

“Research article”

DOI: 10.30495/JVCP.2022.1942072.1330

Effect of Astaxanthin on testicular damage induced by Cadmium chloride in adult male Wistar rats

Hafez-Amini, M.¹, Eidi, A.², Mortazavi, P.^{3*}, Sotoodehnejad nematalahi, F.⁴

1- PhD Graduate, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

2- Professor, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

3- Associate Professor, Department of Pathology, Faculty of Specialized Veterinary Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

4- Assistant Professor, Department of Biology, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran.

*Corresponding author's email: sp.mortazavi@gmail.com

(Received: 2021/12/20 Accepted: 2022/4/11)

Abstract

The protective role of Astaxanthin on human health, including the prevention of cardiovascular diseases and cellular aging, points out the very strong antioxidant properties of this substance. Cadmium is a pollutant present in the ecosystems. This heavy metal acts as a toxin on the reproductive system and destroys the process of spermatogenesis in testicular tissue. The aim of this study was to evaluate the effect of Astaxanthin on Cadmium chloride induced testicular damage in adult male Wistar rats. For this purpose, 45 rats were randomly divided into 9 groups. The healthy control group did not receive any treatment. The control group received physiological saline solution and the infertile control group received cadmium chloride (1 mg/kg body weight) by intraperitoneal injection. Three other groups were given Astaxanthin (5, 10 and 20 mg/kg body weight) by gavage and the remaining 3 groups received simultaneous cadmium chloride and Astaxanthin (5, 10 and 20 mg/kg) also by gavage. Testicular tissue homogenates were used as test samples to measure oxidative stress parameters. The designated parameters were analyzed by photometric method with ELISA reader and microplate reader. The results showed that Astaxanthin (10 and 20 mg/kg body weight) increased the antioxidant enzymes SOD, GPX and CAT and decreased MDA. Thus, Astaxanthin may act as an antioxidant in protecting the rat testis against oxidative stress induced by cadmium chloride.

Conflict of interest: None declared.

Keywords: Astaxanthin, Cadmium chloride, Oxidative stress, Testicular injury, Rat.

اثر آستاگزانتین بر آسیب القاء‌شده توسط کلرید کادمیوم در بیضه موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار

مهوش حافظ‌امینی^۱، اکرم عیدی^۲، سیدپژمان مرتضوی^{۳*}، فتاح ستوده‌نژاد نعمت‌الهی^۴

۱- دانش‌آموخته دکترای تخصصی فیزیولوژی، گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۲- استاد گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۳- دانشیار گروه پاتولوژی، دانشکده دامپزشکی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

۴- استادیار گروه زیست‌شناسی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

* نویسنده مسئول مکاتبات: sp.mortazavi@gmail.com

(دریافت مقاله: ۱۴۰۰/۹/۲۹ پذیرش نهایی: ۱۴۰۱/۱/۲۲)

چکیده

نقش حفاظتی آستاگزانتین بر سلامتی انسان، از جمله پیشگیری از بیماری‌های قلبی-عروقی و جلوگیری از روند پیرشدن سلول‌ها، اشاره به خاصیت آنتی‌اکسیدانی بسیار قوی این ماده دارد. کادمیوم یکی از آلاینده‌های موجود در اکوسیستم‌ها است. این فلز سنگین به عنوان یک توکسین بر سیستم تولیدمثل اثر گذاشته و سبب تخریب روند اسپرماتوزن در بافت بیضه می‌شود. هدف مطالعه حاضر، بررسی تأثیر آستاگزانتین بر آسیب بیضه‌ای القاء‌شده توسط کلرید کادمیوم در موش صحرایی بود. بدین منظور، تعداد ۴۵ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به صورت تصادفی به ۹ گروه تقسیم شدند. گروه کنترل سالم هیچ‌گونه تیماری دریافت نکرد. گروه شاهد، سرم فیزیولوژی، گروه کنترل ناباور، کلرید کادمیوم (به میزان ۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن) به صورت تزریق درون صفاقی، ۳ گروه آستاگزانتین را با دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن و ۳ گروه هم‌زمان کلرید کادمیوم و آستاگزانتین را با دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم به صورت گاوآژ دریافت کردند. از هموژنات بافت بیضه جهت سنجش پارامترهای استرس اکسیداتیو، به‌عنوان نمونه‌های آزمون استفاده شد. پارامترهای مورد نظر به روش فتومتریک با دستگاه الیزا ریدر و میکروپلیت ریدر بررسی شد. آستاگزانتین با مقادیر ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن، موجب افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و کاتالاز و همچنین کاهش میزان مالون‌دی‌آلدئید شد ($p < 0.01$). بنابراین، آستاگزانتین احتمالاً به عنوان یک آنتی‌اکسیدان در محافظت از بیضه موش صحرایی در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از کلرید کادمیوم عمل می‌کند.

کلیدواژه‌ها: آستاگزانتین، کلرید کادمیوم، آسیب، بیضه، موش صحرایی.

مقدمه

عملکرد اسپرم در مردان مبتلا به ناباروری را نشان می‌دهد. استرس اکسیداتیو نمایانگر عدم توازن میان رادیکال‌های فعال اکسیژن (ROS) و سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی بدن بوده و می‌تواند باعث اختلال در مکانیسم طبیعی سیگنال‌های سلولی شود. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (superoxide dismutase; SOD)، آنزیمی است که پاک‌سازی رادیکال‌های سوپراکسید (O_2^-) یا هیدروژن پراکسید (H_2O_2) را انجام می‌دهد. آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، گلوتاتیون پراکسیداز (glutathione peroxidase; GPX) و کاتالاز (catalase; CAT) با جلوگیری از تشکیل رادیکال‌های آزاد و افزایش دفاع آنتی‌اکسیدانی با آسیب ایجاد شده مقابله می‌کنند (Rasulifar and Zargari, 2015).

به‌علاوه، اسپرم‌ها به دلیل داشتن غلظت بالایی از اسیدهای چرب اشباع و سیستم آنتی‌اکسیدانی ضعیف در معرض صدمات اکسیداتیو می‌باشند (Mohammadnejad *et al.*, 2013). گونه‌های فعال اکسیژن ایجاد شده به‌وسیله مسمومیت‌زایی کادمیوم، باعث آسیب‌های اکسیداتیو و تغییر عملکرد دیواره سلولی در بافت‌ها می‌شوند. آنتی‌اکسیدان‌های مختلف با انسداد مسیرهای اکسیداتیو و کاهش تولید رادیکال‌های آزاد، نقش مهمی در برگرداندن آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از مسمومیت کادمیوم را دارند (Fatahian *et al.*, 2020).

با بررسی اثرات عصاره آبی مرزنجوش و ویتامین C در کنترل آسیب بیضه‌ای، براساس گزارش‌ها آستاگزانتین می‌تواند استرس اکسیداتیو را بهبود بخشد (Wu *et al.*, 2002). همچنین گزارش شده که در میان کاروتنوئیدهای مختلف (به‌عنوان مثال بتا کاروتنوئید)،

در دهه‌های اخیر شیوع ناباروری در انسان افزایش یافته که تاحدی به دلیل افزایش قرارگرفتن در معرض عوامل مضر می‌باشد (Ahmadie *et al.*, 2018; Rafiei *et al.*, 2018). شواهد و مدارک نشان می‌دهد که میزان ناباروری مردان در مقایسه با ناباروری زنان بالاتر است (Ibrahim *et al.*, 2008). مواجهه با آلاینده‌ها و استرس‌های جسمی باعث افزایش ناباروری می‌شود (Zalata *et al.*, 1995).

