

## تأثیر تطابق صدا بر حفاظت شنوایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی پلاسما در خرگوش

دکتر رمضان میرزایی\* دکتر عبدالامیر علامه\*\* دکتر سیدباقر مرتضوی\*\*\* دکتر علی خوانین\*\*\*  
دکتر انوشیروان کاظم‌نژاد\*\*\*\* مهدی اکبری\*\*\*\*

### Effect of sound conditioning on protection of hearing and plasma antioxidant activity in rabbits

R.Mirzaii AA.Allameh\* SB.Mortazavi A.Khavanin A.Kazemnejad M.Akbary

#### \*Abstract

**Background:** Noise is one of the major physical pollutants in present societies. Sound conditioning is used as means of protecting against noise-induced hearing loss. The status of plasma antioxidant system during sound conditioning is important.

**Objective:** To study possible involvement of plasma total antioxidant ability in noise-induced hearing loss and sound conditioning.

**Methods:** This study was carried out on 24 male white New Zealand rabbits (6 in each group). The rabbits were assigned to the following four groups: (1) Noise exposure (250Hz-20000Hz, 110 dB for 8h/day for 12 days), (2) Conditioning noise exposure (80dB for 10 days and 110 dB for 12 days), (3) Noise exposure (80 dB) and (4) control group. Auditory Brain stem Response (ABR) was measured and compared in all pre- and post-exposures groups. Plasma antioxidant power was also measured post exposure. FRAP was assayed in plasma sample collected from each animal using TPTZ reagent.

**Findings:** The ABR assay using click in different experimental groups showed that the absolute latency of 5<sup>th</sup> wave generation was statistically significant in first group as compared to other groups ( $p=0.0001$ ). Likewise ABR assay using tone burst showed a higher absolute latency observed in group 1. FRAP assay indicated that the antioxidant parameters were suppressed in group 1 when compared with data obtained from other groups ( $p<0.05$ ).

**Conclusion:** The ABR results found in our study, confirmed sound conditioning in rabbits exposed to 80 and 110 dB. Furthermore, changes in FRAP in rabbits studied in our experiment was indicative of involvement of antioxidant system in sound conditioning however, further studies needed.

**Keywords:** Antioxidant, Brain Stem, Hearing, Evoked Potentials Auditory

#### \* چکیده

**زمینه:** صدای ناخواسته یکی از آلاینده‌های فیزیکی جوامع امروز است و تطابق با صدا به عنوان مکانیزمی برای حفاظت از سیستم شنوایی و کاهش افت شنوایی ناشی از صدا در بین پستانداران نیاز به بررسی دارد.

**هدف:** مطالعه به منظور تعیین تأثیر تطابق صدا بر حفاظت شنوایی و تغییر قدرت آنتی‌اکسیدانی پلاسما در خرگوش انجام شد.

**مواد و روش‌ها:** این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۲ در آزمایشگاه‌های بهداشت حرفه‌ای و بیوشیمی دانشگاه تربیت مدرس بر

روی ۲۴ خرگوش سفید نر سه ماهه نیوزلندی، در چهار گروه انجام شد. گروه اول مواجهه با صدای ۱۱۰ دسی‌بل در بسامدهای

۲۵۰ تا ۲۰۰۰۰ هرتز (۸ ساعت در روز و ۱۲ روز متوالی)، گروه دوم (گروه تطابق) ۱۰ روز مواجهه با صدای ۸۰ دسی‌بل و ۱۲ روز

مواجهه با صدای ۱۱۰ دسی‌بل در همان بسامدها، گروه سوم در تماس با صدای ۸۰ دسی‌بل در شرایط مشابه گروه اول و گروه

چهارم به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. در همه گروه‌ها پاسخ شنیداری ساقه مغز (ABR) قبل و بعد از مواجهه با صداهای

مورد مطالعه اندازه‌گیری شد. قدرت آنتی‌اکسیدانی پلاسما به روش FRAP انجام و نتایج به دست آمده با گروه شاهد مقایسه شد.

