

## تأثیر سلنیوم و آستاگزانتین بر پارامترهای اسپرم و ترمیم عملکرد حسی حرکتی نخاع آسیب دیده در موش‌های صحرایی

### چکیده

دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۰۲ ویرایش: ۱۴۰۲/۱۱/۱۱ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۱/۲۳ آنلاین: ۱۴۰۳/۰۲/۰۱

**زمینه و هدف:** آسیب نخاعی (SCI) یک موضوع مهم پزشکی و اجتماعی است که منجر به درجات مختلفی از اختلالات حسی و حرکتی و اختلال عملکرد جنسی و مشکلات باروری در مردان می‌شود. درمان‌های آنتی‌اکسیدانی می‌توانند استرس اکسیداتیو ناشی از آسیب نخاعی را کاهش دهند. این مطالعه به بررسی تأثیر سلنیوم و آستاگزانتین بر پارامترهای اسپرم و ترمیم نخاع آسیب‌دیده در موش‌های صحرایی می‌پردازد.

**روش بررسی:** در این مطالعه تجربی از مدل حیوانی موش صحرایی در آزمایشگاه مرکز تحقیقات علوم اعصاب دانشگاه علوم پزشکی تبریز از تاریخ ۹ دی ۱۴۰۱ لغایت ۶ آذر ۱۴۰۲ استفاده شد. ۵۰ سر موش صحرایی نر بالغ نژاد ویستار به‌طور تصادفی به پنج گروه تقسیم شدند: کنترل، شم، SCI، تغذیه با سلنیوم و تغذیه با آستاگزانتین. به جز گروه کنترل و شم، در سایر گروه‌ها آسیب نخاعی ایجاد شد. شش هفته پس از آسیب، اثرات مکمل‌های سلنیوم و آستاگزانتین بر پارامترهای اسپرم و ترمیم نخاع مورد بررسی قرار گرفت.

**یافته‌ها:** مکمل سلنیوم و آستاگزانتین غلظت، تحرک پیشرونده و زنده ماندن اسپرم را به استثناء مورفولوژی غیرطبیعی اسپرم بهبود بخشید ( $P < 0/001$ ). هر دو مکمل سلنیوم و آستاگزانتین عملکردهای حرکتی و حسی موش‌های آسیب دیده را افزایش دادند ( $P < 0/001$ ). سلنیوم نقش بیشتری در ارتقاء ترمیم در مقایسه با آستاگزانتین نشان داد ( $P < 0/001$ ).

**نتیجه‌گیری:** تغذیه با سلنیوم و آستاگزانتین پارامترهای اسپرم را بهبود می‌بخشد و در بهبود عملکرد حرکتی و حسی رت‌ها پس از آسیب نخاعی موثرند. اما در این میان اثر سلنیوم بهتر از آستاگزانتین بود.

**کلمات کلیدی:** آستاگزانتین، سلنیوم، آسیب نخاعی، ترمیم نخاع.

پرویز شهبابی<sup>۱</sup>، جلال عبدالعلی‌زاده<sup>۲</sup>، شبرین حسن‌پور<sup>۳</sup>، بهناز صادق‌زاده اسکویی<sup>۴</sup>، سهیلا بانی<sup>۳\*</sup>

۱- گروه فیزیولوژی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

۲- گروه علوم آزمایشگاهی، دانشکده پیراپزشکی، مرکز تحقیقات ایمنولوژی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

۳- مرکز تحقیقات طب فیزیکی و توانبخشی، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

۴- گروه بیولوژی تولیدمثل، دانشکده علوم نوین، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، تبریز، ایران.

\* نویسنده مسئول: تبریز، دانشگاه علوم پزشکی تبریز، مرکز تحقیقات طب فیزیکی و توانبخشی.

تلفن: ۰۴۱-۳۳۱۴۴۳۶۵

E-mail: banisoheila@gmail.com

### مقدمه

سیستماتیک، در جمعیت ایران در سال‌های ۲۰۱۴ و ۲۰۱۵ بروز تلفیقی و شیوع SCI به ترتیب ۱۰/۵ به ۱۰۰۰۰۰۰ نفر و ۴/۴ به ۱۰۰۰۰ نفر بود. SCI بیشتر در مردان و در گروه سنی زیر ۳۰ سال رخ می‌دهد.<sup>۳</sup> پس از تجربه SCI، اکثر مردان با اختلال عملکرد جنسی (اختلال نعوظ و اختلال عملکرد انزال)، مشکلات باروری (مانند اختلال در اسپرم‌زایی، ناهنجاری در زنده ماندن، تحرک و مورفولوژی اسپرم) و اختلالات سیستمیک مانند عفونت ادراری تناسلی و غدد درون ریز

آسیب نخاعی (Spinal cord injury, SCI) یک مشکل پزشکی و اجتماعی می‌باشد که درجات متفاوتی از اختلالات حسی و حرکتی و پاراپلژی را ایجاد می‌کند.<sup>۱</sup> براساس گزارش سازمان بهداشت جهانی، معمولاً میزان بروز سالانه SCI در سراسر جهان ۴۰ تا ۸۰ مورد در هر میلیون جمعیت تخمین زده می‌شود.<sup>۲</sup> براساس یافته‌های یک مطالعه

فرمز نارنجی با عملکرد منحصر به فرد غشاء سلولی و فعالیت‌های بیولوژیکی متنوع می‌باشد. شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد که AST اثرات پیشگیری‌کننده در مدل‌های تجربی آسیب‌های حاد، اختلالات مزمن نورودژنراتیو و بیماری‌های عصبی را داراست.<sup>۱۱</sup> فعالیت آنتی‌اکسیدانی آستاگزانتین تقریباً به ترتیب ۱۰ و ۱۰۰ برابر بیشتر از بتاکاروتن و آلفاتوکوفرول است.<sup>۱۲</sup> Donà و همکاران در مطالعه خود تحت عنوان "تاثیر آستاگزانتین بر ظرفیت‌پذیری اسپرم انسان" نشان دادند که آستاگزانتین هر دوی Phosphorylation-Tyr سر اسپرم، مقادیر سلول‌های واکنش آکروزومی (ARC) را بهبود می‌بخشد.<sup>۱۳</sup> اما مطالعه Kumalic و همکاران در مورد تأثیر مصرف خوراکی آستاگزانتین بر پارامترهای مایع منی در بیماران مبتلا به الیگوآستنو تراتوزواسپرمی نشان داد که تجزیه و تحلیل نتایج ۷۲ بیمار تکمیل‌کننده مطالعه (۳۷ در گروه مطالعه، ۳۵ در گروه دارونما) هیچ تغییر معناداری از نظر آماری، در گروه آستاگزانتین در تعداد کل اسپرم، غلظت اسپرم، حرکت کلی مشاهده نشد.<sup>۱۴</sup> باتوجه به آمار بالای آسیب نخاعی در جهان و به‌خصوص ایران و یکی از عوارض مهم آن یعنی تأثیر بر توان تولید مثلی مردان و نوآوری این موضوع از نظر اینکه با دوز استفاده کرده ما قبلاً مطالعه‌ای صورت نگرفته بود و مطالعه آستاگزانتین و سلنیوم بر بیماران آسیب نخاعی هم برای بار اول انجام شد و نتایج ضد و نقیض در مورد تأثیر آنتی‌اکسیدان‌ها بر پارامترهای اسپرم و عملکرد حسی و حرکتی نخاع، بر آن شدید پژوهشی تحت عنوان "تاثیر آستاگزانتین و سلنیوم بر پارامترهای اسپرم و ترمیم عملکرد حسی حرکتی نخاع آسیب دیده در موش‌های صحرایی" رابه انجام برسانیم.

