

دانشور

پزشکی

آثار صدای شدید با فرکانس‌های زیر و بـم در افـت شنوایی و سیستم اکسیداتیو استرس خون و کبد خرگوش

نویسندگان: رمضان میرزایی^۱، دکتر عبدالامیر علامه^۲، دکتر سیدباقر مرتضوی^۳،
دکتر علی خوانین^۴، دکتر انوشیروان کاظم‌نژاد^۵، مهدی اکبری^۶، دکتر نصرالله
کمالیان^۶

۱. دانشجوی دکتری بهداشت حرفه‌ای دانشگاه تربیت مدرس
۲. استاد گروه بیوشیمی دانشگاه تربیت مدرس
۳. استادیار گروه بهداشت حرفه‌ای دانشگاه تربیت مدرس
۴. دانشیار گروه آمار زیستی دانشگاه تربیت مدرس
۵. مربی گروه شنوایی سنجی دانشگاه علوم پزشکی ایران
۶. استادیار مؤسسه ژئوفیزیک دانشگاه تهران

چکیده

مطالعه در مورد آسیب شنوایی ناشی از صدا، یافتن راه‌های حفاظت از آن، و فراهم کردن روش‌های درمانی مناسب، هم‌زمان با تاریخ نوشتن آغاز شده است [۱]. امروزه صدای محیط از آلاینده‌های زندگی جوامع کشورهای صنعتی به‌شمار می‌آید و صدا به‌عنوان یک عامل استرس‌زای فیزیکی مورد توجه است. تحقیقات اخیر، عمدتاً بر آثار استرسی صدا و تاثیر رادیکال‌های اکسیژن آزاد بر بافت و تغییرات آستانه شنوایی متمرکز است.

این مطالعه به‌منظور بررسی آثار تراز فشار صدای 110 dB_A (۹۶ ساعت، ۱۲ روز و روزی ۸ ساعت) با فرکانس‌های $20000 - 250 \text{ Hz}$ (باند وسیع فرکانسی)، $20 \text{ KHz} - 3540 \text{ Hz}$ به‌عنوان فرکانس‌های زیر و $250 - 3540 \text{ Hz}$ به‌عنوان فرکانس‌های بـم بر تغییرات آستانه شنوایی، گلوتاتیون به‌عنوان یک عامل آنتی‌اکسیدان و مالون‌دی‌آلدئید (محصول پراکسیداسیون چربی) خون و کبد خرگوش انجام شد. پاسخ شنیداری ساقه مغز (Auditory Brainstem Response: ABR) و گسیل‌های صوتی اعوجاجی گوش (Distortion Produce Oto-Acoustic Emission: DPOAE) خرگوش‌های هر گروه در قبل از مواجهه با صدا و ۱۶ ساعت بعد از اتمام دوره مواجهه بررسی شد و پس از خون‌گیری و نمونه برداری بافت کبد خرگوش‌ها، حدود مالون‌دی‌آلدئید (Malondialdehyde: MDA) و گلوتاتیون (Glutathione: GSH) خون و کبد اندازه‌گیری شد.

مقایسه بین میانگین مقادیر پارامترهای مورد اندازه‌گیری در بین گروه‌های مورد مطالعه با گروه کنترل با آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) انجام گرفت. نتایج نشان داد که صدا در هر سه گروه مطالعه، نسبت به گروه کنترل باعث کاهش آستانه شنوایی، مقدار گلوتاتیون و افزایش سطح مالون دی‌آلدئید خون گردیده و بین میانگین مقادیر گروه‌ها نسبت به گروه کنترل اختلاف معنادار وجود دارد ($P < 0.05$). آثار گروه‌های فرکانسی نیز بر تغییرات پارامترهای مورد اندازه‌گیری قابل توجه است.