**یافته‌ها:** در اندازه‌گیری پاسخ شنیداری ساقه مغز با استفاده از محرک کلیک در گروه‌های مورد بررسی، زمان تأخیر تشکیل موج پنج

در گروه اول بیش‌تر از بقیه گروه‌ها و این اختلاف با سایر گروه‌ها معنی‌دار بود ( $p=0.0001$ ). در اندازه‌گیری ABR با استفاده از محرک

تون‌پرست نیز در همه بسامدهای مورد اندازه‌گیری، میانگین زمان تأخیر تشکیل موج پنج نیز در این گروه بالاتر از دیگر گروه‌ها بود. بر

اساس نتایج آزمون FRAP میانگین مصرف آنتی‌اکسیدانی گروه اول بیش از گروه‌های دوم و سوم نسبت به گروه شاهد بود؛ به

طوری‌که اختلاف میانگین‌های گروه اول با گروه شاهد معنی‌دار بود ( $p<0.05$ )، ولی گروه دوم و سوم با گروه شاهد معنی‌دار نبود.

**نتیجه‌گیری:** نتایج اندازه‌گیری‌های قدرت آنتی‌اکسیدانی و پاسخ شنیداری ساقه مغز بیان‌کننده آن است که امکان تطابق با

صدا وجود دارد، اما برای استفاده عملی از آن به تحقیق بیش‌تری نیاز است.

**کلیدواژه‌ها:** آنتی‌اکسیدانت، ساقه مغز، شنوایی، شنوایی‌سنجی با پتانسیل‌های فراخوانده

\*\* استاد گروه بیوشیمی دانشگاه تربیت مدرس

\* استادیار بهداشت حرفه‌ای دانشگاه علوم پزشکی زاهدان

\*\*\*\* دانشیار گروه آمار زیستی دانشگاه تربیت مدرس

\*\*\* استادیار گروه بهداشت حرفه‌ای دانشگاه تربیت مدرس

\*\*\*\*\* مربی گروه شنوایی‌سنجی دانشگاه علوم پزشکی ایران

آدرس مکاتبه: تهران، تقاطع جلال آل احمد و دکتر چمران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده پزشکی، گروه بیوشیمی، صندوق پستی ۱۱۱-۱۴۱۱۵

✉ Email: allameha@modares.ac.ir



**\* مقدمه :**

صدمه‌های ناشی از صدا بر سیستم شنوایی و مطالعه جهت یافتن روش‌های حفاظتی این عضو همزمان با تاریخ نوشتن آغاز شده است.<sup>(۱)</sup> سازمان بهداشت جهانی برآورد کرده است که بیش از ۱۲ درصد جمعیت دنیا در معرض آفت شنوایی ناشی از صدا هستند. امروزه تطابق با صدا به عنوان وسیله‌ای برای کاهش اثرات زیان‌آور ناشی از آسیب صوتی شناخته شده است.<sup>(۲)</sup> دو اصطلاح در خصوص حفاظت شنوایی ناشی از صدا مطرح است؛ یکی تطابق و دیگری مقاومت و سخت شدن در مقابل آفت شنوایی ناشی از صدا.

وجود مقاومت به آسیب صوتی ابتدا به وسیله میلر و همکاران در سال ۱۹۶۳ بر اساس آزمایش روی گربه پیشنهاد شد. بدین صورت که وقتی گربه‌ها ۱۶ روز در معرض صدای منقطع قرار گرفتند، تغییرات آستانه در طول دوره بعدی مواجهه با صدای شدیدتر در مقایسه با آستانه‌های به دست آمده در روزهای اول، کاهش کمتری داشت.<sup>(۳)</sup> پدیده مقاومت و سخت شدن در مقابل صدا بر سیستم شنوایی موش خرما، خوچه هندی و موش صحرائی توسط محققین مختلف مورد بررسی قرار گرفته است.<sup>(۴ و ۵)</sup> به مواجهه حیوان در تراز فشار صدای کمتر از حد آسیب‌زا قبل از آن که در معرض آسیب صوتی قرار گیرد، تطابق گفته می‌شود.<sup>(۳)</sup> مطالعه‌های اخیر نشان داده است که حساسیت گوش داخلی به آسیب صوتی می‌تواند به وسیله تماس قبلی با یک محرک صوتی کاهش داده شود.<sup>(۶ و ۷)</sup>

این مطالعه با هدف تعیین اثر صدا با باند وسیع بسامدی بر آفت شنوایی، تغییرات قدرت آنتی‌اکسیدانی پلاسما و اثر تطابقی صدا در گروه‌های مورد مواجهه خرگوش انجام شد.