## روش بررسی

در این مطالعه تجربی، از مدل حیوانی موش صحرایی استفاده شد. تمام پروسیجرهای این پژوهش مطابق با آئین‌نامه کمیته اخلاقی و قوانین مربوط به بیانیه هلسینکی در مورد استفاده و مراقبت از حیوانات رعایت شد.<sup>۱۵</sup> در این مطالعه از ۵۰ رت ویستار مذکر بالغ (با وزن ۲۵۰-۲۰۰ g) استفاده شد. رت‌ها در محیط با دمای کنترل شده  $23^{\circ}\text{C}$  و  $15\%$  رطوبت و نور مناسب و دسترسی به غذا و آب و با سیکل ۱۲ ساعت روشنایی/۱۲ ساعت تاریکی نگهداری شدند.

مراجعه می‌کنند.<sup>۲</sup> علیرغم پیشرفت‌های قابل‌توجه در مراقبت‌های پزشکی و جراحی، هیچ درمان موثری برای نقایص عصبی آن وجود ندارد که می‌توان تا حدی به مکانیسم‌های پاتو فیزیولوژیکی محتوای بالای چربی و متابولیسم اکسیژن فعال، بسیار آسیب‌پذیر ناشی از رادیکال‌های آزاد (Reactive oxygen species, ROS) نسبت داد.<sup>۴</sup> درمان آنتی‌اکسیدانی هدفمند می‌تواند استرس اکسیداتیو و التهاب عصبی را تا حد زیادی کاهش دهد.<sup>۵</sup> به‌علاوه استرس اکسیداتیو سبب افزایش شکستگی در رشته‌های DNA می‌شود. شواهد محکمی وجود دارد که قطعه قطعه شدن DNA به‌طور شایع در اسپرماتوزوای افراد نابارور مشاهده می‌شود.<sup>۶</sup> آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در کاهش سطح ROS نقش مهمی ایفا می‌کنند. یک آنتی‌اکسیدان خوب باید به‌خوبی جذب شده و رادیکال‌های آزاد را از بین ببرد. سیستم عصبی مرکزی، از جمله نخاع، به‌دلیل محتوای بالای چربی و متابولیسم اکسیژن فعال، بسیار مستعد آسیب ناشی از رادیکال‌های آزاد است. بنابراین، کاهش استرس اکسیداتیو ممکن است یک استراتژی موثر برای مداخله درمانی SCI باشد. در این راستا، ادامه مطالعات بر روی ترکیبات فعال زیستی با ظرفیت حذف ROS ممکن است به توسعه روش‌های مبتنی بر آنتی‌اکسیدان مؤثر برای درمان SCI در افراد انسانی منجر شود.<sup>۷</sup> مکمل‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله سلنیوم می‌توانند بخشی از درمان بیماری‌هایی باشد که از SCI حاد رنج می‌برند.<sup>۸</sup> سلنیوم (Se) به‌عنوان یک ماده مغذی موثر عمل می‌کند و در رژیم غذایی پستانداران نقش مهمی را در محافظت از اسپرم در برابر مواد اکسیداتیو ایفا می‌کند مطالعات حذف ژنی سلنوپروتئین‌ها نشان می‌دهد که حذف آنها در زمان اسپرماتوزنز منجر به اسپرماتوزن‌های غیرطبیعی می‌شود که به‌نوبه‌خود بر کیفیت و باروری اسپرم تأثیر می‌گذارد.<sup>۹</sup> Alahmar در مطالعه خود نتیجه گرفت که سلنیوم درمانی ( $200\ \mu\text{g/d}$ ) به‌مدت شش ماه باعث افزایش غلظت اسپرم، تحرک، ظرفیت آنتی‌اکسیدانی منی و کاهش SDF در بیماران مبتلا به الیگواستنوتراتو اسپرمی (Oligoasthenoteratospermia, OAT) ایدیوپاتیک می‌شود. بنابراین، سلنیوم می‌تواند یک درمان امیدوارکننده برای مردان مبتلا به‌نازایی ایدیوپاتیک مردانه (Idiopathic male infertility, IMI) باشد و ممکن است باروری و نتایج درمان باروری آنها را افزایش دهد.<sup>۱۰</sup> آستاگزانتین (Astaxanthin, AST) نیز یکی دیگر از آنتی‌اکسیدان‌های مهم و با اهمیت است که عضو گروه Xanthophyll، یک کاروتنوئید

ادامه می‌یابد. این تست دارای یک جدول نمره‌دهی از نمره صفر (هیچ فعالیت حرکتی ندارد) تا ۲۱ (حرکت نرمال بوده و همکاری قوی به همراه جابجایی موازی پا) می‌باشد. نمرات ۷-۱ نشان‌دهنده برگشت عضلات فلج شده در مفصل، زانو و لگن می‌باشد. نمره ۸-۱۳ نشان‌دهنده برگشت حرکت و هماهنگی پنجه‌ها به همراه forelimbs است. نمره ۲۱-۱۴ نشان‌دهنده برگشت فاصله انگشت در طول راه رفتن، تسلط به نگهداشتن وضعیت انگشتان، پایداری در بالاتنه و وضعیت دم می‌باشد. این آزمایش در محفظه باز به قطر ۹۰ mm و ارتفاع ۳۰ cm انجام شد.<sup>۲۰</sup> برای ارزیابی وضعیت حسی از تست Von Frey استفاده شد. تعیین آستانه حسی با استفاده از اندازه‌گیری مقدار نیرویی که نیاز بوده تا پای موش صحرایی از تحریک کشیده شود اندازه‌گیری می‌شد. در این روش از مونوفیلامنت با محدوده (۱۲۵-۲/۵ یا ۸۰۰-۰/۸۰۰ N) استفاده شد. برای عدم مشاهده مستقیم حیوان به این مونوفیلامنت ابزاری برای مشغول کردن داده می‌شد تا تست انجام شده بدون توجه حیوان صورت گیرد. هر مونوفیلامنت وان فری با یک نیروی مشخصی کالیبره می‌شد و تا زمانی که پای عقب خم شود به فشار دادن مونوفیلامنت ادامه می‌دادیم. در نهایت آستانه پس کشیدن پا در رنج‌های نیروی وارده قابل اندازه‌گیری می‌شد.<sup>۲۱</sup> این آزمون نیز همراه با مقیاس BBB (یک بار در هفته) به مدت پنج هفته انجام شد و نتایج ثبت شد. ما در این مطالعه در تمام دوره مطالعه یک ناظر داشتیم.



شکل ۱: برش عضله پاراورتبرال، لامینکتومی قطعه (T10) و نخاع نشان داده شده است.