واژه‌های کلیدی: پاسخ شنیداری ساقه مغز، گلوتاتیون، مالون دی‌آلدئید، صدا

دوماهنامه علمی - پژوهشی
دانشگاه شاهد
سال دوازدهم - شماره ۵۳
آبان ۱۳۸۳

مقدمه

صدای محیطی از آلاینده‌های زندگی انسان‌ها به‌ویژه در جوامع صنعتی به‌شمار می‌آید [۱]. در اروپا نسبت جمعیت در معرض صدای محیطی بالای ۶۵ dB_A در طول ۱۰ سال گذشته از ۱۵ در صد به ۲۶ درصد افزایش یافته است [۳]. آثار استرسی صدا منجر به فعالیت سیستم عصبی مرکزی و در نتیجه، افزایش کات کولامین‌ها و گلوکوکورتیکوئیدهای سیستم گردش خون، افزایش ضربان قلب، فشار خون، تغییرات در سیستم تهویه تنفسی، میزان متابولیت، مکانیسم‌های دفاع آنتی‌اکسیداتیو و حساسیت به لیپید پراکسیداسیون، ترکیبات چربی، تغییرات در سیستم ایمنی و بزرگی غده آدرنال می‌شود [۲].

مکانیسم‌های مختلفی برای افت شنوایی ناشی از صدا مطرح گردیده که دو نوع مهم آن عبارتند از: (۱) ضربه مکانیکی مستقیم به اندام کرتی، (۲) استرس متابولیکی از طریق افزایش متابولیسم اکسیداتیو در گوش داخلی. یک فاکتور مهم در ارتباط با تخریب بافتی از طریق استرس متابولیکی، تولید گونه‌های فعال اکسیژن است (Reactive Oxygen Species: ROS). اهمیت گونه‌های فعال اکسیژن در افت شنوایی ناشی از صدا در یافته‌های مختلفی تأیید شده است [۴، ۵، ۶، ۷]. اکسیداتیو استرس به فرایندی گفته می‌شود که تعادل طبیعی بین پراکسیدها و آنتی‌اکسیدها را به گونه‌ای تغییر می‌دهد که نتیجه فرایندها در جهت تقویت اکسیدکننده‌هایی است که باعث صدمه بیولوژیکی می‌گردند. گلوکاتینون یک آنتی‌اکسیدانت مهم سلولی است که صدمه سلول به‌وسیله گونه‌های فعال اکسیژن را محدود می‌کند. گلوکاتینون مهم‌ترین تیول غیرپروتئینی در سلول‌های پستانداران است و آنتی‌اکسیداتیو است که با گونه‌های اکسیژن فعال به‌طور مستقیم یا کاتالیزه شده با آنزیم‌های پراکسیداز و ترانس هیدروژناز واکنش می‌دهد. این آنتی‌اکسیدان به‌ویژه برای اندام‌های در معرض استرس اکسیداتیو یا سموم با منشأ خارجی اهمیت دارد [۶].

در علم ادیولوژی OAE عبارت است از ثبت سیگنال‌های صوتی نشأت گرفته از حلزون در داخل مجرای شنوایی که متعاقب تحریک صوتی و یا بدون آن به‌دست می‌آید. DPOAE ها اساساً از عناصر غیرخطی در حلزون که به‌وسیله امواج ارسالی تحریک شده‌اند، ایجاد می‌شود و بیش از ۲۰ سال است مورد استفاده قرار می‌گیرد [۸، ۹]. پاسخ شنیداری ساقه مغز (ABR) در ترومای صوتی، مواد شیمیایی اتوتوکسیک و اندازه‌گیری حدود آستانه شنوایی افراد متمرکز و غیره جهت بررسی سیستم شنوایی بالای حلزون مورد استفاده قرار می‌گیرد [۹، ۱۰، ۱۱]. مطالعه حاضر به‌منظور بررسی اثر صداهای شدید در فرکانس‌های مختلف بر تغییرات آنتی‌اکسیدانی (گلوکاتینون)، لیپید پراکسیدانی (مالون‌دی‌آلدنید) خون و کبد و ارتباط آن‌ها با افت شنوایی در خرگوش انجام شد و مقایسه بین نتایج اندازه‌گیری‌های گروه‌های مورد مطالعه با آنالیز واریانس یک طرفه (ANOVA) صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به روش تجربی روی ۲۴ خرگوش نر سفید سه ماهه نیوزلندی در چهار گروه (هر گروه ۶ خرگوش) که مطابق ذیل طراحی شده، انجام گرفت:

۱. گروه مواجهه با صدای ۱۱۰ dB_A در فرکانس‌های ۲۰ KHz-۲۵۰ Hz (۸ ساعت در روز و ۱۲ روز متوالی)
۲. گروه در معرض با صدای ۱۱۰ dB_A در فرکانس‌های ۳۵۴۰-۲۵۰ Hz (۸ ساعت در روز و ۱۲ روز متوالی)
۳. گروه در تماس با صدای ۱۱۰ dB_A در فرکانس‌های ۲۰ KHz-۳۵۴۰ Hz (۸ ساعت در روز و ۱۲ روز متوالی)
۴. گروه کنترل (بدون تماس با صدا).

در این مطالعه از صدا سنسج Bruel & Kjaer شماره ۲۲۳۱، دستگاه EPA Madsen 2250 برای اندازه‌گیری پاسخ شنیداری ساقه مغز، دستگاه ILO 88 برای اندازه‌گیری گسیل‌های صوتی اعوجاجی گوش

اندازه‌گیری DPOAE و ABR

اندازه‌گیری DPOAE به‌عنوان یک آزمایش غربالگری، به‌منظور بررسی عملکرد حلزون مفید است و در بررسی شنوایی حیوانات کاربرد دارد. برای اندازه‌گیری DPOAE از دستگاه OAE ILO, HORT MANN استفاده شد. برای انجام این آزمایش، پس از تنظیم دستگاه، هر خرگوش با استفاده از مخلوط داروهای کتامین و گزیلازین بی‌هوش می‌شد. پس از معاینه ظاهری گوش خرگوش و انتخاب پروب مناسب، پروب به آرامی داخل مجرای گوش جا می‌گرفت و آزمایش آغاز می‌شد. سپس DP-gram را از منوی آزمایش دستگاه انتخاب و پس از وضوح صفحه آزمایش (سه نقطه در هر اکتاو) انتخاب می‌شد. بعد از انجام مراحل روی دستگاه، آزمایش شروع می‌گردید. DPOAE در نتیجه تحریک با دو تون خالص هم زمان f1 و f2 حادث می‌شود و در حلزون محصولات اعوجاجی ناشی از ارائه همزمان این دو تون به‌طور معمول در ناحیه f1-f2 ۲ به دست می‌آید. پس از اتمام آزمایش، خرگوش بی‌هوش برای انجام آزمایش ABR آماده می‌گردید.

برای اندازه‌گیری پاسخ شنیداری ساقه مغز از دستگاه ABR مدل EPA 2250 Madsen با قابلیت انجام شنوایی سنجی به دو روش کلیک (Click) و تون برست (Tone Burst) با اصوات ساده در فرکانس‌های ۸۰۰۰-۲۵۰ هرتز و شدت تحریک ۱۰۰ دسی‌بل استفاده شد. در این آزمایش، محرک‌های صوتی توسط دستگاه، از طریق اینسرتی (insert) که در مجرای گوش حیوان قرار گرفته ارسال می‌شود. الکترودها به زیر پوست فرق سر، گوش راست (گوش آزمایش‌شونده) و گوش غیرآزمایش‌شونده نصب می‌شد. پس از تنظیم دستگاه (time Rise-fail) یک میلی‌ثانیه؛ Rate ۲۰ تحریک در ثانیه، تراز فشار صدای تحریکی ۱۰۰dB و انتخاب فرکانس) آزمایش ABR به روش تون برست (Tone Burst) و کلیک انجام می‌شد. دستگاه تعداد ۲۰۴۸ تحریک را در هر فرکانس معدل‌گیری کرده. پاسخ را به شکل امواج ۱ تا ۵ بر روی نمایشگر رسم می‌کرد. در نهایت زمان تأخیر و شکل امواج ۱ تا ۵ برای هر فرکانس ثبت می‌گردید [۱۲، ۱۱، ۲].