آستاگزانتین (Astaxanthin) عضوی از خانواده کاروتنوئیدها است که به خاطر شکل مولکولی خود دارای خواص شیمیایی منحصر به فردی است. این ترکیب دارای دو گروه کربونیل، دو گروه هیدروکسیل و ۱۱ پیوند دوگانه اتیلنی است. حضور گروه هیدروکسیل و کتونی بر روی حلقه‌های یونی موجب ایجاد خواصی از جمله قابلیت استری شدن و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتر، حلالیت در چربی و ماهیت قطبی بیشتر آستاگزانتین نسبت به سایر کاروتنوئیدها می‌شود (Borowitzka, 1999). در میان کاروتنوئیدهای یافت شده در ریزجلبک‌ها و غذاهای دریایی (ماهی سالمون و میگو)، آستاگزانتین دارای بیشترین فعالیت آنتی‌اکسیدانی است (Yan *et al.*, 2016). اثرات آستاگزانتین از طریق چندین مکانیسم مانند مهار اکسیژن آزاد از طریق ایجاد پیوندهای دوگانه، مهار پراکسیداسیون لیپید و سرکوب فاکتور هسته‌ای-کاپا بتا (nuclear factor kappa beta, NF- κ B) اعمال می‌شود (Jiang *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2017).

شواهد و مدارک، نقش محوری گونه‌های اکسیژن فعال (reactive oxygen species; ROS) در ایجاد اختلال در

افزایش (lipid peroxidation) LPO و ناباروری می‌شود (Siu et al., 2009; Alkhedaide et al., 2016). اثر آسیب تولیدمثلی کادمیوم در مطالعات متعدد در دهه‌های اخیر در مورد موجوداتی نظیر ماهی (Acosta et al., 2016; Zhang), موش صحرائی (Sayed et al., 2014; Zhang), انسان (Li et al., 2016), پرندگان (Massanyi et al., 2008) و گاو (Tvrda et al., 2012; Tvrda et al., 2013) مورد توجه قرار گرفته‌است. بیشتر تحقیقات مذکور بر استراتژی‌های اصلاح آسیب‌های بیضه متمرکز هستند. استفاده از آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند سولفورافان (Yang et al., 2016) کوئرستین و کاتچین (Jamalan et al., 2016)، کوانزیم Q₁₀ و ویتامین E (Ognjanovic et al., 2010)، از جمله استراتژی‌ها برای کاهش آسیب بیضه ناشی از کادمیوم و بهبود بازیابی اسپرم‌های منجمدشده، هستند. آنتی‌اکسیدان‌های مختلف با کاهش سطح MDA، از سلول‌ها در برابر سمیت کادمیوم محافظت می‌کنند (Tandon et al., 2003). با توجه به اهمیت موارد ذکرشده، مطالعه حاضر نقش محافظتی آستاگزانتین بر آسیب القاءشده توسط کلرید کادمیوم در بیضه موش صحرائی نر را مورد بررسی قرار داده‌است.

مواد و روش‌ها

مطالعه حاضر از نوع تجربی آزمایشگاهی می‌باشد و در مجتمع آزمایشگاهی زکریای رازی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران در پاییز ۱۳۹۹ انجام گرفته است. تعداد ۴۵ سر موش صحرائی نر بالغ نژاد ویستار با محدوده وزنی 20 ± 220 گرم از مرکز تکثیر و پرورش

به‌ویژه آستاگزانتین در از بین‌بردن اکسیژن آزاد، نسبتاً مفیدتر است (Fukuzawa, 2000). نشان داده شده‌است که اثرات فعالیت آنتی‌اکسیدانی آستاگزانتین ۱۰ برابر لوئتین، کانتاگزانتین و بتاکاروتن می‌باشد. آستاگزانتین در بسیاری از مطالعات برای بهبود کیفیت اسپرم مورد استفاده قرار گرفته است (Mansour et al., 2006; Vahidinia et al., 2017). طی مطالعات جدید و معتبر، عناصری مانند آرسنیک و کادمیوم و همچنین ترکیباتی نظیر سیکلوفسفامید و دیازینون را موجب کاهش میزان تولیدمثل و آسیب به بافت‌های بدن دانسته‌اند. میزان بالای مصرف کادمیوم، بیش از حد سطح استاندارد، تأثیر سوء قابل توجهی بر سرعت رشد نیز دارد (Amara et al., 2008). اما اثرات سمی آن بر بافت‌ها و اندام‌ها یکسان نبوده و در درجه اول در اندام‌های حساس مانند کبد، کلیه، تخمدان و به‌ویژه بیضه دیده می‌شود (Orisakwe, 2014). یکی از دلایل عمده کاهش باروری و افت عملکرد بیضه در مردان طی دهه‌های اخیر را آلودگی آنان به کادمیوم از طریق آب و غذا می‌دانند (Siu et al., 2009). کادمیوم را به‌عنوان یکی از عوامل کارسینوژن طبقه‌بندی کرده‌اند (Thompson et al., 2008). همچنین کادمیوم از طریق آسیب میتوکندریایی موجب افزایش گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر (ROS) و در نتیجه عدم توازن بین رادیکال‌های آزاد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی طبیعی شده و باعث تولید استرس اکسیداتیو می‌شود. تجمع ROS با کاهش تعداد اسپرم و کاهش تحرک اسپرم ارتباط مستقیم دارد (Farhangdoost et al., 2013). کادمیوم منجر به تخریب سد خونی-بیضه‌ای، آپوپتوز سلول‌های زایا، تورم بیضه، خونریزی، نکروز،

داخل صفاقی کلرید کادمیوم به میزان ۱ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، نابارور گردیدند و روزانه آستاگزانتین را به ترتیب با دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، به صورت خوراکی دریافت نمودند.

تیمار حیوانات ۳۰ روز به طول انجامید و در روز آخر، همه موش‌ها پس از وزن‌کشی، با استفاده از کلروفورم (محصول شرکت بیسموت) آسان‌کشی شدند. در ادامه جهت اندازه‌گیری میزان پارامترهای استرس اکسیداتیو که شامل SOD (superoxide dismutase)، CAT، GPx (glutathione peroxidase) و MDA (malondialdehyde) بود، هموژنات بافت بیضه تهیه گردید و پس از سانتریفیوژ کردن (350 IVD, Centric Slovenia) به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۴۰۰۰ در دقیقه، از محلول سطح‌رویی حاصله به‌عنوان نمونه آزمون، استفاده شد (Jamshidi *et al.*, 2016). لازم به ذکر است که برای سنجش پارامترهای مذکور با روش فتومتریک و در طول موج‌های متفاوت، از کیت‌های سنجش شرکت آلمانی ZellBio (ZellBio GmbH, Deutschland) و میکروپلیت‌های مربوطه استفاده شد و نتایج قرائت گردید و سطح هر کدام از پارامترها، بر اساس فرمول ارائه شده توسط شرکت مذکور، محاسبه و ثبت گردید.