موش‌های صحرایی نر به شکل تصادفی به پنج گروه تقسیم شدند (در هر گروه از ۱۰ سر موش استفاده شد). حجم نمونه براساس مطالعه Asadi و همکاران و با در نظر گرفتن نتایج به‌دست آمده از این مطالعه M1 (میانگین تحرک پیشرونده در گروه مداخله) = ۷۵/۸۳، M2 (میانگین تحرک پیشرونده در گروه کنترل) = ۶۳/۲۸،  $SD1=SD2=$  ۴/۳۹،  $\alpha=0/5$ ، توان ۰/۹۵ و با در نظر گرفتن افت نمونه ۱۰٪، ۵۰ موش صحرایی تعیین شد.<sup>۱۶</sup> در این مطالعه از تصادفی‌سازی با بلوک‌های ۵ و ۱۰ تایی استفاده شد. حیوانات به‌طور تصادفی به پنج گروه کنترل (بدون مداخله)، گروه شم (فقط لامینکتومی)، گروه SCI (تحت عمل لامینکتومی و SCI بدون مداخله)، گروه سلنیوم (SCI و تغذیه با Se) و گروه آستاگزانتین (SCI و تغذیه با AST) تقسیم شدند. این مطالعه یک مطالعه دوسوکور بود که در آن مراقبت‌کنندگان از حیوانات و تحلیل‌کنندگان نتایج اطلاعی از گروه‌های مطالعه نداشتند. گروه‌ها (به جز گروه کنترل) با استفاده از ایزوفلوران ۲/۲٪ استنشاقی بیهوش شدند. طناب نخاعی موش صحرایی با برش عضلات پاراورتبرال در فضای T10 کاملاً قابل مشاهده بود و لامینکتومی انجام شد. گروه شم فقط تحت لامینکتومی قرار گرفتند و ناحیه باز شده بخیه شد. پس از لامینکتومی، موش‌های گروه‌های SCI، AST و Se تحت SCI با استفاده از دستگاه (Nsrc Impactor Homemade code: 90778 قرار گرفتند)<sup>۱۷</sup> (شکل ۱). برای SCI در گروه‌های مورد مطالعه، آسیب متوسط (معادل ۱۵۰ تا ۱۷۵ کیلو داین) بر فضای T10 نخاع وارد شد. برای محدود کردن درد بعد از عمل، ۵ mg/kg/day متاکام در ۲۴ تا ۴۸ ساعت اول پس از آسیب تزریق شد. پوشال‌های قفس هر سه روز یک‌بار تعویض و قفس با الکل ۷۰٪ شسته می‌شد تا خطر عفونت به حداقل برسد. ۴۸ ساعت پس از آسیب، گروه ۰/۲ mg/kg Se سلنیت سدیم خریداری شده (Sigma Aldrich Co. USA) ۱۸ و در همان زمان گروه آستاگزانتین نیز پودر آستاگزانتین محلول در حلال‌های آبی به‌صورت گاوآژ با دوز ۲۵ mg/kg oral (po) (Sigma 9335 Chemical CO, MO, USA) را در شش روز متوالی به‌مدت پنج هفته از طریق گاوآژ دریافت کردند.<sup>۱۹</sup> برای ارزیابی موتور از روش مقیاس حرکتی Basso, Beattie and Brenham (BBB) استفاده شد که دارای مقیاس نمره‌ای از صفر تا ۲۱ است. این ارزیابی یک هفته پس از آسیب در گروه‌ها (هفته‌ای یک‌بار به‌مدت چهار دقیقه) شروع شده و تا پنج هفته بعد

آنالیز واریانس با اندازه‌گیری مکرر مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت تفاوت بین متغیرها از نظر آماری معنادار  $P < 0/05$  در نظر گرفته شد.

### یافته‌ها

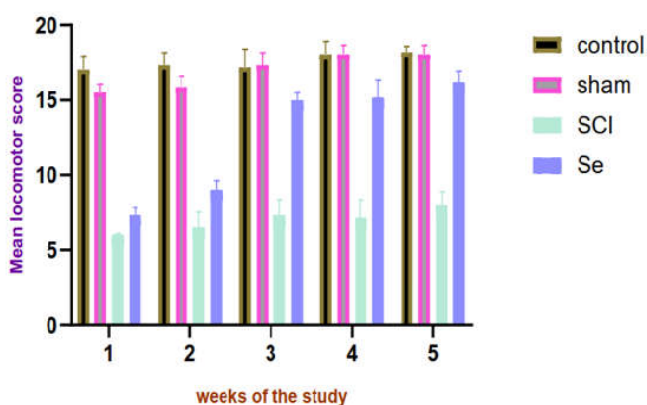
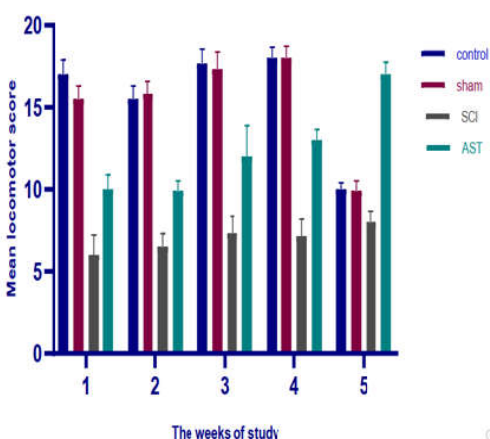
میانگین و انحراف معیار غلظت اسپرم در گروه تغذیه شده با سلنیوم بیشتر از گروه آسیب نخاعی و کمتر از گروه کنترل و شم بود. از آزمون One-way ANOVA برای مقایسه بین گروه‌ها استفاده شد. افزایش معناداری در میانگین غلظت اسپرم‌ها در گروه تغذیه شده با سلنیوم نسبت به گروه آسیب نخاعی وجود داشت،  $(P = 0/001)$  اختلاف معناداری بین گروه تغذیه شده با آستاگزانتین و گروه کنترل و همچنین با گروه شم وجود نداشت  $(P > 0/05)$ . میانگین و انحراف معیار غلظت اسپرم در گروه تغذیه شده با آستاگزانتین بیشتر از گروه آسیب نخاعی و تقریباً برابر با گروه کنترل و شم بود. نتایج نشان داد که افزایش معناداری در میانگین غلظت اسپرم‌ها در گروه تغذیه شده با آستاگزانتین نسبت به گروه آسیب نخاعی وجود داشت،  $(P = 0/001)$  (جدول ۱). مقادیر حرکت اسپرم (%/،) از جمله حرکت پیشرونده اسپرم (PMS)، حرکت غیرپیشرونده اسپرم (NPMS) و عدم حرکت اسپرم (NMS) در جدول ۱ ارائه شده است. نتایج حاکی از کاهش معنادار میانگین درصد حرکت پیشرونده اسپرم در گروه SCI نسبت به گروه کنترل  $(83/33 \pm 6/05 \text{ vs } 70/0 \pm 20/0, P < 0/001)$  و شم  $(83/33 \pm 1/69 \text{ vs } 70/0 \pm 20/0, P < 0/001)$  بود. همچنین افزایش قابل توجهی در حرکت پیشرونده اسپرم در گروه‌های تغذیه شده با سلنیوم و تغذیه شده با آستاگزانتین در مقایسه با گروه SCI مشاهده شد  $(P < 0/001)$ . اما تفاوت معناداری در حرکت غیرپیشرونده و عدم حرکت اسپرم در گروه‌های تغذیه‌ای سلنیوم و آستاگزانتین نسبت به گروه آسیب نخاعی مشاهده نشد  $(P > 0/05)$ . از نظر غلظت اسپرم در گروه‌های تغذیه شده با سلنیوم و تغذیه شده با آستاگزانتین تفاوت معناداری مشاهده نشد  $(P > 0/05)$  (جدول ۱). کاهش معناداری در میانگین درصد زنده ماندن اسپرم‌ها در گروه SCI نسبت به گروه کنترل  $(86/66 \pm 8/16, P < 0/001)$  و شم  $(86/66 \pm 9/68 \text{ vs } 85/00 \pm 6/32)$  مشاهده شد  $(P < 0/001)$ . نتایج حاکی از افزایش قابل توجهی در قابلیت زنده ماندن اسپرم در گروه‌های تغذیه‌ای سلنیوم و آستاگزانتین نسبت به گروه آسیب نخاعی بود  $(P < 0/001)$ . تفاوت معناداری در قابلیت زنده ماندن