**\* مواد و روش‌ها :**

این مطالعه تجربی در سال ۱۳۸۲ در آزمایشگاه‌های گروه بهداشت حرفه‌ای و بیوشیمی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. برای اندازه‌گیری صدا، از صداسنج Bruel & Kjaer شماره ۲۲۳۱ و برای اندازه‌گیری پاسخ شنیداری ساقه مغز از دستگاه ABR (Madsen مدل ۲۲۵۰) استفاده شد.

تعداد ۲۴ خرگوش سفید نر سه ماهه نیوزلندی در چهار گروه ۶ تایی مورد مطالعه قرار گرفتند. گروه‌های اول و سوم به مدت ۱۲ روز و هر روز ۸ ساعت به ترتیب در معرض صداهای ۱۱۰ و ۸۰ دسی‌بل قرار گرفتند. گروه دوم ابتدا به مدت ۱۰ روز در معرض صدای ۸۰ دسی‌بل و سپس ۱۲ روز در معرض صدای ۱۱۰ دسی‌بل قرار گرفت. گروه چهارم (شاهد) در معرض هیچ صدایی قرار نداشت. شنوایی حیوان‌ها، قبل و بعد از مواجهه با صدا مورد آزمایش پاسخ شنیداری ساقه مغز (ABR)

از طرفی بر اساس فرضیه‌های سلیه (۱۹۵۶) صدا به عنوان یک عامل اکسیداتیو استرس مطرح شده است.<sup>(۱۰)</sup> استرس اکسیداتیو به فرآیندی گفته می‌شود که تعادل بین اکسیدکننده‌های ملکولی و آنتی‌اکسیدان‌ها را به نفع اکسیدکنندگی تغییر دهد. اگر بدن ذخیره کافی برای جبران آنتی‌اکسیدان‌های مصرف شده نداشته باشد باعث

لیتر آب مقطر)، اسید کلریدریک ۴۰ میلی مولار، سولفات آهن هفت آب، کلرید آهن ۶ آب و محلول TPTZ (۴،۲ و ۶ تری پیریدیل-S-تریازین) بود. پس از تهیه محلول کار FRAP، ۱/۵ میلی لیتر از آن را به ۱۵۰ میکرو لیتر آب مقطر اضافه نموده و ۵ دقیقه در حمام بن ماری ۳۷ درجه سانتی گراد قرار می گرفت، سپس ۵۰ میکرو لیتر نمونه تیمار یا استاندارد به لوله ها اضافه شده و دوباره ۱۰ دقیقه در حمام بن ماری ۳۷ درجه سانتی گراد قرار داده می شد. در خاتمه میزان جذب کمپلکس حاصل در طول موج ۵۹۳ نانومتر با دستگاه الکتروفوتومتر قرائت می شد.

#### \* یافته ها :

میانگین زمان تأخیر تشکیل موج پنج با هر دو محرک کلیک و تون برست در گروه دوم نسبت به گروه اول کمتر و این اختلاف نسبت به گروه شاهد کمتر بود. به طوری که در آزمایش ABR با استفاده از محرک کلیک، بین میانگین اختلافات زمان تأخیر تشکیل موج پنج گروه اول با سایر گروه ها معنی دار ( $p=0/0001$ )، ولی این اختلاف در بین گروه دوم با گروه های سوم و چهارم معنی دار نبود. در آزمایش ABR با استفاده از محرک تون برست نیز در گروه های مورد اندازه گیری، بین میانگین زمان تأخیر تشکیل موج پنج گروه دوم، سوم و چهارم در هیچ یک از بسامدهای مورد آزمایش اختلاف معنی دار نبود، اما این اختلاف بین نتایج گروه اول با سایر گروه ها در بسامدهای ۲۵۰ و ۵۰۰ با  $p=0/0001$ ، در بسامدهای ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ با  $p=0/09$  و در فرکانس ۴۰۰۰ با  $p=0/1$  معنی دار بود (جدول شماره ۱). تجزیه و تحلیل نتایج اندازه گیری قدرت آنتی اکسیدانی کل پلاسم، اختلاف بین میانگین مقادیر گروه دوم با شاهد و گروه اول را معنی دار نشان نداد، هر چند بین میانگین مقادیر قدرت آنتی اکسیدانی گروه اول با گروه شاهد اختلاف معنی دار بود ( $p<0/05$ ) (نمودار شماره ۱).