- تحلیل آماری داده‌ها: داده‌های به‌دست آمده کمی، به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد ارائه و اختلاف معنی‌دار بین گروه‌ها توسط آزمون آنالیز واریانس یک‌طرفه (one-way ANOVA) و آزمون تعقیبی توکی (Tukey) بررسی گردید. ملاک استنتاج آماری هم $p < 0.05$ در نظر گرفته شد و توسط نرم‌افزار آماری SPSS-۲۱ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

حیوانات آزمایشگاهی دانشکده دامپزشکی دانشگاه تهران تهیه شدند. پس از انتقال موش‌ها به محل نگهداری حیوانات، به‌منظور پرهیز از استرس و سازگار شدن حیوانات با محیط جدید، هیچ‌گونه آزمایشی به مدت یک هفته روی موش‌ها انجام نشد. حیوانات در محیطی با دمای 25 ± 2 درجه سلسیوس و دوره‌های متوالی ۱۲ ساعته روشنایی و تاریکی نگهداری شده و آب و غذای مناسب (کنسانتره) به اندازه کافی در دسترس آن‌ها قرار گرفت.

در ادامه موش‌های مورد آزمایش به‌طور تصادفی به ۹ گروه مساوی به شرح زیر تقسیم شدند:

گروه اول به‌عنوان کنترل سالم، شامل حیوانات دست‌نخورده بود که فقط آب مقطر بصورت خوراکی دریافت کردند.

گروه دوم به‌عنوان گروه شاهد که حیوانات این گروه سرم فیزیولوژی به میزان ۰/۲ میلی لیتر تزریق درون صفاقی دریافت کردند.

گروه‌های سوم الی پنجم به‌عنوان گروه‌های تجربی سالم، شامل موش‌های سالمی بودند که روزانه آستاگزانتین (محصول شرکت آمریکایی nutrex Hawaii)، را به ترتیب با دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن، به صورت خوراکی دریافت نمودند.

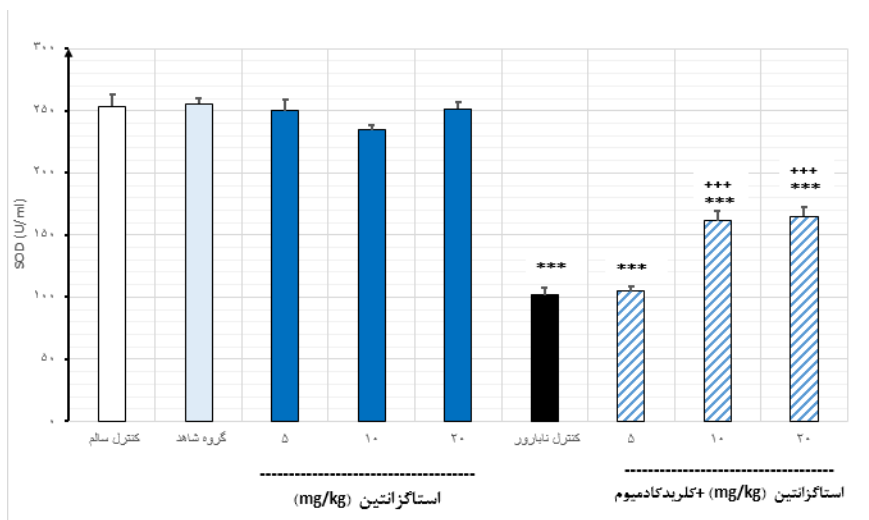
گروه ششم به‌عنوان کنترل نابارور که القاء ناباروری در حیوانات این گروه با تزریق داخل صفاقی کلرید کادمیوم (محصول شرکت مرک آلمان) به میزان ۱ میلی گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، انجام گرفت.

گروه‌های هفتم الی نهم به‌عنوان گروه‌های تجربی نابارور، شامل موش‌هایی بودند که با تزریق

یافته‌ها

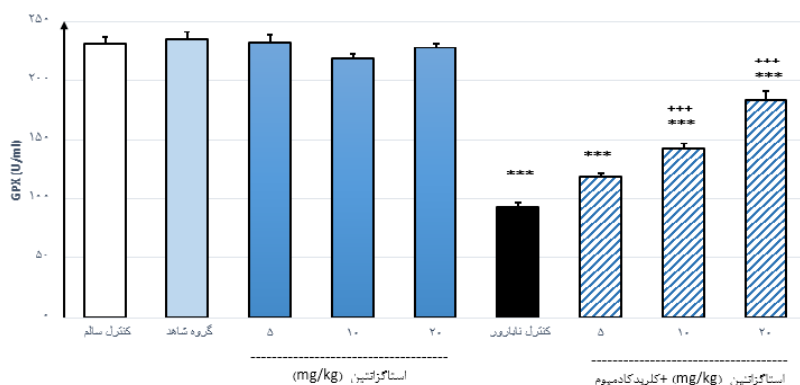
براساس نتایج ارائه‌شده در نمودارهای ۱ تا ۴، ملاحظه می‌گردد که تزریق کلرید کادمیوم به میزان ۱ میلی‌گرم به ازای هر کیلوگرم وزن بدن، موجب کاهش میزان آنزیم‌های SOD، GPX و CAT و نیز افزایش میزان MDA در نمونه‌های بافت بیضه موش‌های گروه کنترل نابارور نسبت به گروه کنترل سالم شده‌است ($p < 0/001$). همچنین تیمار با آستاگزانتین در دوزهای ۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، تغییر

معنی‌داری در میزان آنزیم‌های SOD، GPX و CAT در نمونه‌های بافت بیضه حیوانات گروه‌های تجربی سالم نسبت به گروه کنترل سالم ایجاد نکرده‌است. درحالی‌که تیمار آستاگزانتین همزمان با کلرید کادمیوم در دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، منجر به افزایش معنی‌دار آنزیم‌های SOD، GPX و CAT در نمونه‌های بافت بیضه موش‌های گروه‌های تجربی نابارور در مقایسه با گروه کنترل نابارور گردیده است ($p < 0/001$).

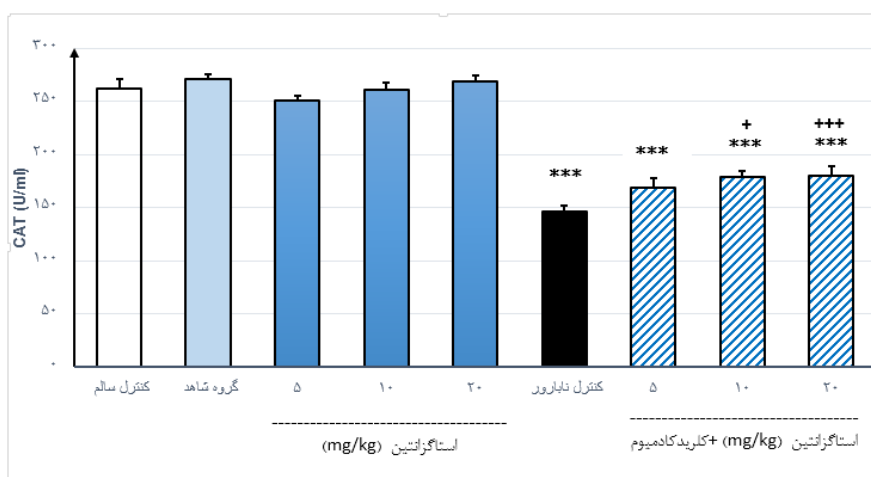


نمودار ۱ - اثر آستاگزانتین بر میزان SOD در آسیب بیضه‌ای القاء‌شده توسط کلرید کادمیوم در موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار. مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد برای تعداد ۵ سر موش ارائه شده‌است.