پارامترهای اسپرم (تعداد، تحرک، قابلیت زنده ماندن و شکل اسپرم) پس از پایان درمان، موش‌ها در هر گروه با قرار گرفتن حیوانات در معرض  $100\% \text{ CO}_2$  در اتاقک معدوم شدند.<sup>۳۳</sup> دم اپیدیدیم جدا شده و در ۲ ml محیط (Hams F10) حاوی  $0/5\%$  آلبومین سرم گاوی برای آزادسازی اسپرم قرار داده شد و به مدت پنج دقیقه در دمای  $37^\circ \text{C}$  ( $5\% \text{ CO}_2$ ) انکوبه شد. شمارش اسپرم با استفاده از روش هموسیتومتری استاندارد و بر حسب میلیون در میلی‌لیتر ( $10^6 \text{ ml}$ ) بیان شد.<sup>۲۴</sup> تحرک اسپرم بلافاصله براساس پروتکل راهنمای آزمایشگاهی WHO ارزیابی شد ۱۰ ml سوسپانسیون اسپرم روی Makler's chamber counting قرار داده شده و حداقل ۲۰۰ اسپرم برای هر موش مورد ارزیابی قرار گرفت. تحرک اسپرم بر حسب الگوهای حرکتی زیر تحلیل شد: حرکت پیشرونده اسپرم (Progressive movement of sperm, PMS)، حرکت غیرپیشرونده اسپرم (Non progressive movement of sperm, NPMS) و عدم حرکت (Non movement of sperm, NMS) اسپرم.<sup>۲۴</sup> برای تعیین قابلیت زنده ماندن اسپرم از رنگ‌آمیزی ائوزین و نیگروزین استفاده شد. به این ترتیب که ابتدا نمونه اسپرم را به‌خوبی هم‌زده  $50 \mu\text{l}$  از نمونه را با  $50 \mu\text{l}$  سوسپانسیون ائوزین- نیگروزین درون یک لوله ریخته و مخلوط کردیم. پس از  $30$  ثانیه صبر کرده سپس بر روی چند لام گسترش تهیه کرده و اجازه دادیم در هوا خشک شود. بیدرنگ پس از خشک شدن گسترش‌ها، آنها را با عدسی روغنی و بزرگ‌نمایی ۱۰۰۰ بررسی کردیم. در هر میدان میکروسکوپی ۲۰۰ اسپرم بررسی شد و درصد اسپرم‌های رنگ شده (مرده) و رنگ نشده (زنده) تعیین شد.<sup>۲۵</sup> مورفولوژی طبیعی و غیرطبیعی اسپرم توسط پروتکل WHO طبقه‌بندی شده و حدود ۲۰۰ اسپرم در هر میدان میکروسکوپی بررسی شد. میانگین درصد تعداد اسپرم‌ها با مورفولوژی طبیعی به‌عنوان درصد طبیعی مورفولوژی اسپرم در نظر گرفته شد.<sup>۲۵</sup>

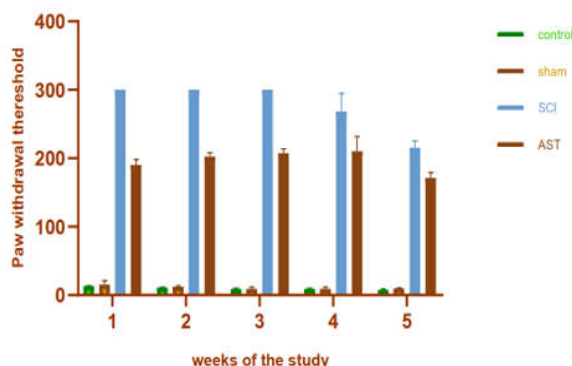
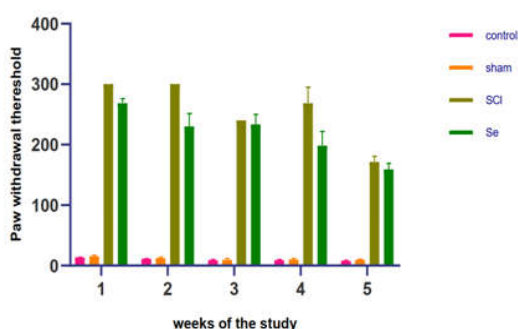
داده‌ها به‌صورت میانگین  $\pm$  انحراف استاندارد (SD) بیان شد و توسط نرم‌افزار آماری IBM SPSS برای ویندوز، نسخه ۲۱،۰ (IBM Corp., Armonk, Ill., N.Y) تجزیه و تحلیل شد. تفاوت میانگین بین گروه‌ها با استفاده از One-way analysis of variance و سپس Tukey's post hoc test برای مقایسه‌های چندگانه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. برای مقایسه درون‌گروهی، داده‌ها با استفاده از

امتیاز حرکتی BBB: امتیاز حرکتی BBB برای ارزیابی عملکرد حرکتی در موش‌ها از هفته اول تا پنجم پس از SCI استفاده شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌های درون‌گروهی در طول دوره مطالعه از ANOVA و اندازه‌گیری مکرر استفاده شد. در طول انجام این مطالعه از هفته اول تا پنجم پس از آسیب نخاع، رابطه معناداری بین گروه کنترل و شم از نظر نمرات تست BBB مشاهده نشد. کاهش معناداری در گروه تغذیه شده با سلنیوم نسبت به گروه کنترل و شم از هفته اول

اسپرم در گروه تغذیه شده با سلنیوم و تغذیه شده با آستاگزانتین مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ) (جدول ۱). کاهش معناداری در میانگین شکل طبیعی اسپرم (%) در گروه SCI نسبت به گروه کنترل ( $P < 0.001$ )،  $90.0 \pm 5.47$  vs  $61/76 \pm 14/71$  و شم ( $P < 0.001$ )،  $87/50 \pm 8/80$  vs  $61/76 \pm 14/71$  مشاهده شد ( $P < 0.001$ ). تفاوت معناداری در شکل اسپرم در گروه تغذیه شده با سلنیوم و تغذیه شده با آستاگزانتین مشاهده نشد ( $P > 0.05$ ) (جدول ۱).



نمودار ۱: میانگین تغییرات تست حرکتی BBB در طول مدت درمان با سلنیوم و آستاگزانتین



نمودار ۲: میانگین تغییرات تست حسی Von Frey در طول مدت درمان با سلنیوم و آستاگزانتین

جدول ۱: غلظت (ml/۱۰<sup>۶</sup>)، تحرک (%)، زنده ماندن (%) و مورفولوژی (%) اسپرم درمان شده با سلنیوم و آستاگزانتین در مدل آسیب نخاعی موش صحرایی