(DPOAE)، محفظه مخصوص برای در مواجهه قرار دادن گروه‌های خرگوش با صداهای مورد مطالعه، اسپکتروفتومتر و مواد شیمیایی مورد لزوم جهت اندازه‌گیری گلوپاتیون و مالون دی‌آلدئید خون و کبد مورد استفاده قرار گرفت. به‌منظور تولید صدا در محدوده‌های فرکانسی مورد مطالعه و حصول اطمینان از ایجاد آن‌ها از برنامه‌های نرم افزاری، دستگاه تولیدکننده صدا، آمپلی فایر، اسیلوسکوپ، بلندگو، محفظه مناسب و دستگاه‌های صداسنج مختلف (TES Bruel & Kaejer 2231 & 1358 sound and analyzer Analyzer دانمارک، CEL ساخت کشور انگلستان) استفاده شد. سپس هر گروه خرگوش در داخل محفظه به گونه‌ای قرار گرفتند که صدای یکسانی به همه خرگوش‌ها برسد. همچنین در طول مواجهه و در ساعات مختلف، اندازه‌گیری صدا در محدوده شنوایی خرگوش‌ها انجام شد.

خرگوش‌های همه گروه‌ها قبل از مواجهه با صدا مورد آزمایش DPOAE و ABR قرار گرفتند. هر گروه ۱۲ روز و روزی ۸ ساعت - در مجموع ۹۶ ساعت - در معرض صدای 110 dB_A در فرکانس مورد مطالعه قرار گرفت. ۱۶ ساعت پس از اتمام دوره مواجهه با صدا، شنوایی گروه‌های خرگوش به روش‌های DPOAE و ABR اندازه‌گیری شد. ۱۲ ساعت بعد از اندازه‌گیری شنوایی، پس از آغشته کردن سرنگ‌ها با ماده ضدانعقاد هپارین، به‌طور مستقیم از قلب هر خرگوش ۷ میلی‌لیتر خون به‌منظور اندازه‌گیری گلوپاتیون و مالون دی‌آلدئید جمع‌آوری شد و در شرایط سرمای مناسب به آزمایشگاه انتقال یافت و آزمایش‌های مربوط به اندازه‌گیری گلوپاتیون و مالون دی‌آلدئید انجام شد. ۲۴ ساعت پس از زمان خون‌گیری ۴ نمونه کبد، از هر خرگوش تهیه و پس از اقدامات لازم، داخل فویل‌هایی که مشخصات نمونه‌ها در روی آن‌ها نوشته شده بود، قرار داده شد و در دمای -70°C درجه سانتی‌گراد نگهداری گردید. در خاتمه، اندازه‌گیری گلوپاتیون و مالون دی‌آلدئید بافت کبد انجام شد.

اندازه‌گیری گلوپروتئین خون و بافت

اندازه‌گیری گلوپروتئین احیا در نمونه‌های خون تام به روش بوتلر (Butler) انجام شد. در روش بوتلر از معرف ۵-۵-دی تیوبیس ۲- نیترو بنزوئیک اسید (DTNB) محلول در آب جهت اندازه‌گیری گلوپروتئین استفاده می‌شود. DTNB با ترکیبات دو حلقه دارای گروه تیول واکنش می‌دهد و تولید نیترو مرکاپتو بنزوئیک اسید می‌کند که دارای رنگ زرد قوی است (جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۱۲ نانومتر قرائت می‌گردد) و برای اندازه‌گیری گلوپروتئین به کار می‌رود. المن در سال ۱۹۵۹ روشی برای اندازه‌گیری گروه‌های سولفیدریل در بافت‌ها ارائه کرد. در سال ۱۹۶۷ دو محقق به نام سیدلاک و لیندسی با ایجاد تغییراتی در روش المن، این روش را برای اندازه‌گیری گروه‌های سولفیدریل متصل به پروتئین، غیرپروتئینی و تام به کار بردند. در این مطالعه، میزان گلوپروتئین هم‌وزنه کبد به روش فوق اندازه‌گیری شد [۱۵-۱۳].