+++ اختلاف آماری معنی‌دار از گروه کنترل نابارور را نشان می‌دهد ($p < 0/001$).



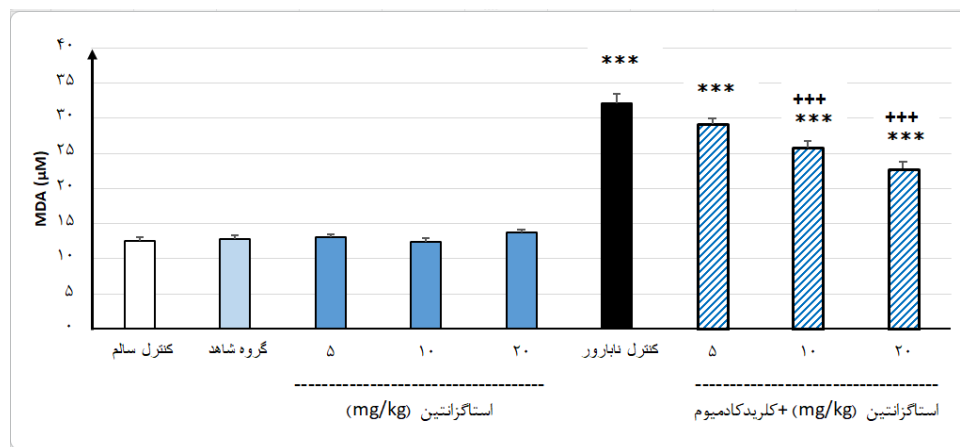
نمودار ۲ - اثر آستاگزانتین بر میزان GPX در آسیب بیضه‌ای القاء شده توسط کلرید کادمیوم در موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار. مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد برای تعداد ۵ سر موش ارائه شده است. +++ اختلاف آماری معنی‌دار از گروه کنترل نابارور را نشان می‌دهد ($p < 0.001$).



نمودار ۳ - اثر آستاگزانتین بر میزان CAT در آسیب بیضه‌ای القاء شده توسط کلرید کادمیوم در موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار. مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد برای تعداد ۵ سر موش ارائه شده است. ***: اختلاف آماری معنی‌دار از گروه کنترل سالم را نشان می‌دهد ($p < 0.001$). +++: اختلاف آماری معنی‌دار از گروه کنترل نابارور را نشان می‌دهد ($p < 0.001$). +: اختلاف آماری معنی‌دار از گروه کنترل نابارور را نشان می‌دهد ($p < 0.05$).

به کاهش معنی‌دار MDA در نمونه‌های بافت بیضه موش‌های گروه‌های تجربی نابارور در مقایسه با گروه کنترل نابارور شده است ($p < 0.001$).

همچنین نتایج ارائه شده در نمودار ۴ نشان می‌دهد که تیمار آستاگزانتین همزمان با کلرید کادمیوم در دوزهای ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، منجر



نمودار ۴ - اثر آستاگزانتین بر میزان MDA در آسیب بیضه‌ای القاء شده توسط کلرید کادمیوم در موش‌های صحرایی نر بالغ نژاد ویستار. مقادیر به صورت میانگین \pm انحراف استاندارد برای تعداد ۵ سر موش ارائه شده است.
 ***: اختلاف آماری معنی‌دار از گروه کنترل سالم را نشان می‌دهد ($p < 0.001$).
 +++: اختلاف آماری معنی‌دار از گروه کنترل نابارور را نشان می‌دهد ($p < 0.001$).

بحث و نتیجه‌گیری

همچنین دفاع آنتی‌اکسیدانی معیوب با پراکسیداسیون لیپیدی بالاتر در بیضه موش‌های مربوط به گروه‌های تحت تجویز کلرید کادمیوم، باعث آسیب بیضه شده است (نمودارهای ۱ تا ۴). در این خصوص گزارش شده که کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (CAT، SOD و GPx) و افزایش MDA به دنبال قرار گرفتن در معرض کلرید کادمیوم منجر به افزایش استرس اکسیداتیو در بافت بیضه می‌گردد (Heidari Khoei *et al.*, 2018a). همچنان که وایزبرگ و همکاران در سال ۲۰۰۳ اعلام کردند با افزایش استرس اکسیداتیو، کلرید کادمیوم باعث آسیب بیضه می‌شود و باروری مردان را مختل می‌کند (Waisberg *et al.*, 2003). سطوح پایین ROS در طی عملکرد عادی بیضه‌ها تولید می‌شود و نقش مهمی در عملکرد بیضه‌ها و بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی از جمله ظرفیت‌یابی، فعالیت بالا و ادغام اسپرم - تخمک ایفا می‌کند و بسته به غلظت و موقعیت آن‌ها، ROS می‌تواند مسیرهای بقا یا آپوپتوز را فعال

پژوهش حاضر این سؤال را مطرح کرد که آیا درمان با آستاگزانتین می‌تواند آسیب بیضه ناشی از کلرید کادمیوم را کاهش دهد؟ بر اساس نتایج فوق، میزان آنزیم‌های CAT، GPx و SOD پس از درمان با آستاگزانتین، به‌طور معنی‌داری نسبت به گروه‌های درمان نشده افزایش نشان داد (نمودارهای ۱ تا ۳) و به همین ترتیب، میزان MDA نیز کاهش معنی‌داری در گروه‌های دریافت‌کننده آستاگزانتین ایجاد کرده است (نمودار ۴). در مطالعه حاضر، اثر حفاظتی آستاگزانتین بر عملکرد باروری تحت تأثیر کلرید کادمیوم در موش‌های صحرایی نر بر اساس بهبود فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی بیضه، نشان داد که قرار گرفتن در معرض کلرید کادمیوم باعث کاهش معنی‌داری در مشخصه اکسیدان/آنتی‌اکسیدان موش‌ها و افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در بیضه آنها می‌شود (نمودارهای ۱ تا ۴).

