

Research Paper

Investigation of the Effects of Different Doses of Polystyrene Microplastics on Myocardial Tissue Damage, Oxidative Stress, and Inflammation in Mice



Mahnaz Kavosi Nezhad ¹, Hassan Morovvati ^{2*}, Somayeh Zangeneh ³

1. Doctoral Student, Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine University of Tehran. Tehran, Iran.
2. Professor of Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine University of Tehran. Tehran, Iran.
3. Ph.D, Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine University of Tehran. Tehran, Iran.

Use your device to scan
and read the article online



Citation Kavosi Nezhad M, Morovvati H, , Zangeneh S. [Investigation of the Effects of Different Doses of Polystyrene Microplastics on Myocardial Tissue Damage, Oxidative Stress, and Inflammation in Mice (Persian)]. *Jundishapur Scientific Medical Journal*. 2025; 24(3):242-257. 10.32592/jsmj.24.2.114



<http://www.doi.org/10.32592/jsmj.24.2.114>

ABSTRACT

Background and Objectives The widespread prevalence of microplastic contamination in the environment has raised concerns regarding its potential effects on human and animal health. The primary objective of this study was to investigate the effects of varying doses (0.01, 0.1, and 1 mg/kg) of polystyrene microplastics on myocardial tissue damage, oxidative stress, and inflammation in mice

Subjects and Methods This randomized experimental trial included 36 male mice divided into four groups: a control group and three experimental groups receiving microplastic doses of 0.01, 0.1, and 1 mg/kg. After 42 days, heart tissue and blood serum samples were collected and subjected to histopathological, biochemical, and molecular analyses. Statistical analysis of the data was performed using one-way ANOVA and Tukey's post-hoc test in SPSS 21, and the results were reported as mean ± standard deviation (P<0.05). Graphs were generated using Excel 2017.

Results Microplastics induced structural alterations in the heart tissue, with the severity correlating to the dose. High doses (1 mg/kg) led to severe degradation of muscle fibers and extensive fibrosis. In contrast, low doses (0.01 mg/kg) caused only mild damage. Evidence of increased oxidative stress was also clear: total serum antioxidant capacity was reduced at moderate and high doses, and malondialdehyde (MDA) levels were significantly elevated (P<0.05). Furthermore, high doses significantly increased TNF-alpha gene expression (P<0.05), indicating activated inflammatory responses triggered by microplastics.

Conclusion Polystyrene microplastics can have negative effects on cardiovascular health, including increased oxidative stress and inflammation. These findings underscore the need for further research to better understand the health risks of microplastics.

Keywords Micro plastics, Heart, Polystyrene, Oxidative Stress.

Received: 31 December 2024
Accepted: 26 April 2025

* **Corresponding Author:**

Hassan Morovvati

Address: Professor of Department of Basic Science, Faculty of Veterinary Medicine University of Tehran. Tehran, Iran.

Tel: 09166182384

E-Mail: hmorovvati@ut.ac.ir

Extended Abstract

Introduction

Plastics are widely appreciated for their low cost and moisture resistance, but they present serious environmental and health issues. By 2018, global plastic waste had reached 360 million tons, with projections estimating a rise to 33 billion tons by 2055, particularly from Asian countries. As defined by Thompson in 2004, microplastics constitute a class of pollutants with dimensions typically ranging from 5 millimeters down to several micrometers. Particles with a diameter of less than 1 micrometer are further classified as nanoplastics. Microplastics are recognized by the UN in 2015 as significant environmental threats, and they are found in diverse ecosystems from oceans to polar ice. The challenges associated with microplastics are compounded by inefficient removal methods. They penetrate biological barriers and accumulate within organisms through air, water, soil, and food pathways. Health risks include lung and liver damage, with potential carcinogenic associations. In microorganisms and invertebrates, microplastics disrupt vital functions such as energy storage and photosynthesis, leading to tissue damage and increased mortality in aquatic species. Microplastics also cause oxidative stress and hormonal imbalances, with transgenerational impacts observed in zebrafish. Cardiovascular risks include extracellular matrix buildup in cardiac tissues, which may lead to heart failure. The present study focuses on the effects of polystyrene microplastics on tissue damage and inflammation in mouse heart tissue, highlighting the urgent need for strategies to mitigate plastic production and consumption.

Methods

This randomized controlled experimental trial was conducted after receiving ethical approval from the University of Tehran. It involved 36 male NMRI mice, weighing 20-25 grams, sourced from the Razi Institute's animal breeding center. The mice were housed under standard conditions, including a 12-hour light/dark cycle, a temperature of $25 \pm 2^\circ\text{C}$, and $50 \pm 10\%$ relative humidity, with free access to water and specialized pellets. All procedures adhered to the ethical guidelines of the Veterinary Faculty of the University of Tehran. Before treatment, the mice were acclimatized for two weeks and then divided into four groups of nine: a control group receiving 1 ml of distilled water, and three treatment groups receiving polystyrene-based microplastics at doses of 0.01 mg/kg, 0.1 mg/kg, and 1 mg/kg. Treatments were administered orally via gavage every 24 hours for 42 days, with doses selected based on recent studies. One day post-treatment, the mice were weighed and anesthetized with ketamine and

xylazine. Approximately 0.5 mL of blood per mouse was collected from the right ventricle and sternum using sterile syringes. After clotting, the samples were centrifuged to separate serum, which was stored at -70°C for hormonal and serum analysis. For histometric analysis, five hearts were washed, weighed, and fixed in formalin. The tissue then underwent dehydration, clearing, paraffin embedding, sectioning, and staining. Histopathological evaluation employed hematoxylin-eosin (H&E), Masson's trichrome, and periodic acid-Schiff (PAS) staining techniques. H&E staining involved deparaffinization, hydration, and staining to visualize cell nuclei and cytoplasm. Masson's trichrome differentiated muscle fibers and collagen, while PAS identified polysaccharides and mucosubstances. Biochemical assessments included total antioxidant capacity (TAC) using the FRAP method, with serum samples stored at -20°C . The FRAP solution comprised sodium acetate buffer, TPTZ, and FeCl_3 . Superoxide dismutase (SOD) activity was measured using a biochemical kit. Lipid peroxidation and malondialdehyde (MDA) levels were assessed by mixing serum samples with thiobarbituric acid (TBA) and heating, followed by centrifugation and spectrophotometric analysis at 535 nm. These systematic procedures evaluated antioxidant status and oxidative damage in serum samples. The molecular evaluation involved homogenizing 0.1 mg of heart tissue samples in 1000 microliters of Trizol. After centrifugation, the supernatant was transferred to a new microtube, followed by the addition of 1200 microliters of chloroform. The samples were incubated on ice for 15 minutes and centrifuged at 12,000 rpm for five minutes. After transferring the clear RNA-containing layer to a new microtube and mixing it with 300 μL of isopropanol, the incubation and centrifugation steps were repeated. The RNA was washed with 70% ethanol, and then dried and dissolved in 20-70 microliters of RNase-free DEPC water. RNA concentration was measured using a Nanodrop, and samples were prepared at 200 ng/ μL and stored at -20°C . For cDNA synthesis, RNA was mixed with kit components and buffer, incubated at 47°C , and then transferred to ice after enzyme activity at 85°C . After RT-PCR products' optical density was recorded, relative gene expression was calculated using the $\Delta\Delta\text{Ct}$ method. Analysis was performed using Excel and ATP Image Documentation Edit software. Specific primers were obtained from Sinagen.

Results

Polystyrene microplastics affected mouse heart tissue at three different doses. In the control group (H&E staining), the heart tissue appeared healthy and organized with clear muscle fibers. In the low-dose group, fibers remained relatively intact, but mild signs of cellular stress were evident. The medium dose showed fiber disorganization, inflammation, and cellular damage. High dose exposure resulted in disarray and loss of typical striated patterns, indicating tissue damage and cell death. These findings suggest that microplastics can induce oxidative stress and cellular damage. Figure 2 (Masson's trichrome staining) reveals increased collagen deposition and fibrosis at various doses, potentially impairing heart function. Figure 3 (Periodic Acid-Schiff staining) shows metabolic and structural changes with increased magenta staining and glycogen metabolism disruption at medium and high doses. These findings highlight the potential cardiovascular risks of microplastics and underscore the need for further research. The 42-day exposure to polystyrene microplastics significantly impacted serum antioxidant indices and oxidative stress. Total antioxidant capacity (TAC) decreased significantly with increasing microplastic doses ($p < 0.05$), although no significant difference was found between high and medium doses ($p > 0.05$). Malondialdehyde (MDA) levels, indicating lipid peroxidation, significantly increased in the microplastic-exposed groups compared to controls ($p < 0.05$). Serum superoxide dismutase (SOD) levels also decreased significantly in all microplastic groups compared to controls ($p < 0.05$), with no significant difference between high and medium doses ($p > 0.05$). These results indicate the negative effects of polystyrene microplastics on the antioxidant system and the consequent increase in oxidative stress. Tukey's test for multiple comparisons between control and various microplastic dose groups (high, medium, and low) in terms of TNF-alpha expression showed a significant difference only between the control and high-dose group ($p < 0.001$), indicating reduced TNF-alpha expression in the high-dose group. Comparisons between other groups (medium and low) with the control showed no significant differences ($p > 0.05$), confirming a significant increase in the high-dose group. Confidence intervals for significant values indicate that the observed differences in TNF-alpha expression are reliable. This analysis suggests the impact of high microplastic doses on TNF-alpha expression and potential inflammation.

Conclusion

Polystyrene microplastics negatively affect mouse heart tissue. In the control group, heart tissue was healthy and organized, but significant structural and functional changes were observed with increasing microplastic doses. Low doses showed mild cellular stress, while medium and high doses led to structural degradation and inflammation. Changes in glycogen metabolism and increased collagen deposition at medium and high doses were noted, potentially impairing heart function. Results showed increased oxidative stress and decreased total serum antioxidant capacity. Additionally, significant increases in TNF-alpha gene expression indicate inflammatory effects from microplastics. These findings emphasize the need for further

research to better understand the health risks of microplastics.

Ethical Considerations

Compliance with ethical guidelines

The present study was a randomized, controlled experimental trial approved by the University of Tehran (Ref ID: IR.UT.MED.REC.1402.036)

Funding

None.