اندازه‌گیری مالون دی آلدئید (MDA) غشای اریتروسیت‌ها و بافت

در این تحقیق، برای ارزیابی میزان پراکسیداسیون لیپید گلبول‌های قرمز از روش استوک و دورماندی (Dormandy & Stock) با تغییراتی که در این روش داده شده، استفاده شد [۱۶ و ۱۷] و میزان پراکسیداسیون لیپیدها (مالون دی آلدئید) با معرف تیوباریتوریک اسید (TBA) مورد بررسی قرار گرفت.

اساس اندازه‌گیری مالون دی آلدئید در بافت نیز بر این است که تیوباریتوریک اسید به مالون دی آلدئید متصل می‌شود و محصول رنگی ایجاد می‌کند. با اندازه‌گیری میزان جذب توسط اسپکتروفتومتر، غلظت مالون دی آلدئید محاسبه می‌شود.

یافته‌ها

۱. مقایسه نتایج آزمایش پاسخ شنیداری ساقه مغز به دو روش کلیک و تون برست (نمودار ۱) نشان می‌دهد که میانگین زمان تأخیر تشکیل موج پنج در گروه‌های مواجهه با صدای ۱۱۰ دسی‌بل نسبت به گروه

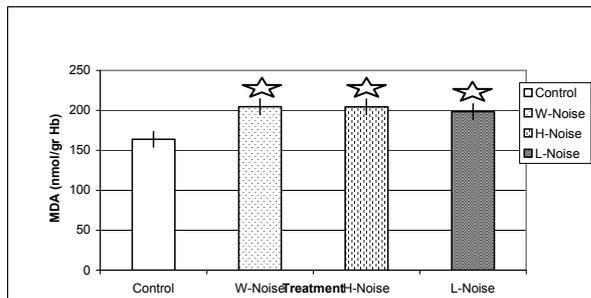
کنترل افزایش داشته است. جدول ۱ حدود اطمینان بین گروه‌ها را در فرکانس‌های مختلف نسبت به گروه کنترل و در هر دو روش کلیک و تون برست نشان می‌دهد.

۲. نتایج آزمایش DPOAE نشان می‌دهد که پاسخ عملکرد شنوایی حلزونی در هر سه گروه در تماس با صدای ۱۱۰ دسی‌بل نسبت به گروه کنترل کاهش زیادی داشته است، به طوری که آنالیز واریانس یک طرفه میانگین پاسخ فرکانسی خرگوش‌های در مواجهه با صدای ۱۱۰ دسی‌بل و فرکانس‌های باند باریک (۳۵۴۰-۲۵۰ و ۲۵۰-۲۰۰۰۰ هرتز) نسبت به گروه کنترل، در همه فرکانس‌های مورد آزمایش (۶۲۹۹-۱۰۰۱ هرتز) اختلاف معنادار ($P < 0.03$) دارند. میانگین پاسخ فرکانسی خرگوش‌های در تماس با صدای ۱۱۰ دسی‌بل و باند وسیع فرکانسی (۲۵۰-۲۰۰۰۰ هرتز) در فرکانس‌های زیر ۲۰۰۰ هرتز اختلاف معناداری با گروه کنترل ندارد ($P > 0.05$). جدول ۲ حدود اطمینان ($P < 0.03$) را در فرکانس‌های مورد آزمایش گروه‌های در تماس با صدا نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد.