حاضر نیز کاهش میزان آنزیم‌های CAT، GPx و SOD و افزایش میزان MDA را به دنبال مصرف کلرید کادمیوم، تأیید می‌کند (نمودارهای ۱ تا ۴). احتمالاً می‌توان آسیب بیضه ناشی از کلرید کادمیوم را به رقابت کلرید کادمیوم با عنصر روی (Zn) در آنزیم‌های حاوی عنصر مذکور و کاهش فعالیت آنزیم‌های خاص بیضه نسبت داد (Verbost, et al., 1988; Caslino, et al., 1997). به طوری که کادمیوم محل عنصر روی را در مولکول SOD-CU-ZN اشغال کرده و باعث غیرفعال شدن این آنزیم می‌گردد (Bauer et al., 1980) و این امر، باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های SOD و GPx (Kara et al., 2007) و همچنین کاهش میزان گلوکوتایون پراکسیداز (Koyuturk et al., 2006) در بیضه‌ها می‌شود. از طرف دیگر، با توجه به این که غشاء پلاسمایی اسپرم سرشار از اسیدهای چرب غیراشباع بوده و بنابراین به پراکسیداسیون لیپیدها حساس می‌باشد و این امر خود، باعث از بین رفتن سلامت غشاء و کاهش تحرک اسپرم می‌شود (Dhankhar et al., 2012) و از طرف دیگر، آنتی‌اکسیدان‌ها اثرات قابل توجهی بر اسپرماتوزن، کارکرد زیستی و استرس اکسیداتیو اسپرم دارند (Gharagozloo et al., 2011). لذا در مطالعات مختلف هم نشان داده شده که مصرف آنتی‌اکسیدان‌های مختلف می‌تواند اثرات مخرب ناشی از کادمیوم را در بیضه‌ها تا حدود زیادی کاهش دهد (Sen Gupta et al., 2004; Koyuturk et al., 2006; Amara et al., 2008; Ognjanovic et al., 2010). بدین ترتیب به نظر می‌رسد که استفاده از آستاگزانتین، مطابق یافته‌های تحقیق حاضر (نمودارهای ۱ تا ۴)، در کنترل استرس اکسیداتیو می‌تواند مؤثر باشد. در این مورد هم اشاره شده که آستاگزانتین متعلق به گروه ترکیبات کاروتنوئیدی است

کند (Aitken, 1997; Gil-Guzman et al., 2001; Agarwal et al., 2014; Asghari et al., 2016). از آنجا که غشاء پلاسمایی اسپرم محتوی سطوح بالای اسیدهای چرب غیراشباع و سیتوپلاسم اسپرم حاوی سطوح پایین آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی / غیر آنزیمی است، سطوح بالای ROS می‌تواند برای عملکردهای اسپرم مضر باشد (Alvarez et al., 1987; Agarwal et al., 2005; Baninameh et al., 2016; Kadivar et al., 2017; Hassanpour et al., 2016). با این وجود، بافت بیضه‌ای محتوی مجموعه‌ای پیچیده از سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی / غیر آنزیمی و از بین برنده‌های رادیکال آزاد است که از اثرات مضر ROS محافظت می‌کند (Aprioku, 2013; Asadi, 2017; Heidari, 2018b). با این حال، مشخص شده که کلرید کادمیوم باعث مختل کردن تعادل پراکسیدان / آنتی‌اکسیدان و ایجاد وضعیت استرس اکسیداتیو ناشی از افزایش رادیکال‌های آزاد می‌شود و در نتیجه، نقش کلیدی در پاتوژنز آسیب بافتی ایفا می‌کند (Heidari, 2018b). ثابت شده است کادمیوم باعث افزایش معنی‌دار غلظت مالون‌دی‌آلدئید و کاهش معنی‌دار در فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، گلوکوتایون پراکسیداز و کاتالاز در بیضه‌ها می‌گردد. علاوه بر این، افزایش رادیکال‌های آزاد متعاقب مصرف کادمیوم باعث مهار فعالیت استروئیدسازی از جمله تستوسترون در بیضه‌ها می‌شود (Ognjanovic et al., 2010). از طرف دیگر، گزارش شده که تجویز کادمیوم باعث افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن و نیز میزان MDA (به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدی) و همچنین کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی GPx و SOD می‌شود (Sen Gupta et al., 2004). نتایج پژوهش

می‌تواند رادیکال‌ها را در قسمت‌های بیرونی و داخلی غشای سلولی از بین ببرد (Goto *et al.*, 2001). جیانگ و همکاران در سال ۲۰۱۶ و ژو و همکاران نیز در سال ۲۰۱۷ اعلام کردند که آستاگزانتین، مکانیسم مهار اکسیژن آزاد را از طریق پیوندهای دوگانه متصل شده، مهار پراکسیداسیون لیپید و سرکوب فاکتور هسته‌ای کاپا B² (NF-KB) اعمال می‌کند (Jiang *et al.*, 2016; Zhou *et al.*, 2017). بر این اساس، آستاگزانتین یک آنتی‌اکسیدان عالی است که بافت بیضه را در برابر آسیب رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند. در مطالعاتی که توسط حیدری خوئی و همکاران و دوکوماسیوگلو و همکاران به صورت جداگانه در سال ۲۰۱۸ انجام شده در توافق با نتایج تحقیق حاضر، درمان با آستاگزانتین افزایش معنی‌داری در میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و فعالیت آنزیم کاتالاز و نیز کاهش قابل توجه سطح مالون‌دی‌آلدئید، نسبت به گروه‌های تحت آسیب بیضه‌ای، ایجاد کرده است (Dokumacioglu *et al.*, 2018; Heidari Khoei *et al.*, 2018b). همچنین وانگ و همکاران در سال ۲۰۱۵ دریافتند که آستاگزانتین، ROS تولیدشده توسط سلول‌های سرتولی را کاهش می‌دهد. علاوه بر این، آستاگزانتین از استروئیدوزنز در برابر استرس اکسیداتیو ناشی از پراکسید هیدروژن در سلول‌های لایدیگ موش محافظت می‌کند و باعث بهبود آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌گردد (Wang *et al.*, 2015). محمدی روشنده و همکاران در سال ۲۰۱۵، ادعا کردند که آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند ویتامین‌های E و C و آستاگزانتین به حفظ شایستگی عملکردی اسپرم‌های در معرض حمله اکسیداتیو کمک می‌کنند و از DNA اسپرم در برابر آسیب اکسیداتیو از طریق آنتی‌اکسیدان‌ها

و دارای زنجیره پلین می‌باشد که می‌تواند رادیکال‌های آزاد را متلاشی کند و با تشکیل یک سپر محافظ در سطح سلولی، از آن‌ها محافظت نماید. این ویژگی به دلیل ساختار شیمیایی و خاصیت آنتی‌اکسیدانی آن می‌باشد (Dhankhar *et al.*, 2012) و از این نظر، توانایی آستاگزانتین حدود ۱۰ برابر بیشتر از دیگر کاروتنوئیدها می‌باشد (Naguib, 2000; Wolf *et al.*, 2010) و لذا قادر است که شکل طبیعی و زنده ماندن اسپرم و یکپارچگی DNA را بهبود بخشد (Bahmanzadeh *et al.*, 2016) و به این دلیل، برای کاهش ناباروری ایدیوپاتیک مردان با بهبود عملکرد اسپرم بیمار، مورد استفاده قرار می‌گیرد (Andrisani *et al.*, 2015). با این حال، علی‌رغم قابلیت برجسته آستاگزانتین در از بین بردن رادیکال‌های آزاد، اثر محافظتی آن در آسیب بیضه‌ای ناشی از کلرید کادمیوم ناشناخته باقی مانده است. یافته‌های کید و همکاران در سال ۲۰۱۱، نشان داد که پیش‌درمان با آستاگزانتین به طور معنی‌داری سطوح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند SOD و CAT را که معمولاً برای ارزیابی وضعیت اکسیدانی / آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌شوند، افزایش و تجویز آستاگزانتین همچنین سطح MDA (یک نشانگر پراکسیداسیون لیپیدی) در بافت بیضه را کاهش داده است. نامبردگان بیان کرده‌اند که احتمالاً این نتایج به دلیل ساختار شیمیایی منحصر به فرد با حلقه‌های انتهایی قطبی آن و همچنین توانایی ویژه آستاگزانتین برای پوشش دو لایه غشای سلولی است (Kidd, 2011). زنجیره پلین (پلین زنجیره‌ای متشکل از ۹-۱۱ پیوند دو تایی) آستاگزانتین در غشای داخلی، رادیکال‌ها را به دام می‌اندازد، در حالی که حلقه انتهایی آستاگزانتین