P	میانگین ± انحراف معیار	تعداد	گروه‌های مداخله	میانگین ± انحراف معیار	تعداد	گروه‌ها	متغیرها (پارامترهای اسپرم)
۰/۳۲	۳۸/۶۶±۱۴/۸۱	۱۰	سلنیوم	۴۳/۶۶±۶/۵۳	۱۰	کنترل	غلظت اسپرم (اسپرم رت/۱۰ <sup>۶</sup> )
۰/۳۷	۳۶/۲۳±۳/۲۶	۱۰	آستاگزانتین				
۰/۹۹	۳۸/۶۶±۱۴/۸۱	۱۰	سلنیوم	۳۶/۰۰±۴/۱۵	۱۰	شم	
۰/۳۰	۳۶/۲۳±۳/۲۶	۱۰	آستاگزانتین				
<۰/۰۰۱	۳۸/۶۶±۱۴/۸۱	۱۰	سلنیوم	۱۸/۵۰±۷/۰۲	۱۰	آسیب	
<۰/۰۰۱	۳۶/۲۳±۳/۲۶	۱۰	آستاگزانتین			نخاعی	
۰/۰۴	۵۵/۰۰±۳/۰۸	۱۰	سلنیوم	۸۳/۳۳±۶/۰۵	۱۰	کنترل	PMS
۰/۰۱	۵/۰۰±۰/۶۶	۱۰	آستاگزانتین				
۰/۹۷	۵۵/۰۰±۳/۰۸	۱۰	سلنیوم	۷۰/۰۰±۲۰/۰۰	۱۰	شم	
۰/۸۵	۵/۰۰±۰/۶۶	۱۰	آستاگزانتین				
<۰/۰۰۱	۵۵/۰۰±۳/۰۸	۱۰	سلنیوم	۸/۳۳±۱/۱۶	۱۰	آسیب	
<۰/۰۰۱	۵۵/۰۰±۰/۶۶	۱۰	آستاگزانتین			نخاعی	
۰/۷۵	۲۴/۱۶±۱/۴۲	۱۰	سلنیوم	۱۳/۳۳±۶/۰۵	۱۰	کنترل	NPMS
۰/۳۰	۲۳/۶۳±۲/۹۱	۱۰	آستاگزانتین				
۰/۹۷	۲۴/۱۶±۱/۴۲	۱۰	سلنیوم	۲۲/۵±۱/۸۳	۱۰	شم	
۰/۱۰	۲۳/۶۳±۲/۹۱	۱۰	آستاگزانتین				
۰/۹۸	۲۴/۱۶±۱/۴۲	۱۰	سلنیوم	۲۸/۳۳±۲/۴۸	۱۰	آسیب	
۰/۹۹	۲۳/۶۳±۲/۹۱	۱۰	آستاگزانتین			نخاعی	
۰/۸۲	۲۰/۸۳±۳/۴۱	۱۰	سلنیوم	۵/۰۰±۲/۴۷	۱۰	کنترل	NMS
۰/۹۱	۲۰/۱۸±۱/۲۱	۱۰	آستاگزانتین				
۰/۹۲	۲۰/۸۳±۳/۴۱	۱۰	سلنیوم	۷/۵۰±۱/۵۷	۱۰	شم	
۰/۹۷	۲۰/۱۸±۱/۲۱	۱۰	آستاگزانتین				
۰/۰۲	۲۰/۸۳±۳/۴۱	۱۰	سلنیوم	۴۶/۶۶±۳/۸۲	۱۰	آسیب	
۰/۰۱	۲۰/۱۸±۱/۲۱	۱۰	آستاگزانتین			نخاعی	
۰/۸۳	۸۱/۶۶±۸/۱۶	۱۰	سلنیوم	۸۶/۶۶±۸/۱۶	۱۰	کنترل	
۰/۰۶	۸۰/۹۱±۱/۴۵	۱۰	آستاگزانتین				درصد قابلیت زنده ماندن اسپرم
۰/۹۶	۸۱/۶۶±۸/۱۶	۱۰	سلنیوم	۸۵/۰۰±۶/۳۲	۱۰	شم	
۰/۰۱	۸۰/۹۱±۱/۴۵	۱۰	آستاگزانتین				
<۰/۰۰۱	۸۱/۶۶±۸/۱۶	۱۰	سلنیوم	۱۹/۱۶±۱/۰۶	۱۰	آسیب	
<۰/۰۰۱	۸۰/۹۱±۱/۴۵	۱۰	آستاگزانتین			نخاعی	
۰/۱۹	۷۸/۳۳±۱۱/۲۵	۱۰	سلنیوم	۹۰/۰۰±۵/۴۷	۱۰	کنترل	
۰/۰۸	۷۷/۵۶±۱/۲۱	۱۰	آستاگزانتین				درصد شکل اسپرم
۰/۰۷	۷۸/۳۳±۱۱/۲۵	۱۰	سلنیوم	۸۷/۵۰±۸/۸۰	۱۰	شم	
۰/۶۸	۷۷/۵۶±۱/۲۱	۱۰	آستاگزانتین				
۰/۰۶	۷۸/۳۳±۱۱/۲۵	۱۰	سلنیوم	۶۱/۶۶±۴/۷۱	۱۰	آسیب	
۰/۷۱	۷۷/۵۶±۱/۲۱	۱۰	آستاگزانتین			نخاعی	

( $P < 0/001$ )،  $215/00 \pm 5/27$  vs  $109/00 \pm 10/12$ ) مشاهده شد  
( $P < 0/001$ ) (نمودار ۲).

## بحث

اختلال عملکرد دستگاه تناسلی مردان در بیماران SCI نتیجه ترکیبی از اختلالات عملکرد نعوظ و انزال و همچنین مایع منی غیرطبیعی است. که حداقل تا حدی به دلیل افزایش استرس اکسیداتیو و لکوسیتوسپرمی باشد.<sup>۳۶</sup> آنتی‌اکسیدان‌ها عمدتاً از طریق توانایی خود در از بین بردن رادیکال‌های آزاد، فرآیندهای آسیب سلولی را مهار می‌کنند.<sup>۳۷</sup> نتایج این پژوهش نشان داد که پس از تغذیه در هر دو گروه سلنیوم و آستاگزانتین، غلظت اسپرم‌ها نسبت به گروه آسیب نخاعی بیشتر شد و تقریباً به میزان گروه کنترل رسید. همچنین این نتایج در مورد درصد حرکت پیشرونده اسپرم در هر دو گروه نسبت به گروه آسیب نخاعی بیشتر بود اما تاثیری در درصد حرکت درجا و اسپرم‌های بی‌حرکت نداشتند. نتایج مطالعه فوق در مورد قابلیت زنده ماندن اسپرم‌ها در گروه‌های مورد مطالعه نشان داد که این درصد در هر دو گروه سلنیوم و آستاگزانتین نسبت به گروه آسیب نخاعی بیشتر بود. اما مداخله ما تاثیری بر شکل غیرطبیعی اسپرم‌ها نداشت. Monfared و همکاران در مطالعه خود تحت عنوان "اثر سلنیوم بر پارامترهای مختلف اسپرم در موش‌های دارای واریکوسل" نشان دادند که سلنیوم به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان، بر تعداد و تحرک اسپرم‌ها تاثیر دارد. اما بر مورفولوژی اسپرم در موش‌های واریکوسیل تاثیری نداشت.<sup>۳۸</sup> این مطالعه با مطالعه حاضر مطابقت دارد. اگرچه مطالعه آنها بر روی اثرات سلنیوم بر واریکوسل بود، اما نقش استرس اکسیداتیو را در هر دو واریکوسل و SCI نمی‌توان نادیده گرفت. Toman و همکاران مطالعه‌ای با هدف بررسی اثرات دیازینون (DZN) و سلنیوم (Se) بر تحرک و پارامترهای مورفولوژی اسپرم در موش صحرایی و برهمکنش این ترکیبات پس از قرار گرفتن در معرض ترکیبی این دو دارو نشان دادند که تقریباً تمام پارامترهای تحرک اسپرم ارزیابی شده به‌طور قابل‌توجهی در Se کاهش یافت. Se و DZN بر ساختار و عملکرد اسپرم در دوزهای جداگانه یا ترکیبی تأثیر منفی گذاشتند. هیچ اثر محافظتی Se مشاهده نشد.<sup>۳۹</sup> این مطالعه با مطالعه ما در تضاد است. در مطالعه Toman از دوز بالای (۲ mg/kg) Se