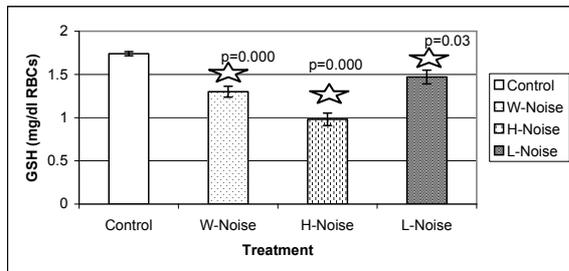
۳. نمودار ۳ میانگین مقادیر مالون دی آلدئید اندازه‌گیری شده خون را در هر سه گروه در معرض صدا نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد. براساس نتایج آنالیز واریانس انجام گرفته بین میانگین مقادیر مالون دی آلدئید اندازه‌گیری شده گروه‌های در مواجهه با صدا نسبت به گروه کنترل، اختلاف معنادار است ($P < 0.000$).

۴. نمودار ۴ میانگین مقادیر گلوپروتئین اندازه‌گیری شده خون را در هر سه گروه در معرض صدا نسبت به گروه کنترل نشان می‌دهد. نتایج آنالیز واریانس انجام گرفته بین میانگین مقادیر گلوپروتئین اندازه‌گیری شده در گروه‌های در مواجهه با صدا (۱۱۰ دسی‌بل و فرکانس‌های ۲۵۰-۲۰۰۰۰ و ۳۵۴۰-۲۰۰۰۰ هرتز) نسبت به گروه کنترل با $P < 0.000$ و گروه در معرض صدای ۱۱۰ دسی‌بل و فرکانس‌های ۳۵۴۰-۲۵۰ هرتز نسبت به گروه کنترل اختلاف معناداری را نشان داد ($P = 0.03$).

۵. نتایج اندازه‌گیری گلوپروتئین در نمونه‌های بافت کبد خرگوش‌های در مواجهه با صدا در هر سه گروه نسبت به گروه کنترل اختلاف معناداری ندارد ($P > 0.05$).

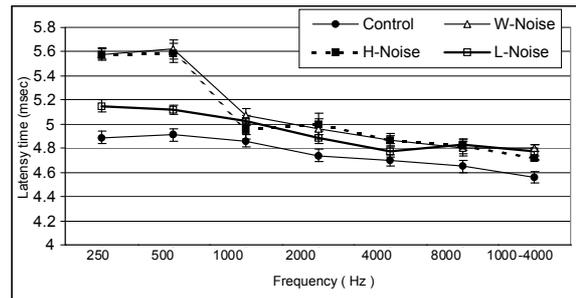


نمودار ۳ نتایج اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید خون بر حسب نانومول بر گرم هموگلوبین در گروه‌های مورد اندازه‌گیری. (گروه‌های مورد اندازه‌گیری: W-Noise) گروه مواجهه با ۲۰۰۰۰-۲۵۰ هرتز، L-Noise، گروه مواجهه با ۲۵۰-۳۵۴۰ هرتز و H-Noise (گروه مواجهه با ۲۰۰۰۰-۳۵۴۰ هرتز) * معنادار بودن گروه‌ها را نسبت به کنترل نشان می‌دهد.

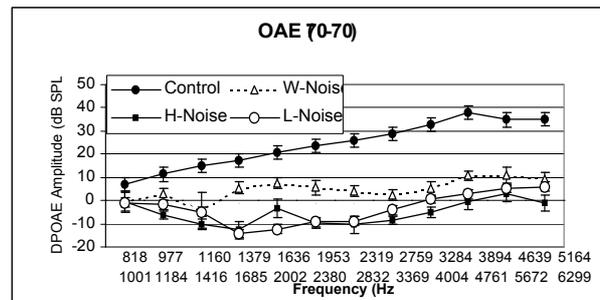


نمودار ۴ نتایج اندازه‌گیری گلوتاتیون بر حسب میلی‌گرم بر دسی‌لیتر گلوبول‌های قرمز خون در گروه‌های مورد اندازه‌گیری