ناشی از کلرید کادمیوم شود، به طوری که باعث افزایش معنی دار آنزیم‌های CAT، GPx و SOD و کاهش MDA می‌شود. بدین ترتیب، درمان آستاگزانتین ممکن است وضعیت باروری مردان را با جلوگیری از استرس اکسیداتیو بهبود بخشد. با این حال، علی‌رغم ایمنی و قابلیت برجسته آستاگزانتین در از بین بردن رادیکال‌های آزاد، چون اثر محافظتی آستاگزانتین در آسیب بیضه‌ای ناشی از کلرید کادمیوم ناشناخته باقی مانده، لذا مطالعات بیشتر برای بررسی مکانیسم مولکولی آستاگزانتین مورد نیاز می‌باشد.

سپاسگزاری

تحقیق حاضر در گروه زیست‌شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران و با همکاری مرکز تحقیقات رازی و دانشکده دامپزشکی واحد علوم و تحقیقات صورت گرفت. نویسندگان مقاله حاضر، بدین وسیله از معاونت تحقیقات و فناوری این دانشگاه، سپاسگزاری صمیمانه خود را ابراز می‌دارند.

تعارض منافع

نویسندگان اعلام می‌دارند که هیچ‌گونه تضاد منافی ندارند.

حفاظت می‌کنند (Mohammadi Roushandeh *et al.*, 2015). چندین مطالعه دیگر نیز اثر مثبت آستاگزانتین به‌عنوان آنتی‌اکسیدان مؤثر بر آسیب اسپرم را اثبات کرده‌اند (Tripathi and Jena, 2008; Mortazavi *et al.*, 2014). مطالعه اشرفی‌زاده در سال ۲۰۱۹ نیز نشان داد که آستاگزانتین می‌تواند به بهبود میزان استرس اکسیداتیو، به‌ویژه در حذف اکسیژن آزاد، در برابر سمیت ناشی از نیکوتین، عمل نماید (Ashrafizadeh and Ahmadi, 2019). در تأیید مطالب بالا، رسولی‌فر و همکاران در سال ۲۰۱۵ بیان کردند که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تقویت سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی باعث کاهش استرس اکسیداتیو می‌گردد (Rasulifar *et al.*, 2015). قویدل و همکاران در سال ۱۳۹۵، نشان دادند که تزریق نانوذرات نقره در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن، باعث کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و گلووتاتیون پراکسیداز می‌گردد (ghavidel *et al.*, 2016).

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که کلرید کادمیوم (۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) از طریق آسیب اکسیداتیو در باروری مردان اختلال ایجاد می‌کند. بنابراین می‌توان عنوان کرد تجویز آستاگزانتین (۵، ۱۰ و ۲۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) احتمالاً بتواند باعث اثر حفاظتی در اسپرم‌ها در برابر استرس اکسیداتیو

منابع

- Ahmadi, Z. and Ashrafizadeh, M. (2018). Downregulation of osteocalcin gene in chickens treated with lead acetate II. *International Biological and Biomedical Journal*, 4(4): 177-182.
- Acosta, I.B., Junior, A.S.V., EF, E.S., Cardoso, T.F., Caldas, J.S., Jardim, R.D., *et al.* (2016). Effects of exposure to cadmium in sperm cells of zebrafish. *Toxicology Reports*, 3(1): 696-700.
- Agarwal, A., Prabakaran, S. and Said, T. (2005). Prevention of oxidative stress injury to sperm. *Journal of Andrology*, 26(6): 654-660.
- Agarwal, A., Virk, G., Ong, C. and Du Plessis, S. (2014). Effect of oxidative stress on male reproduction. *The World Journal of Men's Health*, 32(1): 1-17.
- Aitken, R.J. (1997). Molecular mechanisms regulating human sperm function. *Molecular Human Reproduction*, 3(3): 169-173.
- Andrisani, A., Dona, G., Tibaldi, E., Maria Brunati, A., Sabbadin, C.H., Armanini, D., *et al.* (2015). Astaxanthin improves human sperm capacitation by inducing lyn displacement and activation. *Marine Drugs*, 13(9): 5533-5551.
- Alkhedaide, A., Alshehri, Z.S., Sabry, A., Abdel-Ghaffar, T., Soliman, M.M. and Attia. H. (2016). Protective effect of grape seed extract against cadmium-induced testicular dysfunction. *Molecular Medicine Reports*, 13(4): 3101-3109.
- Alvarez, J.G., Touchtone, J., Touchstone J.C., Blasco, L. and Storey, B. (1987). Spontaneous lipid peroxidation and production of hydrogen peroxide and superoxide in human spermatozoa superoxide dismutase as major enzyme protectant against oxygen toxicity. *Journal of Andrology*, 8(5): 338-348.
- Amara, S., Abdelmelek, H., Garrel, C., Guiraud, P., Douki, T., Ravanat, J.L., *et al.* (2008). Preventive effect of zinc against cadmium-induced oxidative stress in the rat testis. *Development & Reproduction*, 54(2): 129-134.
- Aprioku, J.S., (2013). Pharmacology of free radicals and the impact of reactive oxygen species on the testis. *Journal of Reproduction and Infertility*, 14(4): 158-172.
- Asadi, N. (2017). The impact of oxidative stress on testicular function and the role of antioxidants in improving it: a review. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR*, 11(5): 1-5.
- Asghari, M.H., Moloudizargari, M., Bahadar, H. and Abdollahi, M. (2016). A review of the protective effect of melatonin in pesticide-induced toxicity. *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology*, 13(5): 545-554.
- Ashrafizadeh, M. and Ahmadi, Z. (2019). Effect of Astaxanthin treatment on the sperm quality of the mice treated with nicotine. *Reviews in Clinical Medicine*, 6(1): 1-5.
- Bahmanzadeh, M., Vahidnia, A., Mahdinejadi, S.H., Shokri, S. and Alizadeh, Z. (2016). Dietary supplementation with astaxanthin may ameliorate sperm parameters and DNA integrity in streptozotocin-induced diabetic rats. *Clinical and Experimental Reproductive Medicine*, 43(2): 90-96.
- Baninameh, Z., Moloudizargari, M., Ghasemnejad Berenji, H., Rezaie Chamani, S., Hassanzadeh, V., Ferrante, M., *et al.* (2016). Urtica dioica attenuate effect of doxorubicin-induced changes on sperm parameters in the mice. *International Journal of Medical Research and Health Sciences*, 5(11): 116-121.
- Bauer, R., Demeter, I., Hasemann, V. and Johansen, J.T. (1980). Structural properties of the zinc site in Cu,Znsuperoxide dismutase; perturbed angular correlation of gamma ray spectroscopy on the Cu, 111Cd-superoxide dismutase derivative. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 94(4): 1296-1302.
- Borowitzka, M.A. (1999). Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermentors. *Journal of Biotechnology*, 70(1): 313-321.