Author's contributions

Data analysis Mahnaz Kavosi Nezhad
Supervisor Hassan Morovvati
Data analysis Somayeh Zangeneh
Data collection Mahnaz Kavosi Nezhad
Result analysis Mahnaz Kavosi Nezhad, Hassan Morovvati

Conflicts of interest

Authors declare no conflicts of interest related to this study.

Acknowledgements

None.

بررسی آثار میکروپلاستیک‌های پلی‌استایرن بر آسیب‌های بافتی و تغییرات استرس اکسیداتیو و التهاب در بافت قلب موش‌ها

مهناز کاوسی‌نژاد^۱، حسن مروتی^۲، سمیه زنگنه^۳

۱. دانشجوی دکتری، گروه علوم پایه، دانشکده دام‌پزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

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

۳. دکتری تخصصی، گروه علوم پایه، دانشکده دام‌پزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

Use your device to scan and read the article online



Citation Morovvati H, Kavosi Nezhad M, Zangeneh S. [Investigation of the Effects of Different Doses of Polystyrene Microplastics on Myocardial Tissue Damage, Oxidative Stress, and Inflammation in Mice] (Persian)]. *Jundishapur Scientific Medical Journal*. 2025; 24(3):242-257. 10.32592/jsmj.24.2.114

<http://www.doi.org/10.32592/jsmj.24.2.114>

چکیده



زمینه و هدف: شیوع آلودگی میکروپلاستیک در محیط‌زیست نگرانی‌هایی را درباره آثار بالقوه آن بر سلامت انسان و حیوانات ایجاد کرده است. هدف اصلی این پژوهش، بررسی آثار دوزهای مختلف (۰/۱، ۰/۱، ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم) میکروپلاستیک‌های پلی‌استایرن بر آسیب‌های بافتی و تغییرات استرس اکسیداتیو و التهاب در بافت قلب موش‌ها بود.

روش بررسی: در این کارآزمایی تجربی تصادفی، ۳۶ موش نر به چهار گروه تقسیم شدند؛ یک گروه کنترل و سه گروه آزمایشی که دوزهای ۰/۱، ۰/۱ و ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم میکروپلاستیک دریافت کردند. پس از ۴۲ روز، نمونه‌های بافت قلب و سرم خون جمع‌آوری شدند و تحت آزمایش‌های هیستوپاتولوژیک و بیوشیمیایی و مولکولی قرار گرفتند. تحلیل آماری داده‌ها با آزمون واریانس یک‌طرفه و تست توکی در نسخه ۲۱ نرم‌افزار اسپ‌اس‌اس انجام، و نتایج به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شد ($P < 0.05$) و نمودارها در اکسل ۲۰۱۷ رسم شدند.

یافته‌ها: نتایج نشان داد که میکروپلاستیک‌ها باعث تغییرات ساختاری در بافت قلب می‌شوند؛ به‌طوری‌که در دوزهای بالا (1 mg/kg) تخریب شدید فیبرهای عضلانی و فیبروز گسترده مشاهده شد، درحالی‌که در دوزهای پایین (0.01 mg/kg) آسیب خفیفی وجود داشت. همچنین، ظرفیت آنتی‌اکسیداتیو تام سرم در دوزهای متوسط و بالا کاهش یافت و میزان مالون‌دی‌الدهید (MDA) به‌طور معناداری افزایش یافت ($P < 0.05$)، که نشان‌دهنده افزایش استرس اکسیداتیو است. همچنین، بیان ژن فاکتور نکروزدهنده تومور آلفا در دوزهای بالا افزایش معناداری داشت ($P < 0.05$)، که حاکی از فعال شدن پاسخ‌های التهابی ناشی از میکروپلاستیک‌ها است.

نتیجه‌گیری: میکروپلاستیک‌های پلی‌استایرن می‌توانند آثار منفی بر سلامت قلب و عروق داشته باشند؛ از جمله افزایش استرس اکسیداتیو و التهاب. این یافته‌ها بر نیاز به تحقیقات بیشتر برای درک بهتر خطرهای بهداشتی میکروپلاستیک‌ها تأکید می‌کنند.

کلیدواژه‌ها: میکروپلاستیک‌ها، قلب، پلی‌استایرن، استرس اکسیداتیو

تاریخ دریافت: ۱۱ دی ۱۴۰۳

تاریخ پذیرش: ۶ اردیبهشت ۱۴۰۴

* نویسنده مسئول:

حسن مروتی

نشانی: گروه علوم پایه، دانشکده دام‌پزشکی دانشگاه تهران، تهران، ایران

تلفن: ۰۹۱۶۶۱۸۲۳۸۴

رایانامه: hmorovvati@ut.ac.ir

جندی شاپور

مقدمه

پلی‌استایرن به دلیل اندازه کوچک، به راحتی وارد سیستم‌های بیولوژیکی می‌شود و می‌تواند پراکسیداسیون لیپیدی و اختلالات متابولیکی ایجاد کند (۱۵) و بر سلول‌های کشت‌شده اثر سمی دارند و باعث ترشح فاکتورهای التهابی $TNF\alpha$, $IL-6$, $IL-1\beta$ می‌شوند. این ذرات باعث افزایش اکسیژن فعال و کاهش تولید تستوسترون می‌شوند و درمان با آنتی‌اکسیدان‌ها می‌تواند آثار سوء را کاهش دهد (۱۶). در دافنی، میکروپلاستیک‌ها باعث بلوغ زودتر و افزایش نرخ رشد می‌شوند (۱۷).

از طرفی، بیماری‌های قلبی عروقی به‌طور جدی سلامت انسان را تهدید می‌کنند و میکروپلاستیک‌ها ممکن است باعث رسوب ماتریکس خارج‌سلولی در میوکارد شوند، که منجر به نارسای قلبی می‌شود (۱۸). میکروپلاستیک پلی‌استایرن ممکن است پریکار دیت در لارو ماهی ایجاد کند و باعث آپوپتوز کاردیومیوسیت‌ها و فعال‌سازی مسیر سیگنالینگ بتا کاتین از طریق استرس اکسیداتیو شود که به فیبروز و اختلال در عملکرد قلب منجر می‌شود (۱۹). غلظت‌های محیطی میکروپلاستیک‌ها طول بدن و ضربان قلب را کاهش می‌دهند (۲۰)، اما در ماهی طلایی ضربان قلب را افزایش، و رشد و سرعت شنا را کاهش می‌دهند (۲۱). میکرو و نانوپلاستیک‌ها با گیرنده‌های بتا-آدرنرژیک تعامل دارند و باعث اختلال سیگنال‌دهی و سمیت قلبی می‌شوند (۲۲). قلب‌های در حال رشد در برابر میکرو و نانوپلاستیک‌ها آسیب‌پذیرترند و در گورخر ماهی پریکار دیت به‌عنوان شاخص سمیت قلبی مشاهده شده است (۲۳). مطالعات نشان دادند که قرار گرفتن در معرض پلی‌استایرن-میکروپلاستیک به مدت نود روز، باعث تغییرات میتوکندری و آسیب به قلب موش‌ها می‌شود (۲۴). میکروپلاستیک‌ها و نانوپلاستیک‌ها ممکن است تجمع پلاکت‌ها و ترومبوز را تحریک کنند و بر تعادل انعقادی تأثیر بگذارند (۲۵). در همسترها، پلی‌استایرن-نانوپار تیکل باعث حوادث ترومبوتیک شد (۲۶). در پلاسماهای انسان، این نانوپار تیکل‌ها به عوامل انعقادی متصل می‌شوند و تولید ترومبین را کاهش می‌دهند (۲۷). بنابراین، این مواد به‌طور بالقوه پیامدهای نامشخص و منفی بر بافت‌های بدن پستانداران و انسان‌ها در درازمدت ایجاد می‌کنند. تأثیرات منفی دیگری شامل خطر هیپوکسیک و اختلال در پارامترهای فیزیولوژیکی نیز تأیید شده است (۲۸). با وجود آثار زیان‌بار، تخلیه پلاستیک‌ها در محیط‌زیست ادامه دارد و نیاز به راه‌حل‌های اجرایی برای کاهش تولید و مصرف پلاستیک احساس می‌شود. تولید جهانی پلاستیک بیش از ۳۰۰ میلیون تن در سال است که نگرانی‌هایی درباره تأثیر آن بر محیط‌زیست و سلامت انسان ایجاد کرده است. انباشت زباله‌های پلاستیکی در بدن بسیاری از گونه‌ها مشاهده شده است و مطالعات زیست‌محیطی سمیت پلاستیک‌ها را از طریق ایجاد استرس اکسیداتیو و آثار منفی بر سیستم‌های مختلف نشان داده‌اند (۲۹). با این حال، بسیاری از جنبه‌های مربوط به رفتار و آثار میکرو و نانوپلاستیک‌ها در بدن انسان همچنان ناشناخته باقی مانده‌اند (۳۰). تأثیر پلاستیک‌ها بر سلامت انسان باعث نگرانی‌هایی شده است و با وجود شواهد موجود، نیاز به تحقیقات بیشتری در این باره احساس می‌شود. بنابراین، باتوجه‌به افزایش