این نتایج در حفاظت شنوایی افراد در معرض صدا و اقدامات کنترلی در محیط‌های صنعتی استفاده کرد. نتایج اندازه‌گیری‌های آنتی‌اکسیدانی و لیپیدپراکسیدانی خون و آزمایش‌های شنوایی‌سنجی نشان می‌دهد که کاهش گلوتاتیون (آنتی‌اکسیدانی) و افزایش مالون‌دی‌آلدئید (محصول لیپید پراکسیداسیون) و نیز کاهش حساسیت شنوایی در گروه‌های در معرض صدا نسبت به گروه کنترل همراه بوده است. این نتایج، مکانیسم افت شنوایی از طریق افزایش متابولیسم اکسیداتیو را تأیید می‌کند. نظر به این‌که در این تحقیق، لزوم اندازه‌گیری شنوایی خرگوش مطابق روش‌های توضیح داده شده، نمونه‌گیری خون و احتمال نیاز به نمونه‌گیری مجدد خون پس از دوره مواجهه با صدا، نمونه‌گیری از بافت کبد را با تأخیر همراه می‌کرد، نتایج اندازه‌گیری‌های گلوتاتیون نمونه‌های بافت کبد، تغییراتی را نسبت به گروه کنترل نشان نداد.



نمودار ۱ مقایسه متوسط زمان تأخیر موج پنج گروه‌های خرگوش در تماس با صدای ۱۱۰ dBA بر انگیزته با محرک تون‌برست و کلیک در شدت ۱۰۰ دسی‌بل (گروه‌های مورد اندازه‌گیری: W-Noise) گروه مواجهه با ۲۰۰۰۰-۲۵۰ هرتز، L-Noise، گروه مواجهه با ۲۵۰-۳۵۴۰ هرتز و H-Noise (گروه مواجهه با ۲۰۰۰۰-۳۵۴۰ هرتز و Latency time زمان تشکیل موج بر حسب میلی‌ثانیه)



نمودار ۲ نتایج اندازه‌گیری D POAE در فرکانس‌های ۶۲۹۹-۸۱۹ هرتز در گروه‌های مواجهه با صدا و کنترل (گروه‌های مورد اندازه‌گیری: W-Noise) گروه مواجهه با ۲۰۰۰۰-۲۵۰ هرتز، L-Noise، گروه مواجهه با ۲۵۰-۳۵۴۰ هرتز و H-Noise (گروه مواجهه با ۲۰۰۰۰-۳۵۴۰ هرتز)

بحث و نتیجه‌گیری

آنالیزهای آماری نتایج نشان می‌دهد که مواجهه خرگوش‌ها با صدا، مطابق با شرایط تحقیق در آزمایش پاسخ شنیداری ساقه مغز برانگیزته با محرک‌های کلیک و تون‌برست در فرکانس‌های بم (L-Noise) اثر کم‌تری داشته است. اندازه‌گیری شنوایی به روش DPOAE نشان می‌دهد که عملکرد پاسخ فرکانسی در هر سه گروه مورد آزمایش نسبت به گروه کنترل در همه فرکانس‌های مورد اندازه‌گیری اختلاف معناداری داشته است، اما این اثر در گروه‌های در تماس با فرکانس‌های باند باریک‌بیش از گروهی است که در معرض فرکانس‌های باند پهن (۲۰۰۰۰-۲۵۰ هرتز) بوده است. در صورت عملکرد سیستم شنوایی انسان مطابق با نتایج این آزمایش‌ها در خرگوش، می‌توان از این

جدول ۱ مقادیر P-value در آزمایش شنوایی خرگوش به روش ABR در فرکانس‌های مختلف در گروه‌های مورد اندازه‌گیری

کلیک (فرکانس) (Hz)	تون برست (فرکانس) (Hz)						روش شنوایی سنتی
	۸۰۰۰	۴۰۰۰	۲۰۰۰	۱۰۰۰	۵۰۰	۲۵۰	
۱۰۰۰-۴۰۰۰							گروه مواجهه (صدای ۱۱۰dBa و فرکانس)
۰/۰۰۰	ns	ns	۰/۰۹۷	ns	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۲۵۰ تا ۲۰۰۰۰ هرتز
۰/۰۶۹	ns	ns	۰/۰۲۳	ns	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۲۰۰۰۰ تا ۳۵۴۰ هرتز
۰/۰۰۴	ns	ns	ns	ns	ns	۰/۰۰۰	۲۵۰ تا ۳۵۴۰ هرتز

non significant = ns

جدول ۲ مقادیر P-value در آزمایش شنوایی خرگوش به روش DPOAE در فرکانس‌های مختلف در گروه‌های مورد اندازه‌گیری