- Caslino, E., Sblano, C. and Landriscina, C. (1997). Enzyme activity alteration by cadmium administration to rats: the possibility of iron involvement in lipid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 346(2): 171-179.
- Dhankhar, J., Kadiad, S. and Sharma, A. (2012). Astaxanthin: A potential carotenoid. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(5): 1246.
- Dokumacioglu, E., Iskender, H., Yenice, G., Kapakin, K.A.T., Sevim, C., Hayirli, A., *et al.* (2018). Effects of astaxanthin on biochemical and histopathological parameters related to oxidative stress on testes of rats on high fructose regime. *Andrologia*, 50(7): 1-10.
- Farhangdoost, F., JafariBarmak, M., Hemayatkhah Jahromi, V., Azizi, A., Mahmoodi, R., *et al.* (2013). Aloe vera extract effect on sperm quality and testicular tissue of rats induced by cadmium chloride. *Armaghane-Danesh*, 19(1): 47-55.
- Fatahian Dehkordi, R., Alijani, M.R., Rahimi Junqani, R. and Bahadoran, Sh. (2020). The effects of pomegranate skin extract and powder on renal tissue structure following experimental cadmium poisoning in Japanese quail. *Veterinary Clinical Pathology*, 14(53): 37-50. [In Persian]
- Fukuzawa, K. (2000). Singlet oxygen scavenging in phospholipid membranes. *Methods in Enzymology*, 319(10): 101-110.
- Gharagozloo, P. and Aitken, R.J. (2011). The role of sperm oxidative stress in male infertility and the significance of oral antioxidant therapy. *Human Reproduction*, 26(7): 1628-1640.
- Ghavidel Aghdam, E., Narimani Rad, M. and Lotfi, A. (2016). Effects of silver nanoparticles synthesized through chemical reduction on plasma superoxide dismutase and glutathione peroxidase enzymes in rat model. *Journal of Veterinary Clinical Pathology*, 10(37): 69-80. [In Persian]
- Gil-Guzman, E., Ollero, M., Lopez, M.C., Sharma, R.K., Alvarez, J.G., Thomas, Jr, A.J., *et al.* (2001). Differential production of reactive oxygen species by subsets of human spermatozoa at different stages of maturation. *Human Reproduction*, 16(9): 1922-1930.
- Goto, S., Kogure, K., Abe, K., Kimata, Y., Kitahama, K., Yamashita, E., *et al.* (2001). Efficient radical trapping at the surface and inside the phospholipid membrane is responsible for highly potent antiperoxidative activity of the carotenoid astaxanthin. *Biochemical and Biophysical Acta (BBA)-Biomembranes*, 1512(2): 251-258.
- Hassanpour, H., Bigham Sadegh, A., Karimi, I., Heidari Khoei, H., Karimi, A., Edalati Shaarbaf, P., *et al.* (2017). Comparative expression analysis of HSP70, HSP90, IL-4, TNF, KITLG and KIT-receptor gene between varicocele-induced and non-varicocele testes of dog. *International Journal of Fertility and Sterility*, 11(3): 148-155.
- Heidari Khoei, H., Fakhri, S., Parvardeh, S., Shams Mofarahe, Z., Baninameh, Z. and Vardiani, M. (2018a). Astaxanthin prevents the methotrexate-induced reproductive toxicity by targeting oxidative stress in male mice. *Toxin Reviews*, 38(4): 1-7.
- Heidari Khoei, H., Fakhri, S., Parvardeh, S., Shams Mofarahe, Z., Ghasemnejad-Berenji, H., Nazarian, H., *et al.* (2018b). Testicular toxicity and reproductive performance of streptozotocin-induced diabetic male rats: the ameliorating role of silymarin as an antioxidant. *Toxin Reviews*, 38(3): 223-233.
- Ibrahim, S.F., Osman, K., Das, S, Mazni Othman, A., Abdul Majid, N. and Abdul Rahman, M.P. (2008). A study of the antioxidant effect of alpha lipoic acids on sperm quality. *Clinics (Sao Paulo)*, 63(4): 545-550.
- Jamalán, M., Ghaffari, M.A., Hoseinzadeh, P., Hashemitabar, M. and Zeinali, M. (2016). Human sperm quality and metal toxicants: protective effects of some flavonoids on male reproductive function. *International Journal of Fertility and Sterility*, 10(2): 215-223.
- Jamshidi, N., Asghari, A., Neshat, M. and Mortazavi, P. (2016). Effects of magnesium sulfate administration on ischemia-reperfusion kidney in rat. *Veterinary Journal (Pajouhesh & Sazandegi)*, 115(1): 63-75.