پلاستیک‌ها به‌عنوان یکی از مواد پرمصرف در زندگی روزمره انسان‌ها شناخته می‌شوند و به‌سختی می‌توان کالایی را پیدا کرد که از پلاستیک ساخته نشده یا حاوی آن نباشد. با وجود مزایای فراوانی نظیر هزینه پایین، دسترسی آسان و عدم جذب رطوبت، معایب این مواد مانع آن می‌شود که بتوان آن‌ها را به‌عنوان بهترین و اصلی‌ترین ماده مورد استفاده در زندگی مدرن انتخاب کرد. براساس گزارش‌ها، حجم پلاستیک انباشته‌شده در زمین در سال ۲۰۱۸ به ۳۶۰ میلیون تن رسید (۱) و پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۵۵ به ۳۳ میلیارد تن افزایش یابد (۲). کشورهای آسیایی بیش از نیمی از پلاستیک جهان را تولید می‌کنند (۳). میکروپلاستیک‌ها، آلاینده‌های جدیدی هستند که از اواخر قرن بیستم مورد توجه قرار گرفتند و اولین بار تامپسون (۲۰۰۴) آن را نام‌گذاری کرد. این ذرات به اندازه‌های پنج میلی‌متر تا چند دهم میکرومتر اطلاق می‌شوند و ذرات کوچک‌تر از یک میکرومتر، به نانوپلاستیک‌ها معروف‌اند. در سال ۲۰۱۵، در جلسه سازمان ملل، میکروپلاستیک‌ها به‌عنوان دومین آلاینده تهدیدکننده محیط‌زیست معرفی شدند و خطرهای زیست‌محیطی آن‌ها در زنجیره غذایی تشدید می‌شود (۴). این ذرات در تمام محیط‌های آبی جهان و حتی در یخ‌های قطبی یافت می‌شوند (۵) و به دلیل عدم وجود مکانیسم مؤثر برای حذف، نگرانی‌های زیادی ایجاد کرده‌اند. قطر میکروپلاستیک‌ها تحت تأثیر عوامل محیطی می‌تواند به پنج میکرومتر یا کمتر برسد و در محیط‌های آبی با غلظت بالا یافت می‌شوند (۶). این ذرات از سدهای تغذیه‌ای عبور می‌کنند و در اندام‌ها ذخیره می‌شوند. میکروپلاستیک‌های کوچک‌تر سریع‌تر حمل می‌شوند و میکروارگانیزم‌های بیماری‌زا به آن‌ها متصل و جابه‌جا می‌شوند (۷). این مواد از طریق هوا، آب، خاک، تماس پوستی و مواد غذایی وارد بدن می‌شوند و مصرف چای کیسه‌ای هزاران ذره پلاستیکی را وارد بدن می‌کند (۸). آثار مخرب میکروپلاستیک‌ها بر ریه و کبد انسان ثابت شده است و باعث پاسخ‌های التهابی می‌شود. همچنین، آثار آن بر سرطان روده بزرگ و کبد گزارش شده است (۹). میکروپلاستیک‌ها باعث اختلال در ذخیره انرژی، فتوسنتز و رشد در میکروارگانیزم‌ها و بی‌مهرگان می‌شوند و می‌توانند تغییرات بافتی در اندام‌ها ایجاد کنند (۱۰). این مواد، در آبزیان باعث افزایش مرگ‌ومیر، کاهش وزن و آسیب‌های مختلف می‌شوند (۱۱). قرار گرفتن در معرض این مواد می‌تواند باعث آسیب‌های اکسیداتیو و اختلال در سیستم غدد درون‌ریز شود (۱۲). آثار تراریختگی شامل تغییرات فیزیولوژیکی و ظاهری در زاده‌های والدینی که در معرض این مواد بوده‌اند، به‌ویژه در ماهی زبرا، مشاهده شده است (۱۳). همچنین، مطالعات نشان داده‌اند که میکروپلاستیک‌ها، به‌ویژه پلی‌پروپیلن، پلی‌اتیلن و پلی‌استایرن که در ماسک‌های جراحی و بسته‌بندی استفاده می‌شوند و مصرف آن‌ها با شیوع کرونا افزایش یافته است، باعث ایجاد پاسخ‌های ایمنی موضعی می‌شوند و در مدفوع انسان‌های ساکن مناطق مختلف دنیا یافت شده‌اند (۱۴).

شدن خون، برای استحصال سرم، به مدت پنج دقیقه با سرعت سه هزار دور در سانتیفریوژ یخچال دار سانتیفریوژ شدند. نمونه‌های سرم جدا شده به لوله‌های اپندورف یک میلی‌لیتری منتقل، و تا زمان انجام دادن آزمایش‌های هورمونی و سرمی در دمای -70°C درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. از طرف دیگر، ۵ عدد از قلب‌ها پس از شست‌وشو با سرم فیزیولوژیک، به وسیله ترازوی دیجیتال با حساسیت 0.01 گرم توزین، و برای مطالعات هیستومتری در محلول فرمالین فیکس شدند. به منظور تهیه برش‌های پارافینی سریالی، قلب‌ها پس از تثبیت، به ترتیب وارد مراحل آب‌گیری، شفاف‌سازی، آغشتگی به پارافین، قالب‌گیری، برش بافت به صورت سریالی با ضخامت $5-7$ میکرومتر و ثابت کردن مقاطع بافتی روی لام و سپس وارد مراحل رنگ‌آمیزی شدند. در نهایت، سایر نمونه‌ها پس از شست‌وشو و توزین، به یخچال -70°C درجه سانتی‌گراد انتقال یافتند (۳۱).

ارزیابی هیستوپاتولوژیک: در مطالعات هیستوپاتولوژیک، تکنیک‌های رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین (H&E)، تری کروم ماسون و پرویدیک اسید شیف (PAS) به کار می‌روند. رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین یکی از روش‌های رایج برای تجزیه و تحلیل بافت‌ها محسوب می‌شود که در آن هسته سلول‌ها به رنگ بنفش و سیتوپلاسم به رنگ صورتی به نمایش درمی‌آید. مواد اصلی استفاده شده شامل هماتوکسیلین برای رنگ‌آمیزی ساختارهای بازوفیل و ائوزین برای مواد سیتوپلاسمی هستند. فرایند کار شامل پارافین‌زدایی و هیدراسیون با استفاده از گزلین و اتانول، سپس رنگ‌آمیزی با هماتوکسیلین و ائوزین، و در پایان شست‌وشو و تثبیت بافت است. رنگ‌آمیزی به روش تری کروم با استفاده از محلول‌های مختلف مانند هماتوکسیلین آهن Weigert و بیبریچ اسکارلت-اسید فوشین انجام می‌شود که به تفکیک فیبرهای عضلانی و کلاژن کمک می‌کند. مواد اولیه شامل محلول بوئن (فیکس کننده اختیاری)، اسید فسفومولیدیک و فسفوتنگستیک برای تمایز رنگ‌ها هستند. رنگ‌آمیزی به روش پرویدیک اسید شیف نیز برای شناسایی پلی‌ساکاریدها و مواد مخاطی به کار می‌رود و مراحل آن شامل پارافین‌زدایی، اکسیداسیون با پرویدیک اسید، غوطه‌وری در محلول Modified Lillies Schiff، شست‌وشو با آب مقطر و استفاده از سدیم بورات 0.3% درصد است. در نهایت، شفاف‌سازی با اتیل الکل و زایلین برای نمایان شدن جزئیات میسر می‌شود. این تکنیک‌ها به تفکیک و شناسایی دقیق بافت‌ها در تشخیص بالینی کمک می‌کنند (۳۲).

ارزیابی بیوشیمیایی: برای تعیین ظرفیت آنتی‌اکسیدانت تام سرم (TAC) با روش FRAP، ابتدا نمونه‌های سرم جمع‌آوری، و در دمای -20°C درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. سپس به منظور آماده‌سازی واکنش، محلول FRAP، که شامل 300 میلی‌لیتر بافر سدیم استات ($\text{pH}=3.6$)، 30 میلی‌لیتر محلول TPTZ (tris (2-pyridyl)-s-triazine) و 30 میلی‌لیتر محلول FeCl_3 (0.1 M) است، تهیه شد. برای اندازه‌گیری فعالیت سرمی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، از کیت بیوشیمی‌کال SOD استفاده شد که شامل محلول‌های بافر و معرف‌های

روزافزون آلودگی محیط‌زیست با میکروپلاستیک‌ها و احتمال تماس انسان با این مواد، بررسی آثار آن‌ها در دوزهای مختلف بر بافت‌های بدن ضروری است. مطالعه دوزهای 0.1 ، 0.1 و 1 میلی‌گرم بر کیلوگرم با هدف ارزیابی پاسخ بافتی در سطوح مواجهه مختلف و شناسایی آستانه اثرگذاری میکروپلاستیک‌ها بر قلب انجام شد. اندازه‌گیری شاخص‌های التهاب و استرس اکسیداتیو به دلیل نقش کلیدی این عوامل در آسیب‌های قلبی ناشی از عوامل محیطی و اهمیت آن‌ها در مکانیسم‌های بیماری‌زایی میکروپلاستیک‌ها در این بافت مورد توجه قرار گرفت. سؤال اصلی تحقیق این است که آیا دوزهای مختلف میکروپلاستیک‌های پلی‌استایرن می‌توانند تغییرات معناداری در شاخص‌های استرس اکسیداتیو، التهاب و آسیب بافتی قلب موش‌ها ایجاد کنند. از این رو، هدف از انجام دادن این مطالعه، بررسی آثار دوزهای مختلف (0.1 ، 0.1 و 1 میلی‌گرم بر کیلوگرم) میکروپلاستیک‌های پلی‌استایرن بر آسیب‌های بافتی و تغییرات استرس اکسیداتیو و التهاب در بافت قلب موش‌ها بود.

مطالعه حیوانی: در این مطالعه، ۳۶ سر موش نر سفید آزمایشگاهی از نژاد NMRI با وزن 20 تا 25 گرم، از مرکز پرورش حیوانات آزمایشگاهی مؤسسه سرم‌سازی رازی تهیه شد. این حیوانات تحت شرایط استاندارد شامل دوازده ساعت روشنایی و دوازده ساعت تاریکی، دمای 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی 50 ± 10 درصد در قفس‌های پلی‌اتیلنی مخصوص نگهداری موش، با دسترسی آزاد به آب آشامیدنی نگهداری شدند. تمام موش‌ها به صورت یک‌سان از پیلتهای تخصصی تغذیه می‌کردند. همه ضوابط و شرایط نگهداری رعایت، و آزمایش‌ها براساس دستورالعمل‌های مصوب کمیته اخلاق دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران انجام شد. پیش از آغاز دوره تیمار، حیوانات به مدت دو هفته برای سازگاری با شرایط جدید محیط نگهداری شدند.

گروه‌های مورد مطالعه: در این مطالعه، ۳۶ سر موش نر سفید آزمایشگاهی به طور تصادفی به چهار گروه نُه نفری تقسیم شدند: گروه کنترل (دریافت 1 میلی‌لیتر آب مقطر)، گروه دارویی با دوز 0.1 میلی‌گرم بر کیلوگرم میکروپلاستیک با پایه پلی‌استایرن، گروه دارویی با دوز 0.1 میلی‌گرم بر کیلوگرم میکروپلاستیک با پایه پلی‌استایرن، و گروه دارویی با دوز 1 میلی‌گرم بر کیلوگرم میکروپلاستیک با پایه پلی‌استایرن. درمان‌ها به مدت 42 روز و به صورت خوراکی از طریق گاواژ هر 24 ساعت تجویز شد. دوزهای انتخابی برای میکروپلاستیک با پایه پلی‌استایرن براساس مطالعات اخیر تعیین شد (۲).