تا پنجم مطالعه وجود داشت ( $P < 0/001$ ) اما این اختلاف در مورد گروه کنترل و شم در طول مطالعه معنادار نبود. کاهش معناداری در تست حرکتی BBB در گروه SCI در مقایسه با گروه کنترل ( $P < 0/001$ )،  $17/38 \pm 0/81$  vs  $6/88 \pm 0/90$ ) و شم ( $P < 0/001$ )،  $16/76 \pm 0/44$  vs  $6/88 \pm 0/90$ ) وجود داشت. همچنین تفاوت معناداری در تست حرکتی رت‌های تغذیه شده با سلنیوم (Se-fed) و تغذیه شده با آستاگزانتین (AST-fed) در مقایسه با گروه SCI به‌ترتیب در هفته اول ( $P < 0/001$ )،  $6/00 \pm 0/89$  vs  $7/40 \pm 0/05$ ) و ( $P = 0/04$ )،  $6/00 \pm 0/89$  vs  $10/00 \pm 0/66$ )، در هفته دوم ( $P < 0/001$ )،  $6/50 \pm 1/04$  vs  $9/00 \pm 0/47$ ) و ( $P < 0/001$ )،  $7/00 \pm 1/05$  vs  $9/90 \pm 0/73$ ) در هفته سوم و ( $P < 0/001$ )،  $7/00 \pm 1/05$  vs  $13/70 \pm 1/60$ ) و ( $P < 0/001$ )،  $7/20 \pm 0/91$  vs  $15/50 \pm 1/17$ ) و ( $P < 0/001$ )،  $7/20 \pm 0/87$  vs  $13/00 \pm 0/66$ ) و هفته پنجم ( $P < 0/001$ )،  $7/20 \pm 0/87$  vs  $16/50 \pm 0/70$ ) و ( $P < 0/001$ )،  $8/00 \pm 0/89$  vs  $14 \pm 5/22$ ) پس از درمان مشاهده شد. نهایتاً افزایش معناداری در تست حرکتی گروه تغذیه شده با سلنیوم نسبت به گروه تغذیه شده با آستاگزانتین مشاهده شد ( $P < 0/001$ ) (نمودار ۱).

تست حسی Von Frey: برای اندازه‌گیری و تعیین حساسیت پوست به محرک‌های تماسی از رشته‌های مختلف فون فری در محدوده ۰/۰۰۸ تا ۸۰۰ نیوتن استفاده شد. افزایش معناداری در آستانه برداشت پنجه (PWT) در گروه (SCI) در مقایسه با گروه کنترل و شم از هفته اول تا پنجم پس از درمان دیده می‌شود. نتایج این مطالعه نشان‌دهنده کاهش معناداری در PWT در گروه Se-fed و AST-fed در مقایسه با گروه SCI به‌ترتیب در هفته اول ( $P < 0/001$ )،  $300 \pm 0/00$  vs  $268/00 \pm 8/16$ ) و ( $P < 0/001$ )،  $300 \pm 0/00$  vs  $230/00 \pm 21/60$ ) و ( $P < 0/001$ )،  $300 \pm 0/00$  vs  $202/00 \pm 63/32$ )، هفته سوم ( $P < 0/001$ )،  $300 \pm 0/00$  vs  $233/50 \pm 16/67$ ) و ( $P < 0/001$ )،  $300 \pm 0/00$  vs  $207/00 \pm 67/74$ )، هفته چهارم ( $P < 0/001$ )،  $268/00 \pm 26/99$  vs  $198/00 \pm 23/94$ ) و ( $P < 0/001$ )،  $268/00 \pm 26/99$  vs  $210/00 \pm 8/16$ )، هفته پنجم ( $P < 0/001$ )،  $171/00 \pm 9/94$  vs  $151/00 \pm 11/12$ ) و ( $P < 0/001$ )،  $215/00 \pm 9/94$  vs  $171/00 \pm 5/27$ ) پس از مداخله مشاهده شد. نهایتاً پس از پنج هفته کاهش معناداری در PWT در گروه Se-fed نسبت به گروه AST-fed

است. Lu و همکاران در مطالعه خود به این نتیجه رسیدند که AST با کاهش آسیب اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدی و مهار آپوپتوز از موش‌های صحرایی در برابر از دست دادن نورون‌ها محافظت می‌کند.<sup>۳۴</sup> Fakhri و همکاران در مطالعه‌ای تحت عنوان "اثرات آستاگزانتین بر عملکرد حرکتی حسی در یک مدل فشرده‌سازی آسیب نخاعی" تأثیرات سودمند AST در بهبود حسی - حرکتی موش‌های دچار آسیب نخاعی را نشان دادند.<sup>۳۵</sup> یکی دیگر از مکانیسم‌های پیشنهادی زمینه‌ساز SCI درد ناشی از نوروپاتی و نقص حرکتی، سمیت تحریک‌کننده گلوتامات و گیرنده‌های آن است.<sup>۳۶</sup> اثرات محافظتی AST در برابر سمیت عصبی گلوتامات در چندین مطالعه گزارش شده است و بنابراین می‌توان به‌عنوان یکی از مکانیسم‌های موجود در نظر گرفت.<sup>۳۷ و ۳۸</sup>

به‌طور کلی می‌توان نتایج مطالعه حاضر را به‌صورت زیر جمع‌بندی نمود: سلنیوم و آستاگزانتین تأثیر یکسانی بر غلظت اسپرم داشتند. در مورد حرکت پیش‌برنده اسپرم، نیز عملکرد هر دو آنتی‌اکسیدان یعنی آستاگزانتین و سلنیوم در این مورد یکسان بود. اما در مورد حرکت درجا و عدم حرکت مداخلات ما تأثیر چندانی نداشته است. در خصوص قابلیت زنده ماندن تقریباً هر دو مداخله به یک اندازه موثر بودند مداخلات ما پس از آسیب نخاعی در شکل اسپرم تغییری ایجاد نکرد. سلنیوم در بهبود تست‌های حرکتی و حسی بهتر از آستاگزانتین بود. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که این آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند در بهبود وضعیت بیماران مبتلا به آسیب نخاعی موثر باشند. با این حال، برای اثبات این موضوع در انسان و درک کامل مکانیسم اثر این ترکیبات، نیاز به مطالعات بیشتری است. سپاسگزاری: این مقاله حاصل بخشی از پایان‌نامه تحت عنوان "بررسی تأثیر آستاگزانتین، سلنیوم و تحریک الکتریکی بر میزان بیان ژن‌ها و پروتئین‌های 1, 2, Catsper، پارامترهای اسپرم و ترمیم نخاع در مدل آسیب نخاعی رت" در مقطع دکترای تخصصی علوم اعصاب در سال ۱۳۹۸ و کد (IR.TBZMED.REC.1395.65) می‌باشد که با حمایت دانشگاه علوم پزشکی و خدمات بهداشتی درمانی تبریز اجرا شده است. نویسندگان از حمایت مالی دانشگاه علوم پزشکی تبریز، مرکز تحقیقات علوم اعصاب و مرکز تحقیقات کاربردی دارویی و همه کسانی که در انجام این تحقیق به ما کمک کردند، تشکر و قدردانی می‌نماید.