قرار گرفت و همچنین ۲۴ ساعت پس از آن به منظور جداسازی پلاسم، از قلب خرگوش ها خون گیری شد. میانگین و انحراف معیار نتایج اندازه گیری ها به دست آمد و به منظور بررسی اختلاف میانگین مقادیر به دست آمده بین گروه ها از آزمون آماری تحلیل واریانس یک طرفه استفاده شد.

در دو نوبت (یک روز قبل ABR اندازه گیری های از مواجهه و پس از اتمام دوره های مواجهه) با دو محرک کلیک و تون برست با تراز فشار صدای ۱۰۰ دسی بل انجام شد. برای این منظور ابتدا خرگوش ها با تزریق مخلوط گزیلازین (۶ میلی گرم در کیلوگرم) و کتامین (۳۵ میلی گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به طریق زیر جلدی بی هوش می شدند.<sup>(۱۶)</sup> الکتروود مثبت سوزنی به زیر پوست فرق سر، الکتروود منفی به گوش راست (گوش مورد آزمایش) و الکتروود زمین به گوش غیر آزمایش شونده وصل می شد. دستگاه با (یک میلی ثانیه، Raise-fail time: زمان اُفت و خیز) میزان ۲۰ تحریک در ثانیه تنظیم می شد و در بسامدهای ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ هرتز، تراز فشار صدای ۱۰۰ دسی بل به گوش آزمایش شونده (گوش راست) فرستاده می شد. دستگاه تعداد ۲۰۴۸ تحریک را معدل گیری کرده و پاسخ را به شکل امواج یک تا پنج بر روی نمایشگر ترسیم می کرد. زمان تأخیر تشکیل امواج یک تا پنج و اشکال موجی برای هر بسامد ثبت چاپ می شد و مقدار عددی زمان تشکیل هر موج بر حسب میلی ثانیه ثبت می شد. در این مطالعه زمان تأخیر تشکیل موج پنج به عنوان معیار ارزیابی پاسخ شنیداری ساقه مغز استفاده شد.

اندازه گیری قدرت آنتی اکسیدانی (آزمون FRAP) به روش بنزی و استرین (Benzie & Strain) انجام شد.<sup>(۱۷)</sup> مواد مورد استفاده در این آزمایش شامل بافر استات با  $pH=3/6$  (۳/۱ گرم استات سدیم سه آب و ۱۶/۱ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال در یک

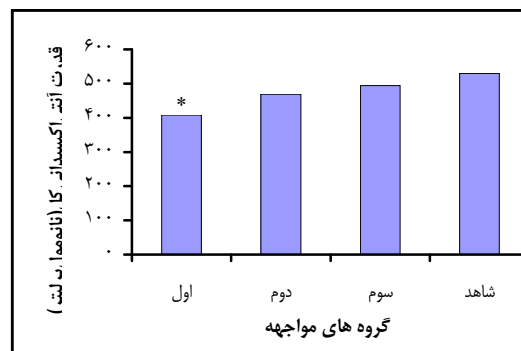
جدول ۱- میانگین زمان تأخیر تشکیل موج پنج پاسخ شنیداری ساقه مغز (ABR) بر حسب میلی ثانیه با محرک‌های کلیک و تون‌پرست (بسامدهای مختلف)