فرایند نمونه‌گیری: یک روز پس از پایان دوره تیمار 42 روزه، موش‌ها با استفاده از ترازوی دقیق آزمایشگاهی در حد میلی‌گرم وزن شدند. سپس با مخلوط کتامین و زایلازین بیهوش شدند. نمونه‌های خون با استفاده از سرنگ‌های استریل از خلف زائده مانوبریوم جناغ و بطن راست قلب موش‌ها جمع‌آوری و آسان‌کشی شد. نمونه‌های خونی به طور میانگین 0.5 میلی‌لیتر از هر موش، در لوله‌های اپندورف دومیلی‌لیتری ریخته شد و پس از لخته

Gene	Primer	Length
m-TNF-a	F: CGTCGTAGCAAACCACCAAG	۲۰
	R: GAGAACCTGGGAGTAGACAAGG	۲۲
m-GAPDH	F: GAGTGTTCCTCGTCCCGTAGA	۲۲
	R: ATGGTGATGGGCTTCCCGTT	۲۰

یافته‌ها

نتایج هیستوپاتولوژیک

باتوجه به آنالیز بافت، آسیب‌های قلب موش‌ها پس از مواجهه با میکروپلاستیک‌های پلی‌استایرن، به دوز وابسته است و درجه‌بندی دارد: گروه کنترل بدون آسیب، دوز پایین (0.01 mg/kg) آسیب خفیف با اختلالات جزئی، دوز متوسط (0.1 mg/kg) آسیب متوسط با اختلال در سازمان دهی بافت و التهاب، و دوز بالا (1 mg/kg) آسیب شدید با از دست رفتن ساختار بافت و مرگ سلولی. میکروپلاستیک‌ها احتمالاً از طریق استرس اکسیداتیو، اختلال در غشای سلولی، آسیب به میتوکندری، و القای آپوپتوز باعث آسیب شدند. این یافته‌ها نشان می‌دهد که میکروپلاستیک‌های پلی‌استایرن، به‌ویژه در دوزهای بالاتر، پتانسیل ایجاد آسیب جدی در قلب را دارند و مکانیسم‌های آسیب‌زا شامل استرس اکسیداتیو و آسیب به ساختارهای سلولی هستند (شکل ۱: رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و ائوزین).

در رنگ‌آمیزی تری کروم ماسون (شکل ۲) در گروه کنترل، بافت سالم و سازمان‌یافته با فیبرهای عضلانی منظم و کلاژن طبیعی مشاهده می‌شود؛ درحالی‌که در گروه دوز کم (0.01 mg/kg)، افزایش جزئی فاصله بین فیبرها و رسوب کلاژن اولیه صورت می‌گیرد. در گروه دوز متوسط (0.1 mg/kg)، به‌هم‌ریختگی چشمگیر، افزایش فاصله بین فیبرها و فیبروز ایجاد شده است. در گروه دوز بالا (1 mg/kg)، فیبرها به‌شدت آسیب دیده و تکه‌تکه شده‌اند و فیبروز گسترده‌ای دیده می‌شود. این یافته‌ها نشان می‌دهند که قرار گرفتن در معرض میکروپلاستیک پلی‌استایرن ممکن است آسیب جدی به بافت قلب وارد کند و افزایش رسوب کلاژن در دوزهای مختلف نشان‌دهنده فیبروز است که می‌تواند عضله قلب را سفت کند و بر توانایی آن برای انقباض و شل شدن مناسب تأثیر بگذارد. به‌هم‌ریختگی فیبرهای عضلانی، به‌ویژه در دوزهای بالاتر، نشان می‌دهد که میکروپلاستیک‌ها ممکن است منجر به آسیب یا التهاب عضلانی شوند و عملکرد قلب را مختل کنند.

همچنین باتوجه به نتایج رنگ‌آمیزی پریودیک اسید شیفت در شکل ۳، در گروه کنترل، فیبرهای عضلانی سالم با رنگ قرمز یکنواخت و گلیکوژن

خاص بود. برای ارزیابی پراکسیداسیون چربی‌ها و تعیین سطح مالون‌دی‌آلدئید، نمونه‌های سرم به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد با ۱ میلی‌لیتر اسید تیوباربیتوریک (TBA) مخلوط می‌شوند. سپس مخلوط به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم قرار داده و بعد از سرد شدن، با استفاده از ساتریفیوژ (جرم چهارهزار دور در دقیقه)، رسوب جداسازی شد. در مرحله نهایی، جذب نوری بر سوپرناتانت با طول موج ۵۳۵ نانومتر اندازه‌گیری شد تا نتایج قابل تحلیل به دست آید. این مراحل به‌صورت سیستماتیک برای بررسی وضعیت آنتی‌اکسیدانی و آسیب اکسیداتیو در نمونه‌های سرم انجام شد (این ارزیابی‌ها با استفاده از کیت‌های Naxifer™-Total و Antioxidant Capacity Assay Kit-TAC (NS-15013) Nalondi™-Lipid Peroxidation Assay Kit-MDA (NS-Nasdox™-Superoxide Dismutase Assay و 15022) Kit (NS-15033) انجام شد).

ارزیابی مولکولی: ۰/۱ میلی‌گرم از نمونه‌های بافتی قلب به هزار میکرولیتر تریزاول اضافه، و به روش هموژنیزه همگن شد. مایع رویی پس از ساتریفیوژ شدن و ایجاد سه لایه، به میکروتیوب جدید منتقل شد. سپس ۱۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم اضافه شد و نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در یخ انکوبه، و در دوازده‌هزار دور به مدت پنج دقیقه ساتریفیوژ شدند. لایه رویی شفاف حاوی ریبونوکلیک اسید به میکروتیوب جدید منتقل، و ۳۰۰ میکرولیتر ایزوپروپانول به آن افزوده، و مراحل انکوباسیون و ساتریفیوژ تکرار شد. پس از شست‌وشوی ریبونوکلیک اسید با اتانول ۷۰ درصد و خشک کردن آن، به میزان ۲۰ تا ۷۰ میکرولیتر آب Rnase-free DEPC اضافه شد. غلظت ریبونوکلیک اسید با استفاده از نانودراپ اندازه‌گیری شد و نمونه‌ها با غلظت ۲۰۰ نانوگرم بر میکرولیتر تهیه، و در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند. برای سنتز cDNA، ریبونوکلیک اسید به همراه اجزای کیت و بافر مخلوط، و در دمای ۴۷ درجه سانتی‌گراد انکوبه شد. پس از اتمام فعالیت آنزیم در دمای ۸۵ درجه سانتی‌گراد، نمونه‌ها به یخ منتقل شدند. درنهایت، جذب نوری محصولات RT-PCR ثبت، و مقدار بیان نسبی ژن‌ها با روش $\Delta\Delta Ct$ محاسبه، و با استفاده از نرم‌افزارهای اکسل آنالیز شد. پرایمرهای اختصاصی برای ژن‌ها از شرکت سیناژن تهیه، و در جدول ۱ نمایش داده شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها: برای ارزیابی نرمال بودن داده‌ها، از آزمون کولموگروف-اسمیرنوف استفاده شد. سپس تجزیه و تحلیل داده‌ها با آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه و تست توکی در نرم‌افزار اسپ‌اس‌اس (نسخه ۲۱) انجام شد و داده‌ها به‌صورت میانگین \pm انحراف معیار گزارش شدند. سطح معناداری $P < 0.05$ در نظر گرفته شد و نمودارها با نرم‌افزار اکسل (نسخه ۲۰۱۷) ترسیم شدند.

دریافت کننده میکروپلاستیک، کاهش معناداری در مقایسه با گروه کنترل مشاهده شد ($p < 0.05$)، اما بین دوزهای بالا و متوسط تفاوت معناداری وجود نداشت ($p > 0.05$; شکل ۴-۲). این نتایج نشان دهنده آثار منفی میکروپلاستیک‌های پلی‌استایرن بر سیستم آنتی‌اکسیدانی و افزایش استرس اکسیداتیو در بدن است.

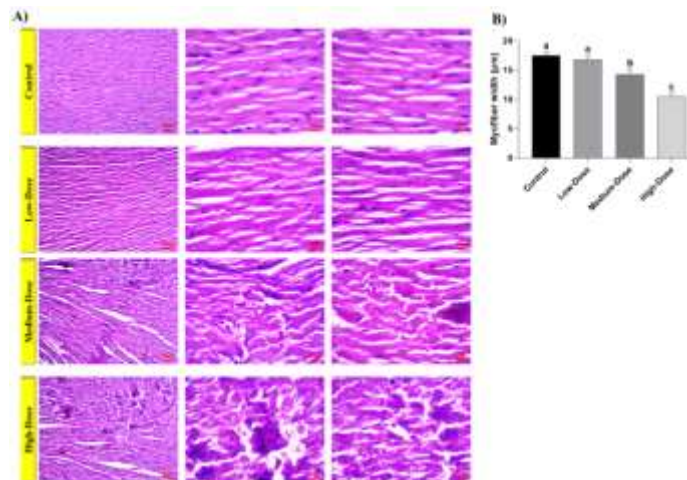
نتایج مولکولی

نتایج آزمون توکی برای مقایسه‌های چندگانه بین گروه‌های کنترل و گروه‌های مختلف دوز میکروپلاستیک (بالا، میانه و پایین) در سطح بیان نکروز دهنده تومورآلفا استفاده شده است. نتایج نشان می‌دهد که تنها تفاوت معناداری بین گروه کنترل و گروه دوز بالا وجود دارد ($p < 0.001$) که به معنای کاهش بیان TNF-alpha در گروه دوز بالا است. همچنین، مقایسه گروه‌های دیگر (گروه دوز میانه و دوز پایین) با گروه کنترل، تفاوت معناداری را نشان نمی‌دهد ($p > 0.05$)، که به‌طور هم‌زمان افزایش چشمگیر در گروه دوز بالا را تأیید می‌کند. فواصل اطمینان برای مقادیر معنادار بیانگر این است که اختلافات مشاهده شده در بیان TNF-alpha به‌طور قاطع قابل استناد هستند (شکل ۵). بنابراین، این تجزیه و تحلیل نشان دهنده تأثیر دوز بالای میکروپلاستیک بر بیان TNF-alpha و امکان ایجاد التهاب ناشی از آن است.