استفاده شده بود، در حالی‌که در مطالعه ما از دوز پایین Se (۰/۲ mg/kg) استفاده شده بود.<sup>۲۹</sup> Mortazavi و همکاران مطالعه‌ای تحت عنوان "اثرات محافظتی آنتی‌اکسیدان‌ها بر پارامترهای اسپرم و اپیتلیوم توبول‌های سمی نیفر در موش‌های تغذیه شده با رژیم غذایی پرچرب" تأیید کردند که درمان با آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند ویتامین C, E و آستاگزانتین در موش‌هایی که از رژیم غذایی پرچرب تغذیه می‌شوند می‌تواند اثرات مفیدی بر روی شاخص‌های سرمی آنها داشته باشد. همچنین، آنتی‌اکسیدان‌ها پارامترهای اسپرم مانند تحرک و مورفولوژی را که مهمترین عوامل در باروری طبیعی هستند، بهبود بخشید.<sup>۳۰</sup> Fang در مطالعه خود در مورد "تأثیر مکمل آستاگزانتین روی کیفیت اسپرم و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مایع منی قوچ" بیان می‌کند که AST مجموعه‌ای از پیوندهای دوتایی کونژوگه آن، می‌تواند رادیکال‌های آزاد را با جابجایی انرژی الکترونیکی خود حذف کند.<sup>۳۱</sup> در هر دوی این مطالعات آستاگزانتین پارامترهای اسپرم را بهبود بخشیده که با مطالعه حاضر مطابقت دارد. نتایج این مطالعه نشان داد که در طول مطالعه در داخل هر گروه تغییرات حرکتی مشهود بود. بهبود عملکرد حرکتی و حسی پس از درمان در گروه سلنیوم و همچنین در گروه آستاگزانتین در مقایسه با گروه آسیب نخاعی مشاهده شد که این بهبودی پائینتر از گروه کنترل و شم بود. در این مطالعه عملکرد سلنیوم در بهبود عملکرد حرکتی و حسی بعد از آسیب بهتر از آستاگزانتین بود. در مطالعه Chen و همکاران در مورد بهبود عملکرد عصبی پس از آسیب نخاعی، بیان کردند که تجویز Sodium Selenite (ss) پس از SCI بهبود حرکت اندام عقبی را افزایش داد، آنها پیشنهاد کردند که SS با حفظ نورون‌ها و الیگودندروسیت‌ها، بازسازی رشته‌های عصبی و میلین‌سازی مجدد را افزایش می‌دهند و با مهار آستروگلیوز واکنشی و تشکیل اسکار گلیال، ترمیم پس از SCI را ارتقا می‌دهد.<sup>۳۲</sup> این مطالعه هم‌راستا با مطالعه حاضر بود.

Lemire و همکاران در مطالعه خود در باره سلنیوم و عملکردهای حرکتی، بیان کردند که کمبود سلنیوم با اختلال شناختی و عصبی حرکتی همراه است، در حالی‌که نقص حسی و حرکتی به مقدار بیش از حد سلنیوم نسبت داده شده است.<sup>۳۳</sup> نتایج این مطالعه با مطالعه ما هم‌راستا نمی‌باشد در این مطالعه از دوزهای بالاتر سلنیوم استفاده شده است در حالی‌که در مطالعه ما از ۰/۲ mg/kg استفاده شده



## References

- Shaw RB, McBride CB, Casemore S, Martin Ginis KA. Transformational mentoring: Leadership behaviors of spinal cord injury peer mentors. *Rehabilitation psychology*. 2018;63(1):131.
- Di Bello F, Creta M, Napolitano L, Califano G, Passaro F, Morra S, et al. Male sexual dysfunction and infertility in spinal cord injury patients: state-of-the-art and future perspectives. *Journal of Personalized Medicine* 2022;12(6):873.
- Maleki MS, Khedri B, Roodposhti ME, Majdabadi HA, Seyedrezaei SO, Amanat N, et al. Epidemiology of traumatic spinal cord injuries in Iran; a systematic review and meta-analysis. *Archives of academic emergency medicine* 2022;10(1).
- Yousefpour M, Jahanbakhsh Z, Momenzadeh M, Mahmoudi Kelarjani M. A Review of the Therapeutic Effect of Natural Antioxidants on Spinal Cord Injury by Focusing on Experimental Studies. *Paramedical Sciences and Military Health* 2022;17(2):64-76.
- Zhang C, Zhai T, Zhu J, Wei D, Ren S, Yang Y, et al. Research progress of antioxidants in oxidative stress therapy after spinal cord injury. *Neurochemical Research* 2023;48(12):3473-84.
- Fanaei H, Keshtgar S, Bahmanpour S, Ghannadi A, Kazeroni M. Beneficial effects of  $\alpha$ -tocopherol against intracellular calcium overload in human sperm. *Reproductive Sciences* 2011;18(10):978-82.
- Jia Z, Zhu H, Li J, Wang X, Misra H, Li Y. Oxidative stress in spinal cord injury and antioxidant-based intervention. *Spinal cord* 2012;50(4):264-74.
- Garcia E, Hernández-Ayvar F, Rodríguez-Barrera R, Flores-Romero A, Borlongan C, Ibarra A. Supplementation with vitamin E, Zinc, Selenium, and copper re-establishes T-cell function and improves motor recovery in a rat model of spinal cord injury. *Cell Transplantation* 2022;31:09636897221109884.
- Ahsan U, Kamran Z, Raza I, Ahmad S, Babar W, Riaz M, et al. Role of selenium in male reproduction-A review. *Animal reproduction science* 2014;146(1-2):55-62.
- Alahmar AT. The effect of selenium therapy on semen parameters, antioxidant capacity, and sperm DNA fragmentation in men with idiopathic oligoasthenoteratospermia. *Biological Trace Element Research* 2023;201(12):5671-6.
- Wu H, Niu H, Shao A, Wu C, Dixon BJ, Zhang J, et al. Astaxanthin as a potential neuroprotective agent for neurological diseases. *Marine drugs* 2015;13(9):5750-66.
- Shimidzu N, Goto M, Miki W. Carotenoids as singlet oxygen quenchers in marine organisms. *Fisheries science* 1996;62(1):134-7.
- Gabriella Donà, Ivana Kožuh, Anna Maria Brunati, et al.. Effect of Astaxanthin on Human Sperm Capacitation *Marine Drugs* 2013, 11, 1909-1919.
- Kumalic SI, Klun IV, Bokal EV, Pinter B. Effect of the oral intake of astaxanthin on semen parameters in patients with oligo-asthenoteratozoospermia: a randomized double-blind placebo-controlled trial. *Radiology and oncology* 2020;55(1):97-105.
- Ferdowsian HR, Beck N. Ethical and scientific considerations regarding animal testing and research. *PloS one* 2011;6(9):e24059.
- Asadi MH, Zafari F, Sarveazad A, Abbasi M, Safa M, Koruji M, et al. Saffron improves epididymal sperm parameters in rats exposed to cadmium. *Nephro-urology monthly* 2014;6(1).
- Ghorbani M, Shahabi P, Ebrahimi-kalan A, Soltani-Zangbar H, Mahmoudi J, Bani S, et al. Induction of traumatic brain and spinal cord injury models in rat using a modified impactor device. *Physiology and Pharmacology* 2018;22(4):228-39.
- Mohammadi S, Movahedin M, Mowla SJ. Up-regulation of CatSper genes family by selenium. *Reproductive biology and endocrinology* 2009;7:1-6.
- Tripathi D, Jena G. Astaxanthin inhibits cytotoxic and genotoxic effects of cyclophosphamide in mice germ cells. *Toxicology* 2008;248(2-3):96-103.
- Li H, Dong X, Yang Y, Jin M, Cheng W. The neuroprotective mechanism of spinal cord stimulation in spinal cord ischemia/reperfusion injury. *Neuromodulation: Technology at the Neural Interface* 2021;24(1):43-8.
- Scheff SW, Saucier DA, Cain ME. A statistical method for analyzing rating scale data: the BBB locomotor score. *Journal of neurotrauma* 2002;19(10):1251-60.
- Heinsinger NM, Spagnuolo G, Allahyari RV, Galer S, Fox T, Jaffe DA, et al. Facial grimace testing as an assay of neuropathic pain-related behavior in a mouse model of cervical spinal cord injury. *Experimental neurology* 2020;334:113468.
- Leary SL, Underwood W, Anthony R, Cartner S, Corey D, Grandin T, et al., editors. AVMA guidelines for the euthanasia of animals: 2013 edition 2013: *American Veterinary Medical Association Schaumburg, IL*.
- Nudmamud-Thanoi S, Sueudom W, Tangsriskakda N, Thanoi S. Changes of sperm quality and hormone receptors in the rat testis after exposure to methamphetamine. *Drug and chemical toxicology* 2016;39(4):432-8.
- Gautam R, Singh KV, Nirala J, Murmu NN, Meena R, Rajamani P. Oxidative stress-mediated alterations on sperm parameters in male Wistar rats exposed to 3G mobile phone radiation. *Andrologia* 2019;51(3):e13201.
- Vargas-Baquero E, Johnston S, Sánchez-Ramos A, Arévalo-Martín A, Wilson R, Gosálvez J. The incidence and etiology of sperm DNA fragmentation in the ejaculates of males with spinal cord injuries. *Spinal Cord* 2020;58(7):803-10.
- Martemucci G, Costagliola C, Mariano M, D'andrea L, Napolitano P, D'Alessandro AG. Free radical properties, source and targets, antioxidant consumption and health. *Oxygen* 2022;2(2):48-78.
- Monfared YK, Khodabandehloo E, Farzam SA, Modabber MR, Nejad SM. Effects of selenium on various sperm parameters in varicocele rats. *World Family Medicine Journal: Incorporating the Middle East Journal of Family Medicine* 2018;99(5832):1-5.
- Toman R, Hluchy S, Cabaj M, Massanyi P, Roychoudhury S, Tungeova M. Effect of separate and combined exposure of selenium and diazinon on rat sperm motility by computer assisted semen analysis. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* 2016;38:144-9.
- Mortazavi M, Salehi I, Alizadeh Z, Vahabian M, Roushbandeh AM. Protective effects of antioxidants on sperm parameters and seminiferous tubules epithelium in high fat-fed rats. *Journal of reproduction & infertility* 2014;15(1):22.
- Fang Y, Zhong R, Chen L, Feng C, Sun H, Zhou D. Effects of astaxanthin supplementation on the sperm quality and antioxidant capacity of ram semen during liquid storage. *Small ruminant research* 2015;130:178-82.
- Chen Y-X, Zuliyaer T, Liu B, Guo S, Yang D-G, Gao F, et al. Sodium selenite promotes neurological function recovery after spinal cord injury by inhibiting ferroptosis. *Neural Regeneration Research* 2022;17(12):2702-9.
- Lemire M, Fillion M, Frenette B, Passos CJS, Guimarães JRD, Barbosa Jr F, et al. Selenium from dietary sources and motor functions in the Brazilian Amazon. *Neurotoxicology* 2011;32(6):944-53.
- Lu Y, Xie T, He X-X, Mao Z-F, Jia L-J, Wang W-P, et al. Astaxanthin rescues neuron loss and attenuates oxidative stress induced by amygdala kindling in adult rat hippocampus. *Neuroscience Letters* 2015;597:49-53.
- Fakhri S, Dargahi L, Abbaszadeh F, Jorjani M. Effects of astaxanthin on sensory-motor function in a compression model of spinal cord injury: involvement of ERK and AKT signalling pathway. *European Journal of Pain* 2019;23(4):750-64.
- Bhagwani A, Chopra M, Kumar H. Spinal cord injury provoked neuropathic pain and spasticity, and their GABAergic connection. *Neurospine* 2022;19(3):646.
- Wen X, Huang A, Hu J, Zhong Z, Liu Y, Li Z, et al. Neuroprotective effect of astaxanthin against glutamate-induced cytotoxicity in HT22 cells: Involvement of the Akt/GSK-3 $\beta$  pathway. *Neuroscience* 2015;303:558-68.
- Yamagishi R, Aihara M. Neuroprotective effect of astaxanthin against rat retinal ganglion cell death under various stresses that induce apoptosis and necrosis. *Molecular vision* 2014;20:1796.