- Jiang, X., Chen, L., Shen, L., Chen, Z., Xu, L., Zhang, J. and Yu, X. (2016). Trans-astaxanthin attenuates lipopolysaccharide-induced neuroinflammation and depressive-like behavior in mice. *Brain Research Journal*, 1649(1): 30-37.
- Kadivar, A., Heidari Khoei, H., Hassanpour, H., Ghanaei, H., Golestanfar, A., Mehraban, H., *et al.* (2016). Peroxisome proliferator-activated receptors (PPAR α , PPAR γ and PPAR δ) gene expression profile on ram spermatozoa and their relation to the sperm motility. *Veterinary Research Forum*, 7(1): 27-34.
- Kara, H., Cevik, A., Konar, V., Dayangac, A. and Yilmaz, M. (2007). Protective effects of antioxidants against cadmium-induced oxidative damage in rat testes. *Biological Trace Element Research*, 120(1-3): 205-211.
- Kidd, P. (2011). Astaxanthin, cell membrane nutrient with diverse clinical benefits and anti-aging potential. *Alternative Medicine Review*, 16 (4): 355-364.
- Koyuturk, M., Yanardag, R., Bolkent, S. and Tunali, S. (2006). Influence of combined antioxidants against cadmium induced testicular damage. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 21(3): 235-240.
- Li, Y., Wu, J., Zhou, W. and Gao, J. (2016). Association between environmental exposure to cadmium and human semen quality. *International Journal of Environmental Health Research*, 26(2): 175-186.
- Mansour, N., McNiven, M.A. and Richardson, G.F. (2006). The effect of dietary supplementation with blueberry, alpha-tocopherol or astaxanthin on oxidative stability of Arctic char (*Salvelinus Alpinus*) semen. *Theriogenology*, 66(2): 373-382.
- Massanyi, P., Weis, J., Lukac, N., Trandzik, J. and Bystricka, J. (2008). Cadmium, zinc, copper, sodium and potassium concentrations in rooster and turkey semen and their correlation. *Journal of Environmental Science and Health*, 43(5): 563-565.
- Mohammadi Roushandeh, A., Salehi, I. and Mortazavi, M. (2015). Protective Effects of Restricted Diet and Antioxidants on Testis Tissue in Rats Fed with High-Fat Diet. *Iranian Biomedical Journal*, 19(2): 96-101.
- Mohammadnejad, D., Soleimani rad, J. and Mohammadi-roshandeh, A. (2013). Preventive effects of Cetrorelix on the changes induced by Cisplatin on spermatogenic and myoid cells and basal lamina of seminiferous ducts in the testis of Balb/C mouse. *Journal of Veterinary Clinical Pathology*, 6(4): 1665-1674. [In Persian]
- Mortazavi, M., Salehi, I., Alizadeh, Z., Vahabian, M. and Mohammadi Roushandeh, A. (2014). Protective Effects of Antioxidants on Sperm Parameters and Seminiferous Tubules Epithelium in High Fat-fed Rats. *Journal of Reproduction & Infertility*, 15(1): 22-28.
- Naguib, Y.M. (2000). Antioxidant activities of astaxanthin and related carotenoids. *Journal of agricultural and Food Chemistry*, 48(4): 1150-1154.
- Ognjanovic_c, B. I., Markovi_c, S.D., ĐorCevi_c, N.Z., Trbojevi_c, I.S., Stajn, A.S. and Sai_ci_c, Z.S. (2010). Cadmium-induced lipid peroxidation and changes in antioxidant defense system in the rat testes: protective role of coenzyme Q 10 and Vitamin E. *Reproductive Toxicology*, 29(2): 191-197.
- Orisakwe, O. (2014). Lead and cadmium in public health in Nigeria: physicians neglect and pitfall in patient management. *North American Journal of Medicine and Science*, 6(2): 61-71.
- Rafiei, H. and Ashrafizadeh, M. (2018). Expression of Collagen Type II and Osteocalcin Genes in Mesenchymal Stem Cells from Rats Treated with Lead acetate II. *Iranian Journal of Toxicology*, 12(5): 35-40.
- Rasulifar, M.H. and Zargari F. (2015). The effect of aqueous extract of white tea on serum levels of antioxidant enzymes in mice Field exposed to arsenic. *Journal of Veterinary Clinical Pathology*, 9(2): 153-161. [In Persian]
- Sen Gupta, R., Sen Gupta, E., Dhakal, B.K. and Thakur Ahnn, J. (2004). Vitamin C and vitamin E protect the rat testes from cadmium-induced reactive oxygen species. *Molecules and Cells*, 17(1): 132-139.

- Siu, E.R., Mruk, D.D., Porto, C.S. and Cheng, C.Y. (2009). Cadmium-induced testicular injury. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 238(3): 240-249.
- Sayed, M.M., Hassanein, K.M.A. and Senosy, W. (2014). Protective effects of thymoquinone and l-cysteine on cadmium-induced reproductive toxicity in rats. *Reproductive Toxicology Journal*, 13(1): 612-620.
- Tandon, S. K., Singh, S., Prasad, S., Khandekar, K., Dwivedi, V.K., Chatterjee, M., *et al.* (2003). Reversal of cadmium induced oxidative stress by chelating agent, antioxidant or their combination in rat. *Toxicology Letters Journal*, 145(3): 211-217.
- Thompson, J. and Bannigan, J. (2008). Cadmium: toxic effects on the reproductive system and the embryo. *Reproductive Toxicology Journal*, 25(3): 304-315.
- Tripathi, D.N. and Jena, G.B. (2008). Astaxanthin inhibits cytotoxic and genotoxic effects of cyclophosphamide in mice germ cells. *Toxicology*, 248(2-3): 96-103.
- Tvrda, E., Knazicka, Z. and Lukac, N. (2012). Selected heavy metals versus antioxidant parameters in bull seminal plasma - a comparative study. *Journal of Environmental Science and Health*, 47(9): 1261-1266.
- Tvrda, E., Knazicka, Z., Lukacova, J., Schneidgenova, M., Goc, Z., Gren, A., *et al.* (2013). The impact of lead and cadmium on selected motility, prooxidant and antioxidant parameters of bovine seminal plasma and spermatozoa. *Journal of Environmental Science and Health*, 48(10): 1292-1300.
- Vahidinia, A., Rahbar, A.R. and Shakoobi Mahmoodabadi, M.M. (2017). Effect of astaxanthin, vitamin E, and vitamin C in combination with calorie restriction on sperm quality and quantity in male rats. *Journal of Dietary Supplements*, 14(3): 252-263.
- Verboost, P.M., Flik, G., Look, R.A. and Wendelaar, B.S. (1988). Cadmium inhibits plasma membrane calcium transport. *The Journal of Membrane Biology*, 102(2): 97-104.
- Wang, J.Y., Lee, Y.J., Chou, M.C., Chang, R., Chiu, C.H., Liang, Y.J., *et al.* (2015). Astaxanthin protects steroidogenesis from hydrogen peroxide-induced oxidative stress in mouse leydig cells. *Marine Drugs*, 13(3): 1375-1388.
- Waisberg, M., Joseph, P., Hale, B. and Beyersmann, D. (2003). Molecular and cellular mechanisms of cadmium carcinogenesis: a review. *Toxicology*, 192(2-3): 95-117.
- Wolf, A.M., Asoh, S., Hiranuma, H., Ohsawa, I., Iio, K., Satou, A., *et al.* (2010). Astaxanthin protects mitochondrial redox state and functional integrity against oxidative stress. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 21(5): 381-389.
- Wu, J., Hua, Y., Keep, R.F., Schallert, T., Hoff, J.T., and Xi, G. (2002). Oxidative brain injury from extravasated erythrocytes after intracerebral hemorrhage. *Brain Research*, 953(1-2): 45-52.
- Yan, T., Zhao, Y., Zhang, X. and Lin, X. (2016). Astaxanthin inhibits acetaldehyde-induced cytotoxicity in SH-SY5Y cells by modulating Akt/CREB and p38MAPK/ERK signaling pathways. *Marine Drugs*, 14(3): 56-68.
- Yang, S.H., Long, M., Yu, L.H., Li, L., Li, P., Zhang, Y., *et al.* (2016). Sulforaphane prevents testicular damage in Kunming mice exposed to cadmium via activation of Nrf2/ARE signaling pathways. *International Journal of Molecular*, 17(10): 1703-1713.
- Zalata, A., Hafez, T. and Comhaire, F. (1995). Evaluation of the role of reactive oxygen species in male infertility. *Human Reproduction*, 10(6): 1444-1451.
- Zhang, L., Li, Q., Zheng, G., Chen, Y., Huang, M., Zhang, L., *et al.* (2017). Protective effect of *Lycium barbarum* polysaccharides against cadmium-induced testicular toxicity in male mice. *Food & Function Journal*, 8(6): 2322-2330.
- Zhou, X.Y., Zhang, F., Hu, X.T., Chen, J., Tang, R.X., Zheng, K.Y., *et al.* (2017). Depression can be prevented by astaxanthin through inhibition of hippocampal inflammation in diabetic mice. *Brain Research*, 1657(1): 262-268.