طبیعی مشاهده شد. در گروه دوز کم (0.01 mg/kg)، افزایش جزئی در رنگ سرخابی و فاصله بین فیبرها وجود داشت. در گروه دوز متوسط (0.1 mg/kg)، به هم ریختگی فیبرها و افزایش چشمگیر رنگ سرخابی مشاهده شد. در گروه دوز بالا (1 mg/kg)، تکه تکه شدن فیبرها و رنگ سرخابی شدید وجود داشت. این یافته‌ها نشان می‌دهند که قرار گرفتن در معرض میکروپلاستیک‌های پلی‌استایرن باعث اختلال در متابولیسم گلیکوژن و آسیب ساختاری در بافت قلب می‌شود و میزان آسیب با افزایش دوز، افزایش می‌یابد.

نتایج بیوشیمیایی

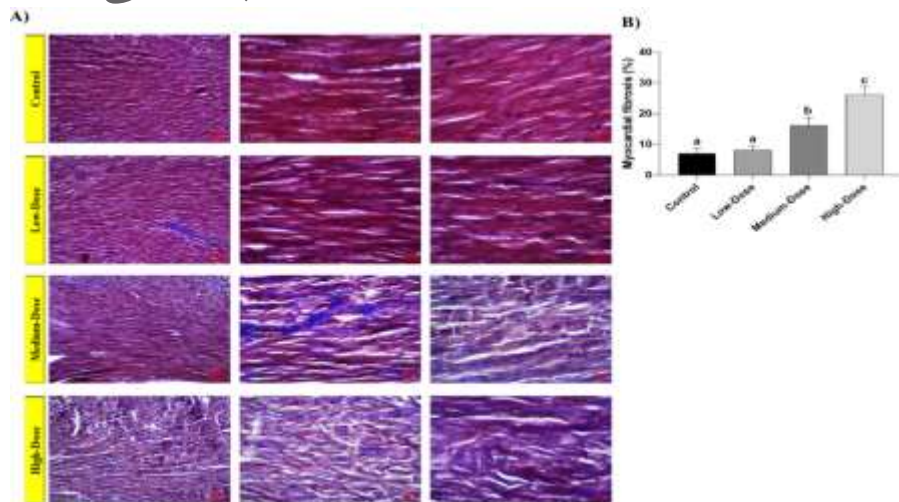
در این مطالعه، دریافت میکروپلاستیک پلی‌استایرن به مدت ۴۲ روز تأثیرات چشمگیری بر شاخص‌های آنتی‌اکسیدانی و استرس اکسیداتیو سرم داشت. ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام سرم کاهش یافت؛ به طوری که با افزایش دوز میکروپلاستیک، کاهش معناداری در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام مشاهده شد ($p < 0.05$)، اما بین دوزهای بالا و متوسط تفاوت معناداری وجود نداشت ($p > 0.05$; شکل ۴-۳). همچنین، میزان مالون‌دی‌آلدئید، که نشان دهنده لیپید پروکسیداسیون است، در گروه‌های دریافت کننده میکروپلاستیک در مقایسه با گروه کنترل، به‌طور معناداری افزایش یافت ($p < 0.05$; شکل ۴-۳). علاوه بر این، میزان سوپراکسید دیسموتاز سرمی نیز کاهش یافت؛ به طوری که در تمام گروه‌های



شکل ۱: (A) برش عرضی در بافت قلب در گروه‌های مختلف با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و انوزین

(B) اندازه قطر میکروفایبر قلب با تغییر دوز میکروپلاستیک

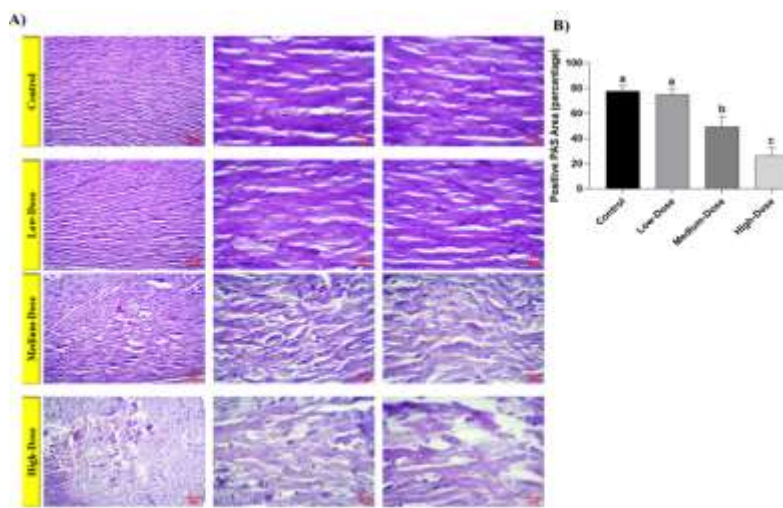
با افزایش دوز میکروپلاستیک‌ها یک پارچگی عضلات قلب دچار اختلال می‌شود. داده‌ها براساس میانگین \pm انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف لاتین غیرمشابه نشان دهنده تغییرات معنادار هستند.



شکل ۲: (A) برش عرضی از بافت قلب در گروه‌های مختلف آزمایشی مربوط به رنگ‌آمیزی تری کروم ماسون

(B) کمی‌سازی آنالیز با اندازه‌گیری میزان فیبروز

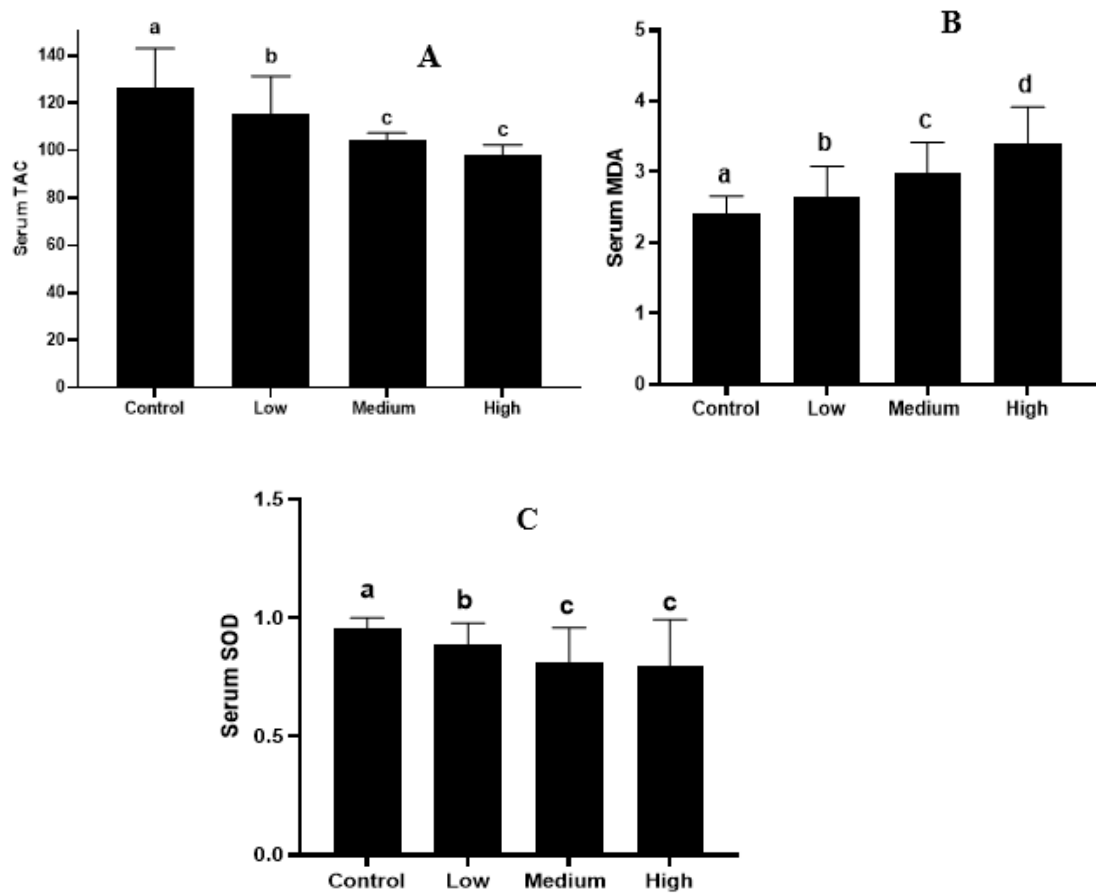
داده‌ها براساس میانگین \pm انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف لاتین غیرمشابه نشان‌دهنده تغییرات معنادار هستند.



شکل ۳: (A) نتایج حاصل از رنگ‌آمیزی پریودیک اسید شیفت

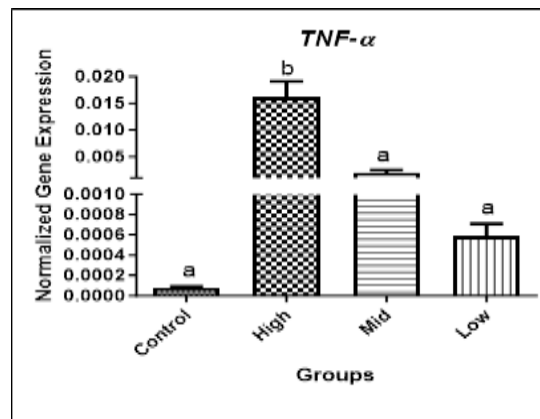
(B) کمی‌سازی آنالیز پریودیک اسید شیفت با اندازه‌گیری رنگ سرخابی

با افزایش دوز میکروپلاستیک‌ها میزان گلیکوژن افزایش می‌یابد و باعث اختلال در بافت قلب می‌شود. داده‌ها براساس میانگین \pm انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف لاتین غیرمشابه نشان‌دهنده تغییرات معنادار هستند.



شکل ۴: مقایسه میانگین (A) ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام، (B) مالون‌دی‌آلدئید و (C) سوپراکسید دیسموتاز در گروه‌های مختلف مورد مطالعه

داده‌ها براساس میانگین \pm انحراف معیار بیان شده‌اند. حروف لاتین غیرمشابه نشان‌دهنده اختلاف معنادار مابین گروه‌ها هستند.



شکل ۵: بیان ژن $TNF-\alpha$ در گروه‌های مختلف تحت تأثیر دوزهای متفاوت میکروپلاستیک

گروه‌های با حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت‌های معنادار ($p < 0.05$) هستند.