## The impact of selenium and astaxanthin on sperm parameters and sensory-motor function recovery in spinal cord injured rats

### Abstract

Received: 22 Jan. 2024 Revised: 31 Jan. 2024 Accepted: 11 Apr. 2024 Available online: 20 Apr. 2024

Parviz Shahabi Ph.D.<sup>1</sup>  
Jalal Abdolalizadeh Ph.D.<sup>2</sup>  
Shirin Hasanpour Ph.D.<sup>3</sup>  
Behnaz Sadeghzadeh Oskouei Ph.D.<sup>4</sup>  
Soheila Bani Ph.D.<sup>3\*</sup>

1- Department of Physiology,  
Faculty of Medicine, Tabriz  
University of Medical Sciences,  
Tabriz, Iran.

2- Department of Laboratory  
Sciences, Faculty of Para Medicine,  
Drug Applied Research Center,  
Tabriz University of Medical  
Sciences, Tabriz, Iran.

3- Physical Medicine and  
Rehabilitation Research Center,  
Tabriz University of Medical  
Sciences, Tabriz, Iran.

4- Department of Reproductive  
Biology, Faculty of Advanced  
Medical, Tabriz University of  
Medical Sciences Tabriz, Iran.

\*Corresponding author: Physical  
Medicine and Rehabilitation Research  
Center, Tabriz University of Medical  
Sciences, Tabriz, Iran.  
Tel: +98-41-33144365  
E-mail: banisoheila@gmail.com

**Background:** Spinal cord injury (SCI) is a significant medical and social issue, leading to varying degrees of sensory and motor impairments. Most men experience sexual dysfunction and fertility problems. These issues can be partially attributed to pathophysiological mechanisms, including damage caused by reactive oxygen species (ROS). Targeted antioxidant therapy can significantly reduce oxidative stress and neuro inflammation. This study sought to examine the impact of selenium and astaxanthin on sperm parameters and the recovery of sensory-motor function in rats with spinal cord injury (SCI).

**Methods:** This experimental study utilized the rat animal model and was carried out at the Neuroscience Research Center Laboratory of Tabriz University of Medical Sciences from December 30, 2022, to November 27, 2023. Fifty adults male Wistar rats were randomly allocated into five groups of ten: control, sham, SCI, selenium-supplemented, and astaxanthin-supplemented. Except for the control and sham groups, spinal cord injury was induced in all other groups. Six weeks after the injury and upon completion of the treatment, the effects of selenium and astaxanthin supplementation on sperm parameters and spinal cord repair were assessed. The Basso, Beattie, and Brenham (BBB) scale was employed to evaluate motor function, while the Von Frey test was utilized to assess sensory status.

**Results:** A considerable rise in sperm concentration was noted in both the selenium-fed group and the astaxanthin-fed group when compared to the spinal cord injury group ( $P=0.001$ ). Supplementation with selenium and astaxanthin improved sperm concentration, progressive motility, and viability, bringing these parameters close to control levels ( $P<0.001$ ). However, neither of these substances had an effect on abnormal sperm morphology ( $P>0.05$ ). Both selenium and astaxanthin supplementation enhanced the motor and sensory functions of the injured rats ( $P<0.001$ ), with selenium showing a greater role in promoting repair compared to astaxanthin ( $P<0.001$ ).

**Conclusion:** Selenium and astaxanthin supplements improved sperm parameters, except for sperm morphology, and were effective in enhancing motor and sensory functions after spinal cord injury. Selenium was found to be more effective than astaxanthin in promoting spinal cord repair.

**Keywords:** astaxanthin, selenium, spinal cord injury, spinal cord repair.