شاهد	سوم (۸۰ دسی‌بل)	دوم (۸۰ و ۱۱۰ دسی‌بل)	اول (۱۱۰ دسی‌بل)	گروه بسامد (هرتز)
۴/۸۹ ± ۰/۰۳۱	۴/۸۹ ± ۰/۰۴۷	۴/۹۷۳ ± ۰/۰۴۵	۵/۵۸۵ ± ۰/۰۸۳	۲۵۰
۴/۹۱ ± ۰/۰۲۴	۴/۹۴ ± ۰/۰۴۳	۵/۱ ± ۰/۰۱۴	۵/۶۲ ± ۰/۰۸۳	۵۰۰
۴/۸۶ ± ۰/۰۲۵	۴/۸۷ ± ۰/۰۳۸	۴/۸۸۷ ± ۰/۰۷۵	۵/۰۷ ± ۰/۰۶۱	۱۰۰۰
۴/۷۳ ± ۰/۰۲۳	۴/۷۳ ± ۰/۰۴۳	۴/۸ ± ۰/۰۶۸	۴/۹۶ ± ۰/۰۷۵	۲۰۰۰
۴/۶۹۸ ± ۰/۰۲	۴/۷۳ ± ۰/۰۲۸	۴/۷۱ ± ۰/۰۶۱	۴/۸۶۷ ± ۰/۰۵۳	۴۰۰۰
۴/۶۴ ± ۰/۰۱۷	۴/۶۴ ± ۰/۰۳۵	۴/۶۰۲ ± ۰/۰۵۸	۴/۸۱ ± ۰/۰۸۱	۸۰۰۰
۴/۵۶ ± ۰/۰۲۱	۴/۴۷ ± ۰/۰۰۳	۴/۵۶ ± ۰/۰۴۳	۴/۸۱ ± ۰/۰۲۶	کلیک (Click)

۸ تا ۱۶ کیلوهرتز را که نزدیک به آستانه شنوایی حیوانات مورد مطالعه بود، به عنوان صدای تطابق انتخاب نمودند و نتایج مطالعه نشان داد که در گروه مواجهه با صدای تطابق، اُفت شنوایی دائمی کمتر از گروه شاهد بوده و اثر تطابق در حفاظت شنوایی مثبت است.<sup>(۸)</sup>

کان لون و همکاران از مطالعه خود نتیجه گرفتند که صدای تطابق مورد استفاده برای حفاظت شنوایی باید در سطحی باشد که منجر به اُفت شنوایی موقتی، دائم و آسیب سلول‌های شنوایی نشود.<sup>(۹)</sup> بررسی نتایج مطالعه‌های محققین اثرات متفاوتی از تطابق با صدا را بر حفاظت سیستم شنوایی نشان داده‌اند و دلایل تفاوت را در طول مدت مواجهه و پهنای صوت انتخاب شده مطرح نموده‌اند.<sup>(۱۸)</sup> از طرفی صدا به عنوان یک اکسیداتیو استرس مورد توجه محققین قرار گرفته است. یاماسوبا و همکاران با تزریق یک داروی بازدارنده سنتز گلوکوتایون (آنتی‌اکسیدان) به خوکچه هندی و مواجه کردن آنها با تراز فشار صدای ۱۰۲ دسی‌بل نشان دادند که استفاده از بازدارنده ساخت گلوکوتایون، حساسیت حلزون به صدمه ناشی از صدا را افزایش می‌دهد.<sup>(۱۴)</sup> محققین در تلاش بوده‌اند که برآیند عوامل اکسیدان و آنتی‌اکسیدان را در یک آزمون ارزیابی کنند. درحال

نمودار ۱- میانگین قدرت آنتی‌اکسیدانی کل پلاسمای خون در گروه‌های مختلف



\*  $p < 0.05$

#### \* بحث و نتیجه‌گیری :

این مطالعه نشان داد که مواجهه با صدای تطابق باعث کاهش اثر صدا بر سیستم شنوایی و مصرف آنتی‌اکسیدانی نسبت به گروه شاهد شده است، لذا می‌توان از تطابق به منظور حفاظت حیوان از صدا استفاده نمود. اگرچه یک مطالعه تجربی در سطح ملکولی به منظور بررسی اثر تطابق صدا بر حفاظت سیستم شنوایی موش‌ها نشان داده است که تطابق بر حفاظت سیستم شنوایی در مقابل صدای با تراز فشار صدای بالا نسبت به گروه کنترل تأثیر مثبتی ندارد.<sup>(۱۸)</sup> یوشیدا و همکاران در مطالعه‌ای باند صوتی

low-level acoustic stimulus. *Hearing Res* 1988; 34: 197-200

9. Canlon B, Borg E, Flock A. Protection against noise trauma by pre-exposure to a low level acoustic stimulus In: Ryan A F, Benett T M, Woolf N K, Axelsson A. Protection from noise induce hearing loss by prior exposure to a non-traumatic toughening phenomenon in rat's auditory organ stimulus: Role of the middle ear muscles. *Hear Res* 1994; 72: 23-8