جدی شاپور

بحث

قابل مشاهده بود. این مرحله، نمایانگر فعال شدن و تشدید فرایندهای فیبروتیک، همراه با افزایش تولید کلاژن و تغییر در نسبت ایزوفرم‌های کلاژن است، که منجر به افزایش سفتی و کاهش قابلیت ارتجاعی بافت می‌شود. در گروه دوز بالا (1 mg/kg)، فیبرها به شدت آسیب دید و تکه‌تکه شد و فیبروز گسترده‌ای در سراسر بافت قلب مشاهده شد. این یافته‌ها همچنین بر تغییرات در انواع خاصی از کلاژن (I و III) تأکید دارند و می‌توانند ویژگی‌های مکانیکی بافت قلب را تحت تأثیر قرار دهند، که با نتایج مطالعه پل پونت و همکاران (۲۰۱۶) همسو بود (۳۵).

نتایج رنگ‌آمیزی اسید شیف (PAS) نیز کاهش در تجمع گلیکوژن با افزایش دوز میکروپلاستیک‌ها نشان داد. در گروه کنترل، فیبرهای عضلانی سالم با رنگ قرمز یکنواخت و میزان طبیعی گلیکوژن مشاهده شد که نشان‌دهنده متابولیسم سلولی نرمال است. در گروه دوز پایین (0.01 mg/kg)، کاهش جزئی در رنگ سرخابی و افزایش اندک در فاصله بین فیبرها مشاهده شد. این تغییرات می‌تواند نشان‌دهنده شروع تغییرات در متابولیسم سلولی به دلیل استرس اولیه باشد. در گروه دوز متوسط (0.1 mg/kg)، اختلال در آرایش فیبرها و کاهش چشمگیر رنگ سرخابی، نشان‌دهنده کاهش تجمع گلیکوژن بود. این کاهش می‌تواند ناشی از اختلال در مسیرهای سیگنالینگ سلولی مرتبط با متابولیسم گلوکز باشد، که به دلیل پاسخ‌های التهابی و استرس اکسیداتیو ایجاد می‌شود. در گروه دوز بالا (1 mg/kg)، قطعه‌قطعه شدن فیبرها و رنگ سرخابی کم، نشان‌دهنده اختلالات شدید متابولیک و کاهش بیش‌ازحد گلیکوژن است. در مطالعه لی و همکاران (۲۰۱۸) نیز اختلالات متابولیک مشابهی در کبد موش‌های در معرض میکروپلاستیک‌ها گزارش شده است (۳۶).

اندازه‌گیری سطح مالون‌دی‌آلدئید (MDA) به‌عنوان شاخصی از استرس اکسیداتیو انجام شد. نتایج نشان داد که سطح مالون‌دی‌آلدئید، که نشانگر پراکسیداسیون لیپیدی و آسیب اکسیداتیو به غشای سلولی است، در گروه‌های در معرض میکروپلاستیک‌ها به‌طور معناداری افزایش یافت. در گروه کنترل، سطح مالون‌دی‌آلدئید در محدوده طبیعی بود. در گروه دوز پایین (0.01 mg/kg)، افزایش خفیف در سطح مالون‌دی‌آلدئید مشاهده شد، که نشان‌دهنده آغاز فرایندهای اکسیداتیو است. این تغییرات، ممکن است ناشی از تولید رادیکال‌های آزاد در پاسخ به تماس اولیه با میکروپلاستیک‌ها باشد. در گروه دوز متوسط (0.1 mg/kg)، سطح مالون‌دی‌آلدئید به‌طور چشمگیری افزایش یافت، که نشان‌دهنده افزایش شدید پراکسیداسیون لیپیدی است. این افزایش، با آسیب بیشتر به غشاهای سلولی و اختلال در عملکرد سلولی همراه است. در گروه دوز بالا (1 mg/kg)، سطح مالون‌دی‌آلدئید به بالاترین حد خود رسید، که نشان‌دهنده آسیب اکسیداتیو گسترده و برگشت‌ناپذیر به سلول‌ها است. افزایش مالون‌دی‌آلدئید ممکن است به تشدید پاسخ‌های التهابی و فیبروتیک منجر شود.

این مطالعه به بررسی آثار میکروذرات پلی‌استایرن بر بافت قلب موش‌ها از منظر بافت‌شناسی، هیستومورفومتری و ایمونوهیستوشیمی پرداخته است. بررسی‌های بافتی با رنگ‌آمیزی هماتوکسیلین و اتوزین (H&E) نشان داد که میکروپلاستیک‌ها تأثیرات چشمگیری بر ساختار بافت قلب دارند. با افزایش مواجهه، اختلالات ساختاری بارزتر شد و این روند، نشان‌دهنده آسیب سلولی پیش‌رونده است. در گروه کنترل، بافت قلب معماری طبیعی خود را حفظ کرده بود و فیبرها و سلول‌های قلبی ساختار منظم و طبیعی داشتند. در گروه دوز پایین (0.01 mg/kg)، اختلالات خفیفی مشاهده شد؛ از جمله جداسازی جزئی فیبرها و تغییرات در مورفولوژی میوسیت‌ها. این تغییرات اولیه ممکن است نشان‌دهنده پاسخ‌های استرس سلولی در سطح مولکولی باشد، که بر اثر تماس اولیه با میکروپلاستیک‌ها رخ می‌دهد. در گروه دوز متوسط (0.1 mg/kg)، بافت قلب دچار ناهمگنی ساختاری بارزی شد، فاصله بین فیبرها افزایش یافت و نشانه‌های التهاب (مانند تجمع سلول‌های التهابی) دیده شد. این مرحله، نشان‌دهنده فعال شدن پاسخ‌های التهابی و شروع فرایندهای فیبروتیک است که به دلیل تحریک سیستم ایمنی توسط ذرات میکروپلاستیک ایجاد می‌شود. در گروه دوز بالا (1 mg/kg)، ساختار بافتی به شدت مختل، و فیبرها متلاشی شد و نواحی وسیعی از نکروز سلولی قابل مشاهده بود. این یافته‌ها حاکی از آن است که میکروپلاستیک‌ها عملکرد قلب را به خطر می‌اندازند و منجر به ضعف آن می‌شوند، که با یافته‌های مطالعات رایب و همکاران (۲۰۱۳) درباره آثار مضر میکروپلاستیک‌ها بر سلامت موجودات دریایی همخوانی دارد (۳۳). از طرفی، لئو و همکاران (۲۰۲۴) گزارش کردند که شناسایی میکروپلاستیک‌ها در پلاک‌های شریانی انسان، نشان‌دهنده ارتباط آن‌ها با مشکلات قلبی-عروقی نظیر حمله قلبی و سکته مغزی بوده است؛ زیرا تجمع این پلاک‌ها منجر به سفت شدن دیواره شریان‌ها و تنگ‌تر شدن مسیر داخلی آن‌ها می‌شود که در نهایت ممکن است به اختلال در جریان خون و بروز بیماری‌های قلبی-عروقی جدی منجر شود (۳۴).

رنگ‌آمیزی تری کروم ماسون برای بررسی فیبروز و رسوب کلاژن انجام شد. نتایج این رنگ‌آمیزی نشان داد که قرار گرفتن در معرض میکروپلاستیک‌ها باعث افزایش وابسته به دوز در میزان رسوب کلاژن و در نتیجه، ایجاد فیبروز در بافت قلب می‌شود. در گروه کنترل، بافت قلب ساختار طبیعی و آرایش منظمی از فیبرهای عضلانی با مقدار طبیعی کلاژن را نشان داد که نشان‌دهنده سلامت بافت است. در گروه دوز پایین (0.01 mg/kg)، افزایش جزئی در فاصله بین فیبرها و شروع رسوب کلاژن مشاهده شد. این تغییرات نشان‌دهنده آغاز فرایندهای فیبروتیک در پاسخ به استرس اولیه است که با تولید کلاژن بیشتر توسط فیبروبلاست‌ها همراه است. در گروه دوز متوسط (0.1 mg/kg)، بی‌نظمی ساختاری در بافت قلب، افزایش فاصله بین فیبرها و توسعه فیبروز

میکروپلاستیک‌ها، به‌ویژه پلی‌استایرن، به‌عنوان عوامل التهابی مهمی در درون سیستم‌های زیستی عمل می‌کنند. این موضوع نه‌تنها برای دانشمندان و محققان در زمینه علم مواد و محیط‌زیست مهم است، بلکه برای سیاست‌گذاران و مسئولان نیز ضرورت دارد که راهبردهای جدی‌تری برای کاهش آلودگی‌های ناشی از پلاستیک‌ها و میکروپلاستیک‌ها در پیش گیرند. از محدودیت‌های این تحقیق می‌توان به تعداد محدود نمونه‌ها و عدم بررسی آثار بلندمدت مصرف میکروپلاستیک‌ها بر سلامت قلب و سایر اندام‌ها اشاره کرد. همچنین، عدم ارزیابی دیگر انواع میکروپلاستیک‌ها و شرایط مختلف محیطی می‌تواند در تفسیر نتایج محدودیت‌هایی ایجاد کند. بنابراین، لزوم تحقیقات با رویکردهایی بین‌رشته‌ای به‌منظور شناسایی و تعیین آثار بلندمدت میکروپلاستیک‌ها بر سلامت انسان و اکوسیستم‌ها به‌وضوح احساس می‌شود.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که مواجهه با میکروپلاستیک‌های پلی‌استایرن آثار وابسته به دوز و مضر بر بافت قلب موش‌ها دارد. در گروه کنترل، بافت قلب ساختار طبیعی و عملکرد مناسبی را نشان داد. با افزایش دوز میکروپلاستیک‌ها، تغییرات ساختاری و عملکردی در بافت قلب مشاهده شد که شدت آن‌ها با افزایش دوز، افزایش یافت. در دوز پایین (0.01 mg/kg)، علائم خفیف استرس سلولی، از جمله تغییرات جزئی در مورفولوژی میوسیت‌ها و جداسازی جزئی فیبرهای عضلانی قلب مشاهده شد. این تغییرات، نشان‌دهنده پاسخ اولیه سلول‌ها به استرس ناشی از میکروپلاستیک‌ها است. در دوز متوسط (0.1 mg/kg)، آسیب‌های بافتی چشمگیر از جمله ناهمگونی ساختاری، افزایش فاصله بین فیبرها، التهاب و افزایش رسوب کلاژن مشاهده شد. همچنین، در این دوز، افزایش تجمع گلیکوژن و کاهش سطح سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و افزایش مالون‌دی‌آلدئید (MDA) نشان‌دهنده افزایش استرس اکسیداتیو و اختلال در متابولیسم سلولی بود. در دوز بالا (1 mg/kg)، تخریب ساختاری شدید بافت قلب، شامل نکروز وسیع سلولی، فیبروز گسترده و اختلال شدید در آرایش فیبرهای عضلانی قلب مشاهده شد. افزایش در بیان ژن TNF-alpha نیز نشان‌دهنده پاسخ التهابی قوی در این دوز است. به‌طور خلاصه، این مطالعه نشان می‌دهد که میکروپلاستیک‌های پلی‌استایرن، با مکانیسم‌هایی شامل آسیب فیزیکی، تحریک التهاب، افزایش استرس اکسیداتیو و اختلال در متابولیسم سلولی، آثار منفی وابسته به دوز بر سلامت قلب دارند. این یافته‌ها بر اهمیت انجام دادن مطالعات بیشتر برای ارزیابی کامل خطرهای بهداشتی مربوط به مواجهه با میکروپلاستیک‌ها و تعیین راهبردهای پیشگیرانه و درمانی تأکید می‌کند.