فرکانس (Hz)	گروه مواجهه												
	۵۱۶۴	۴۶۳۹	۳۸۹۴	۳۲۸۴	۲۷۵۹	۲۳۱۹	۱۹۵۳	۱۶۳۶	۱۳۷۹	۱۱۶۰	۹۷۷	۸۱۸	۱۰-۱
W-Noise	۰/۰۱	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۲	۰/۰۱	ns	ns	۰/۰۴	ns	ns	ns
H-Noise	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	ns	ns
L-Noise	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۰	۰/۰۰۳	۰/۰۰۳	ns	ns

non significant = ns

9. Henry C.O, Barbara A.B, and Gray W.H., Noise damage in the C57BL/CBA mouse cochlea, *Hearing Research*, 2002, 145.

10. Chun Jiunn-Jye, Hsu C and Lin-Shiau S., Abnormal auditory brainstem responses for mice treated with mercurial compounds: Involvement of excessive nitric oxide, *Toxicology*, 2001, 162: 11-12.

11. Jack Kartz., *Handbook of clinical audiology*, Williams & Wilkins, Los Angeles, 1985.

12. Melcher Jennifer R, Knudson M.I, Fullerton C.B, Gunian J.J and Norris B.B., Generators of the brainstem auditory evoked potential in Cat. An experimental approach to their identification, *Hearing Research*, 1996, 93: 1-27.

13. Beutler E, Olga D and Barbara MR., Improved method for determination of blood glutathione, *J. Lab clin Med*, 1983, 882-888.

14. Carl A, Burtis., *Tietz Textbook of clinical chemistry*, 1989, 1652-53.

15. Carl A.B and Edward R.A, *Tietz fundamentals of clinical chemistry*, W.B. Saunders, Philadelphia, 1996.

16. Stocks J and Dormandy T.L., The autoxidation of human Red cell lipids induced by Hydrogen peroxide, *British Journal of Haematology*, 1971, 20: 95-111.

17. Stock J, Offerman E.L, Modell C.B, and Dormandy T.L., The susceptibility to autoxidation of human Red cell lipids in health and disease, *British Journal of Haematology*, 1972, 23: 713-727.

منابع

1. William J.C, Debral L.D, and Renuka M.P., Direct effects of reactive oxygen species on Cochlear outer hair cell shape in vitro, *Hearing Research*, 1995, 84: 30-40.

2. Van RAAIJ M.T.M and Oortgiesen M., Noise stress and airway toxicity: a prospect for experimental analysis, *Food and chemical toxicology*, 1996, 34: 1159-1161.

3. Peter Iencher., *Environmental noise and health: An integrated research perspective*, Environmental international, 1996, 22, 1: 117-129.

4. Kaygusuz Irfan, Ozturk A, Ustundag B and Yalsin S., Role of free oxygen radicals in noise-related hearing impairment, *Hearing Research*, 2001, 162: 43-47.

5. Peter M, Rabinowit Z, Mobo B.H, Antinocli G.P, Powel C and Slade M., Antioxidant status and hearing function in noise exposed workers, *Hearing Research*, 2002, 173: 164-171.

6. Yoshimitso O, Tatsuta Y, Jochen S, and Josef M.M., Glutathione limits noise induced-hearing loss, *Hearing Research*, 2000, 146: 28-34.

7. Yamasoba Tatsuya, Alfred L.N, Craig H, Yehoash R and Miller J.M., Role of Glutathione in protection against noise-induced hearing loss, *Brain Research*, 1998, 784: 82-90.

8. Gray W.H, Barbara A.B, and Mueed A., DPOAE level shifts and ABR threshold shifts compared to detailed analysis of histopatological damage from noise, *Hearing Research*, 2002, 174: 158-171.