10. Selye H. The stress of life. In: Lencher P. Environmental noise and health: an integrated research perspective. *Environ Int* 1996; 3(22): 117-29

11. Elsayed M N. Antioxidant mobilization in response to oxidative stress: a dynamic environmental nutritional interaction. *Nutrition* 2001; 10: 827-34

12. Ohinataab Y, Yamasobae T, Schachta J, Millera J M. Glotathione limits noise induced hearing loss. *Hear Res* 2000; 29(146): 28-34

13. Yamasoba T, Alfred L N, Craige H et al. Role of glutathione limits noise induced hearing loss. *Brain Res* 1998; 784: 82-90

14. Priol RI, Cao G. In vivo total antioxidant capacity: comparison of different analytical methods. *Free Radical Biology & Medicine* 1999; 27: 1173-81

15. Ranjbar A, Pasalar P, Sedighi A, Abdollahi M. Induction of oxidative stress in paraquat formulating workers. *Toxicology Letters* 2002; 131: 191-4

16. Harkness E J, Wagner E J. The biology and medicine of rabbits and rodent. 2<sup>nd</sup> ed, Philadelphia, Lea & Febiger, 1983, 60-2

17. Benzie I F, Strain J J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a measure of antioxidant power: the FRAP assay. *Analytical Biochem* 1996; 239: 70-6

18. Yoshida N, Charles Liberman M C. Sound conditioning reduces noise induced permanent threshold shift in mice. *Hear Res* 2000; 148: 213-9

حاضر بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با تکنیک FRAP مورد استقبال قرار گرفته است و در تحقیق حاضر از آن استفاده شده است.

نتایج این تحقیق نشان داد که اثر تطابقی صدا بر حفاظت شنوایی و تغییرات آنتی‌اکسیدانی خرگوش‌ها (گروه دوم) مثبت بوده و اختلاف میانگین متغیرهای مورد اندازه‌گیری از نظر آماری با سایر گروه‌ها معنی‌دار است. برخی مطالعه‌ها اثر تطابق را منفی و برخی دیگر نتایج مشابه این تحقیق داشته‌اند. (۱۸۰۱۰۹۰۷۰۳ و ۱۸۰۱۰۹۰۷۰۳) نتایج مطالعه‌های انجام شد، در مورد اثرات زیان‌آور صدا و افزایش مداوم سطح آلودگی صوتی در صنعت، بیان‌گر لزوم تحقیق بیشتر در استفاده از این روش کنترلی (تطابق) است.

#### \* مراجع :

1. Kaygusuz I, Amet O, Bilal U, Sinasi Y. Role of oxygen radicals in noise related hearing impairment. *Hear Res* 2001; 162: 43-7
2. Niu X, Canlon B. Protecting against noise trauma by sound conditioning. *Sound Vibration* 2002; 1: 115-8
3. Miller J D, Watson C S, Cowel W P. Deafening effects of noise on the cat. *Acta Otolaryngol* 1963; 176(suppl): 1-91
4. Beoettecher F A. Auditory brainstem response correlates of resistance to noise induced hearing loss in the mogolian Gerbil. *Acoustical Society of America* 1993; 94: 3207-14
5. Clark W W, Boettcher F A, Bohne B I. Effect of periodic rest on hearing loss and cochlear damage following exposure to noise. *Acoustical Society of America*, 1987; 82: 1253-64
6. Pukkila M, Zhai S, Virkkala J, Pirovola U, Ylikoski J. The toughening phenomenon in rat's auditory organ. *Acta Otolaryngologica* 1997; 529: 59-62
7. Campo P, Subnramanian M, Henderson D. The effect of conditioning exposure on hearing loss from traumatic exposure. *Hearing Res* 1991; 55: 195-200
8. Canlon B, Borg E, Flock A. Protection against noise trauma by pre-exposure to a