ملاحظات اخلاقی

پیروی از اصول اخلاق در پژوهش

اندازه‌گیری سطح سوپراکسید دیسموتاز (SOD) به‌عنوان آنزیم آنتی‌اکسیدانی انجام شد. نتایج نشان‌دهنده کاهش سطح سوپراکسید دیسموتاز در گروه‌های در معرض میکروپلاستیک بود. در گروه کنترل، سطح سوپراکسید دیسموتاز در محدوده طبیعی بود و دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول‌ها در حالت بهینه قرار داشت. در گروه دوز پایین (0.01 mg/kg)، کاهش جزئی در سطح سوپراکسید دیسموتاز مشاهده شد، که نشان‌دهنده شروع فرایندهای تخریب آنتی‌اکسیدانی به‌دلیل تولید رادیکال‌های آزاد است. در گروه دوز متوسط (0.1 mg/kg)، کاهش چشمگیری در سطح سوپراکسید دیسموتاز مشاهده شد، که نشان‌دهنده ضعف دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول‌ها و ناتوانی در مقابله با استرس اکسیداتیو است. در گروه دوز بالا (1 mg/kg)، سطح سوپراکسید دیسموتاز به پایین‌ترین حد خود رسید، که نشان‌دهنده از بین رفتن ظرفیت آنتی‌اکسیدانی سلول‌ها و آسیب اکسیداتیو گسترده است. این کاهش، به افزایش آسیب سلولی و تشدید آثار مضر میکروپلاستیک‌ها منجر می‌شود. در همین راستا، سان و همکاران (۲۰۲۲) در بررسی خود نشان دادند که میکروپلاستیک‌ها باعث تحریک تولید رادیکال‌های آزاد و در نتیجه، آسیب به سلول‌ها می‌شوند (۳۷). این نتایج به‌خوبی با یافته‌های موجود در این تحقیق سازگاری دارد و بر لزوم توجه بیشتر به این موضوع تأکید می‌کند.

بیان ژن TNF-alpha به‌عنوان یک سیتوکین التهابی، اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که بیان TNF-alpha با افزایش دوز میکروپلاستیک‌ها افزایش می‌یابد. در گروه کنترل، بیان TNF-alpha در سطح پایه و طبیعی بود، که نشان‌دهنده عدم وجود پاسخ التهابی فعال است. در گروه دوز پایین (0.01 mg/kg)، افزایش خفیف در بیان TNF-alpha مشاهده شد، که نشان‌دهنده آغاز التهاب در پاسخ به تحریک اولیه میکروپلاستیک‌ها است. در گروه دوز متوسط (0.1 mg/kg)، بیان TNF-alpha به‌طور چشمگیری افزایش یافت، که نشان‌دهنده فعال شدن پاسخ‌های التهابی و تجمع سلول‌های ایمنی در بافت است. این پاسخ التهابی ممکن است به آسیب بافتی بیشتر و تشدید فرایندهای فیبروتیک منجر شود. در گروه دوز بالا (1 mg/kg)، بیان TNF-alpha به بالاترین حد خود رسید، که نشان‌دهنده پاسخ التهابی شدید و آسیب بافتی گسترده است. این پاسخ التهابی شدید ممکن است باعث تضعیف عملکرد قلب و افزایش خطر نارسایی قلبی شود (۳۸). در همین راستا، مطالعات دیگری نشان می‌دهند که آثار التهابی ناشی از این ذرات ممکن است به تشدید عوارض مرتبط با بیماری‌های مختلف منجر شود (۳۹). مطالعات پستان‌ی و همکاران (۲۰۲۲) حاکی از آن است که میکروپلاستیک‌ها باعث افزایش پاسخ التهابی در دریاچه‌ها و اقیانوس‌ها می‌شوند و این امر به‌نوبه خود عواقب جدی برای اکوسیستم دریایی و زنجیره غذایی انسان دارد (۴۰). سوشاری و همکاران (۲۰۲۰) نیز گزارش کردند که میکروپلاستیک‌ها در زنجیره غذایی قرار گرفته‌اند و به موجودات زمینی و دریایی منتقل می‌شوند و بدین ترتیب تأثیرات منفی آن‌ها به محیط‌زیست بازمی‌گردد (۴۱). بنابراین، نتایج این بررسی به‌وضوح نشان می‌دهد که

این مطالعه، از نوع کارآزمایی تجربی تصادفی است که تاییدیه اخلاق پژوهشی با کد IR.UT.MED.REC.1402.036 را از دانشگاه تهران دارد.

حامی مالی

این مطالعه، حامی مالی ندارد.

مشارکت نویسندگان

در این پژوهش، هر سه نویسنده به این صورت مشارکت داشتند:

تحلیل داده‌ها: مهناز کاوسی نژاد؛

سرپرست: حسن مروتی؛

تحلیل داده‌ها: سمیه زنگنه؛

جمع‌آوری داده‌ها: مهناز کاوسی نژاد؛

تجزیه و تحلیل نتایج: مهناز کاوسی نژاد و حسن مروتی.

تعارض منافع

در این مطالعه، هیچ‌گونه تعارض منافی وجود نداشت.

تشکر و قدردانی

با تشکر از دکتر مروتی بابت راهنمایی و هدایت این تحقیق

References

- [1] Zhang C, Wang J, Zhou A, Ye Q, Feng Y, Wang Z, Wang S, Xu G, Zou J. Species-specific effect of microplastics on fish embryos and observation of toxicity kinetics in larvae. *Journal of hazardous materials*. 2021 Feb 5;403:123948. [[10.1016/j.jhazmat.2020.123948](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.123948)] [[PMID](#)]
- [2] Hou B, Wang F, Liu T, Wang Z. Reproductive toxicity of polystyrene microplastics: In vivo experimental study on testicular toxicity in mice. *Journal of hazardous materials*. 2021 Mar 5;405:124028. [[10.1016/j.jhazmat.2020.124028](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124028)] [[PMID](#)]
- [3] Chen CY, Lu TH, Yang YF, Liao CM. Toxicokinetic/toxicodynamic-based risk assessment of freshwater fish health posed by microplastics at environmentally relevant concentrations. *Science of the Total Environment*. 2021 Feb 20;756:144013. [[10.1016/j.scitotenv.2020.144013](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144013)] [[PMID](#)]
- [4] Andrady AL. The plastic in microplastics: A review. *Marine pollution bulletin*. 2017 Jun 15;119(1):12-22. [[10.1016/j.marpolbul.2017.01.082](https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2017.01.082)] [[PMID](#)]
- [5] Preston-Whyte F, Silburn B, Meakins B, Bakir A, Pillay K, Worship M, Paruk S, Mdazuka Y, Mooi G, Harmer R, Doran D. Meso-and microplastics monitoring in harbour environments: A case study for the Port of Durban, South Africa. *Marine pollution bulletin*. 2021 Feb 1;163:111948. [[10.1016/j.marpolbul.2020.111948](https://doi.org/10.1016/j.marpolbul.2020.111948)] [[PMID](#)]
- [6] Deng Y, Yan Z, Shen R, Huang Y, Ren H, Zhang Y. Enhanced reproductive toxicities induced by phthalates contaminated microplastics in male mice (*Mus musculus*). *Journal of hazardous materials*. 2021 Mar 15;406:124644. [[10.1016/j.jhazmat.2020.124644](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.124644)] [[PMID](#)]
- [7] Liu Z, Qin Q, Hu Z, Yan L, Jeong UI, Xu Y. Adsorption of chlorophenols on polyethylene terephthalate microplastics from aqueous environments: Kinetics, mechanisms and influencing factors. *Environmental Pollution*. 2020 Oct 1;265:114926. [[10.1016/j.envpol.2020.114926](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.114926)] [[PMID](#)]
- [8] Hernandez LM, Xu EG, Larsson HC, Tahara R, Maisuria VB, Tufenkji N. Plastic teabags release billions of microparticles and nanoparticles into tea. *Environmental science & technology*. 2019 Sep 25;53(21):12300-10. [[10.1021/acs.est.9b02540](https://doi.org/10.1021/acs.est.9b02540)] [[PMID](#)]
- [9] Zarus GM, Muianga C, Hunter CM, Pappas RS. A review of data for quantifying human exposures to micro and nanoplastics and potential health risks. *Science of the Total Environment*. 2021 Feb 20;756:144010. [[10.1016/j.scitotenv.2020.144010](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.144010)] [[PMID](#)]
- [10] Hariharan G, Purvaja R, Anandavelu I, Robin RS, Ramesh R. Accumulation and ecotoxicological risk of weathered polyethylene (wPE) microplastics on green mussel (*Perna viridis*). *Ecotoxicology and environmental safety*. 2021 Jan 15;208:111765. [[10.1016/j.ecoenv.2020.111765](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111765)] [[PMID](#)]
- [11] Wu B, Wu X, Liu S, Wang Z, Chen L. Size-dependent effects of polystyrene microplastics on cytotoxicity and efflux pump inhibition in human Caco-2 cells. *Chemosphere*. 2019 Apr 1;221:333-41. [[10.1016/j.chemosphere.2019.01.056](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.01.056)] [[PMID](#)]
- [12] Wang J, Li Y, Lu L, Zheng M, Zhang X, Tian H, Wang W, Ru S. Polystyrene microplastics cause tissue damages, sex-specific reproductive disruption and transgenerational effects in marine medaka (*Oryzias melastigma*). *Environmental Pollution*. 2019 Nov 1;254:113024. [[10.1016/j.envpol.2019.113024](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2019.113024)] [[PMID](#)]
- [13] da Costa Araújo AP, de Melo NF, de Oliveira Junior AG, Rodrigues FP, Fernandes T, de Andrade Vieira JE, Rocha TL, Malafaia G. How much are microplastics harmful to the health of amphibians? A study with pristine polyethylene microplastics and *Physalaemus cuvieri*. *Journal of hazardous materials*. 2020 Jan 15;382:121066. [[10.1016/j.jhazmat.2019.121066](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2019.121066)] [[PMID](#)]
- [14] Nugnes R, Lavorgna M, Orlo E, Russo C, Isidori M. Toxic impact of polystyrene microplastic particles in freshwater organisms. *Chemosphere*. 2022 Jul 1;299:134373. [[10.1016/j.chemosphere.2022.134373](https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.134373)] [[PMID](#)]
- [15] Zheng H, Wang J, Wei X, Chang L, Liu S. Proinflammatory properties and lipid disturbance of polystyrene microplastics in the livers of mice with acute colitis. *Science of the Total Environment*. 2021 Jan 1;750:143085. [[10.1016/j.scitotenv.2020.143085](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.143085)] [[PMID](#)]
- [16] Xie X, Deng T, Duan J, Xie J, Yuan J, Chen M. Exposure to polystyrene microplastics causes reproductive toxicity through oxidative stress and activation of the p38 MAPK signaling pathway. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2020 Mar 1;190:110133. [[10.1016/j.ecoenv.2019.110133](https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2019.110133)] [[PMID](#)]
- [17] Chang M, Zhang C, Li M, Dong J, Li C, Liu J, Verheyen J, Stoks R. Warming, temperature fluctuations and thermal evolution change the effects of microplastics at an environmentally relevant concentration. *Environmental Pollution*. 2022 Jan 1;292:118363. [[10.1016/j.envpol.2021.118363](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118363)] [[PMID](#)]
- [18] Li L, Zhao Q, Kong W. Extracellular matrix remodeling and cardiac fibrosis. *Matrix biology*. 2018 Aug 1;68:490-506. [[10.1016/j.matbio.2018.01.013](https://doi.org/10.1016/j.matbio.2018.01.013)] [[PMID](#)]
- [19] Li L, Zhao Q, Kong W. Extracellular matrix remodeling and cardiac fibrosis. *Matrix biology*. 2018 Aug 1;68:490-506. [[10.1016/j.matbio.2018.01.013](https://doi.org/10.1016/j.matbio.2018.01.013)] [[PMID](#)]
- [20] Prata JC, Venâncio C, Girão AV, da Costa JP, Lopes I, Duarte AC, Rocha-Santos T. Effects of virgin and weathered polystyrene and polypropylene microplastics on *Raphidocelis subcapitata* and embryos of *Danio rerio* under environmental concentrations. *Science of the Total Environment*. 2025 Feb 1;925:171452. [[10.1016/j.scitotenv.2024.171452](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2024.171452)] [[PMID](#)]

