. J. (2020). Edible size of polyethylene microplastics and their effects on springtail behavior. *Environmental pollution*, 266(1), 115255.
- Krzastek, S. C., Farhi, J., Gray, M., & Smith, R. P. (2020). Impact of environmental toxin exposure on male fertility potential. *Translational andrology and urology*, 9(6), 2797-2813.
- Li, S., Wang, Q., Yu, H., Yang, L., Sun, Y., Xu, N., Wang, N., Lei, Z., Hou, J., Jin, Y., Zhang, H., Li, L., Xu, F., & Zhang, L. (2021). Polystyrene microplastics induce blood-testis barrier disruption regulated by the MAPK-Nrf2 signaling pathway in rats. *Environmental science and pollution research international*, 28(35), 47921-47931.
- Liu, Z., Qin, Q., Hu, Z., Yan, L., Jeong, U. I., & Xu, Y. (2020). Adsorption of chlorophenols on polyethylene terephthalate microplastics from aqueous environments: Kinetics, mechanisms and influencing factors. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 265(Pt A), 114926.
- Lu, L., Wan, Z., Luo, T., Fu, Z., & Jin, Y. (2018). Polystyrene microplastics induce gut microbiota dysbiosis and hepatic lipid metabolism disorder in mice. *The Science of the total environment*, 631-632, 449-458.
- Marcelino, R. C., Cardoso, R. M., Domingues, E. L. B. C., Gonçalves, R. V., Lima, G. D. A., & Novaes, R. D. (2022). The emerging risk of microplastics and nanoplastics on the microstructure and function of reproductive organs in mammals: A systematic review of preclinical evidence. *Life sciences*, 295, 120404.
- Mousavi, A., Gharzi, A., Gholami, M., Beyranvand, F., & Takesh, M. (2021). The therapeutic effect of cerium oxide nanoparticle on ischaemia/reperfusion injury in rat testis. *Andrologia*, 53(11), e14231.
- Napper, I. E., & Thompson, R. C. (2020). Plastic Debris in the Marine Environment: History and Future Challenges. *Global challenges*, 4(6), 1900081.
- Soltani M, Ghotbeddin Z, Rahimi K, Tabandeh MR. (2024). Effects of Alpha-pinene on oxidative stress and inflammatory response in acute gastric ulcers in rats. *Iranian Veterinary Journal*, 20(3):101-13.
- Soltani, N. S., Taylor, M. P., & Wilson, S. P. (2022). International quantification of microplastics in indoor dust: prevalence, exposure and risk assessment. *Environmental pollution*, 312, 119957.
- Nikolic, S., Gazdic-Jankovic, M., Rosic, G., Miletic-Kovacevic, M., Jovicic, N., Nestorovic, N., Stojkovic, P., Filipovic, N., Milosevic-Djordjevic, O., Selakovic, D., Zivanovic, M., Seklic, D., Milivojević, N., Markovic, A., Seist, R., Vasilijic, S., Stankovic, K. M., Stojkovic, M., & Ljubic, B. (2022). Orally administered fluorescent nanosized polystyrene particles affect cell viability, hormonal and inflammatory profile, and behavior in treated mice. *Environmental pollution*, 305, 119206.
- Pitt, J. A., Trevisan, R., Massarsky, A., Kozal, J. S., Levin, E. D., & Di Giulio, R. T. (2018). Maternal transfer of nanoplastics to offspring in zebrafish (*Danio rerio*): A case study with nanopolystyrene. *The Science of the total environment*, 643, 324-334.
- Pirzadeh A, Morovvati H, Abbasi M. (2024). Study on the effect of *Spirulina platensis* on the histomorphometric and histological structure of rat testicular tissue exposed to iron oxide nanoparticles. *Iranian Veterinary Journal*, 20(2):16-26.
- Preston-Whyte, F., Silburn, B., Meakins, B., Bakir, A., Pillay, K., Worship, M., Paruk, S., Mdazuka, Y., Mooi, G., Harmer, R., Doran, D., Tooley, F., & Maes, T. (2021). Meso- and microplastics monitoring in harbour environments: A case study for the Port of Durban, South Africa. *Marine pollution bulletin*, 163, 111948.
- Qiang, L., Lo, L. S. H., Gao, Y., & Cheng, J. (2020). Parental exposure to polystyrene microplastics at environmentally relevant concentrations has negligible transgenerational effects on zebrafish (*Danio rerio*). *Ecotoxicology and environmental safety*, 206, 111382.