- Total Environment. 2022 Apr 10;816:151642. [[10.1016/j.scitotenv.2021.151642](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.151642)] [PMID]
- [21] Yang H, Xiong H, Mi K, Xue W, Wei W, Zhang Y. Toxicity comparison of nano-sized and micron-sized microplastics to Goldfish *Carassius auratus* Larvae. Journal of hazardous materials. 2020 Apr 15;388:122058. [[10.1016/j.jhazmat.2020.122058](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2020.122058)] [PMID]
- [22] Yong CQ, Valiyaveetil S, Tang BL. Toxicity of microplastics and nanoplastics in mammalian systems. International journal of environmental research and public health. 2020 Feb 26;17(05):1509. [[10.3390/ijerph17051509](https://doi.org/10.3390/ijerph17051509)] [PMID]
- [23] Bhagat J, Zang L, Nakayama H, Nishimura N, Shimada Y. Effects of nanoplastic on toxicity of azole fungicides (ketoconazole and fluconazole) in zebrafish embryos. Science of The Total Environment. 2021 Dec 15;800:149463. [[10.1016/j.scitotenv.2021.149463](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149463)] [PMID]
- [24] Wei J, Wang X, Liu Q, Zhou N, Zhu S, Li Z, Li X, Yao J, Zhang L. The impact of polystyrene microplastics on cardiomyocytes pyroptosis through NLRP3/Caspase-1 signaling pathway and oxidative stress in Wistar rats. Environmental toxicology. 2021 May;36(5):935-44. [[10.1002/tox.23095](https://doi.org/10.1002/tox.23095)] [PMID]
- [25] Lett Z, Hall A, Skidmore S, Alves NJ. Environmental microplastic and nanoplastic: Exposure routes and effects on coagulation and the cardiovascular system. Environmental Pollution. 2021 Dec 15;291:118190. [[10.1016/j.envpol.2021.118190](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118190)] [PMID]
- [26] Nemmar A, Hoylaerts MF, Hoet PH, Dinsdale D, Smith T, Xu H, Vermeylen J, Nemery B. Ultrafine particles affect experimental thrombosis in an in vivo hamster model. American journal of respiratory and critical care medicine. 2002 Oct 1;166(7):998-1004. [[10.1164/rccm.200110-026OC](https://doi.org/10.1164/rccm.200110-026OC)] [PMID]
- [27] Oslakovic C, Cedervall T, Linse S, Dahlbäck B. Polystyrene nanoparticles affecting blood coagulation. Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine. 2012 Aug 1;8(6):981-6. [[10.1016/j.nano.2011.12.001](https://doi.org/10.1016/j.nano.2011.12.001)] [PMID]
- [28] Zhang R, Wang M, Chen X, Yang C, Wu L. Combined toxicity of microplastics and cadmium on the zebrafish embryos (*Danio rerio*). Science of The Total Environment. 2020 Nov 15;743:140638. [[10.1016/j.scitotenv.2020.140638](https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140638)] [PMID]
- [29] Alimba CG, Faggio C. Microplastics in the marine environment: Current trends in environmental pollution and mechanisms of toxicological profile. Environmental toxicology and pharmacology. 2019 May 1;68:61-74. [[10.1016/j.etap.2019.03.001](https://doi.org/10.1016/j.etap.2019.03.001)] [PMID]
- [30] SAPEA, S., Science advice for policy by European academies. A Scientific Perspective on Microplastics in Nature and Society, 2019.
- [31] Zhang DM, Guo ZX, Zhao YL, Wang QJ, Gao YS, Yu T, Chen YK, Chen XM, Wang GQ. 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. 2019 Oct 1;93:1100-10. [[10.1016/j.fsi.2019.08.041](https://doi.org/10.1016/j.fsi.2019.08.041)] [PMID]
- [32] Renshaw S. Immunohistochemistry and immunocytochemistry. Immunohistochemistry and immunocytochemistry: essential methods. 2017 Jan 24:35-102.
- [33] Wright SL, Rowe D, Thompson RC, Galloway TS. Microplastic ingestion decreases energy reserves in marine worms. Current Biology. 2013 Dec 2;23(23):R1031-3. [[10.1016/j.cub.2013.10.068](https://doi.org/10.1016/j.cub.2013.10.068)] [PMID]
- [34] Liu S, Wang C, Yang Y, Du Z, Li L, Zhang M, Ni S, Yue Z, Yang K, Wang Y, Li X. Microplastics in three types of human arteries detected by pyrolysis-gas chromatography/mass spectrometry (Py-GC/MS). Journal of Hazardous Materials. 2024 May 5;469:133855. [[10.1016/j.jhazmat.2024.133855](https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2024.133855)] [PMID]
- [35] Paul-Pont I, Lacroix C, Fernández CG, Hégaret H, Lambert C, Le Goïc N, Frère L, Cassone AL, Sussarellu R, Fabioux C, Guyomarch J. Exposure of marine mussels *Mytilus* spp. to polystyrene microplastics: toxicity and influence on fluoranthene bioaccumulation. Environmental pollution. 2016 Sep 1;216:724-37. [[10.1016/j.envpol.2016.06.039](https://doi.org/10.1016/j.envpol.2016.06.039)] [PMID]
- [36] Li J, Liu H, Chen JP. Microplastics in freshwater systems: A review on occurrence, environmental effects, and methods for microplastics detection. Water research. 2018 Jun 15;137:362-74. [[10.1016/j.watres.2017.12.056](https://doi.org/10.1016/j.watres.2017.12.056)] [PMID]
- [37] Sun T, Ji C, Li F, Shan X, Wu H. The legacy effect of microplastics on aquatic animals in the depuration phase: Kinetic characteristics and recovery potential. Environment international. 2022 Oct 1;168:107467. [[10.1016/j.envint.2022.107467](https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107467)] [PMID]
- [38] Browne MA, Crump P, Niven SJ, Teuten E, Tonkin A, Galloway T, Thompson R. Accumulation of microplastic on shorelines worldwide: sources and sinks. Environmental science & technology. 2011 Nov 1;45(21):9175-9. [[10.1021/es201811s](https://doi.org/10.1021/es201811s)] [PMID]
- [39] Pourebrahimi S, Pirooz M. Microplastic pollution in the marine environment: A review. Journal of Hazardous Materials Advances. 2023 May 1;10:100327.
- [40] Pisani XG, Lompré JS, Pires A, Greco LL. Plastics in scene: A review of the effect of plastics in aquatic crustaceans. Environmental research. 2022 Sep 1;212:113484. [[10.1016/j.envres.2022.113484](https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.113484)] [PMID]
- [41] Thushari GG, Senevirathna JD. Plastic pollution in the marine environment. Heliyon. 2020 Aug 1;6(8). [[10.1016/j.heliyon.2020.e04709](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e04709)] [PMID]

Authors retain the copyright and full publishing rights.

Published by [ahvaz_jundishapur_university_of_medical_science](#). This article is an open access article licensed under the Creative Commons Attribution-NonCommercial 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>).