- Schulz, R. W., França, L. R. de, Lareyre, J. J., Le Gac, F., Chiarini-Garcia, H., Nobrega, R. H., & Miura, T. (2010). Erratum to Spermatogenesis in fish [Gen. Comp. Endocrinol. 165, (2010), 390-411]. In *General and Comparative Endocrinology*, 167(1), 179.
- Schwabl, P., Köppel, S., Königshofer, P., Bucsecs, T., Trauner, M., Reiberger, T., & Liebmann, B. (2019). Detection of Various Microplastics in Human Stool: A Prospective Case Series. *Annals of internal medicine*, 171(7), 453-457.
- Wang, J., Li, Y., Lu, L., Zheng, M., Zhang, X., Tian, H., Wang, W., & Ru, S. (2019). Polystyrene microplastics cause tissue damages, sex-specific reproductive disruption and transgenerational effects in marine medaka (*Oryzias melastigma*). *Environmental pollution*, 254(Pt B), 113024.
- Wang, S., Han, Q., Wei, Z., Wang, Y., Xie, J., & Chen, M. (2022a). Polystyrene microplastics affect learning and memory in mice by inducing oxidative stress and decreasing the level of acetylcholine. *Food and chemical toxicology : an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 162, 112904.
- Wang, X., Zhang, X., Sun, K., Wang, S., & Gong, D. (2022b). Polystyrene microplastics induce apoptosis and necroptosis in swine testis cells via ROS/MAPK/HIF1 α pathway. *Environmental toxicology*, 37(10), 2483-2492.
- Wei, W., Chen, X., Peng, L., Liu, Y., Bao, T., & Ni, B. J. (2021a). 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 research*, 190, 116731.
- Wei, Y., Zhou, Y., Long, C., Wu, H., Hong, Y., Fu, Y., Wang, J., Wu, Y., Shen, L., & Wei, G. (2021b). Polystyrene microplastics disrupt the blood-testis barrier integrity through ROS-Mediated imbalance of mTORC1 and mTORC2. *Environmental pollution*, 289, 117904.
- Wei, Z., Wang, Y., Wang, S., Xie, J., Han, Q., & Chen, M. (2022). Comparing the effects of polystyrene microplastics exposure on reproduction and fertility in male and female mice. *Toxicology*, 465, 153059.
- Wu, B., Wu, X., Liu, S., Wang, Z., & Chen, L. (2019). Size-dependent effects of polystyrene microplastics on cytotoxicity and efflux pump inhibition in human Caco-2 cells. *Chemosphere*, 221, 333-341.
- 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.
- Zarus, G. M., Muianga, C., Hunter, C. M., & Pappas, R. S. (2021). A review of data for quantifying human exposures to micro and nanoplastics and potential health risks. *The Science of the total environment*, 756, 144010.
- Zhang, C., Wang, J., Zhou, A., Ye, Q., Feng, Y., Wang, Z., Wang, S., Xu, G., & Zou, J. (2021). Species-specific effect of microplastics on fish embryos and observation of toxicity kinetics in larvae. *Journal of hazardous materials*, 403, 123948.
- Zhang, D. M., Guo, Z. X., Zhao, Y. L., Wang, Q. J., Gao, Y. S., Yu, T., Chen, Y. K., Chen, X. M., & Wang, G. Q. (2019). L-carnitine regulated Nrf2/Keap1 activation in vitro and in vivo and protected oxidized fish oil-induced inflammation response by inhibiting the NF- κ B signaling pathway in *Rhynchocypris lagowski* Dybowski. *Fish & shellfish immunology*, 93, 1100-1110.
- Zhou, R., Wu, J., Liu, B., Jiang, Y., Chen, W., Li, J., He, Q., & He, Z. (2019). The roles and mechanisms of Leydig cells and myoid cells in regulating spermatogenesis. *Cellular and molecular life sciences*, 76(14), 2681-2695.

Received: 11.03.2023

Accepted: 07.06.2023

The effect of Polystyrene Microplastics on Histomorphometric Parameters of Testis in Male Mature Mice

Somaye Zangene¹, Hassan Morovvati^{2*} and Hojat Anbara³

¹ PhD Student of Comparative Histology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

² Professor, Department of Basic Sciences, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

³ PhD Graduate of Comparative Histology, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran

Received: 11.03.2023

Accepted: 07.06.2023

Abstract

Microplastics as a new persistent environmental pollutant, can cross nutritional barriers and accumulate in different body tissues. However, the histological and histomorphometric effects of polystyrene microplastics on testicular tissue and their mechanisms are unclear. The present study was conducted to evaluate the effects of polystyrene microplastics on the histomorphometric parameters of testicular tissue in mice. In this study, 36 adult male NMRI mice were divided into four groups of 9 each. Three groups of mice received microplastics based on polystyrene with doses of 0.01, 0.1 and 1 mg/kg of body weight through gavage for 42 days. The control group also received 1 ml of distilled water by gavage. Testicular tissue samples were collected from mice 24 hours after the last treatment and used for histomorphometric studies. The present study showed that PS-MPs caused a significant decrease in the parameters of germinal epithelium height, diameter of spermatogenic tubules, number of Sertoli cells, number of Leydig cells, number of spermatocytes, tubular differentiation index, spermiogenesis index, repopulation index, meiosis index, and Johnson's index compared to the control group. Also, PS-MPs caused a significant increase in the parameters of testicular capsule thickness, numbers of mononuclear immune cells, and interstitial tissue thickness compared to the control group. The findings of the present study showed that the administration of PS-MPs causes extensive changes in the size and tissue structure of testicles in mice, which affects the reproductive system and ultimately causes negative effects on fertility in mice.

Key words: Microplastic, Polystyrene, Histomorphometry, Spermatogenesis, Mice

* **Corresponding Author:** Hassan Morovvati, Professor, Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine, University of Tehran, Tehran, Iran
E-mail: hmorovvati@ut.ac.ir



© 2020 by the authors. Licensee SCU, Ahvaz, Iran. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 International (CC BY-NC 4.0 license) (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).