

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 5th 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 آفت شنوایی ناشی از صدا در بین پرستاران 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 تون‌برست 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 طوری که 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

* مقدمه :

صداست.^(۱۳ و ۱۲) یکی از روش‌های مهم اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی نمونه‌های بیولوژیکی روش FRAP (Ferric Reducing Ability of Plasma) است که با اندازه‌گیری توانایی احیای فریک در پلاسمای خون به طور غیرمستقیم، قدرت آنتی‌اکسیدانی کل نمونه بیولوژیکی اندازه‌گیری می‌شود.^(۱۴ و ۱۵)

این مطالعه با هدف تعیین اثر صدا با باند وسیع بسامدی بر اُفت 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) قرار گرفت و همچنین ۲۴ ساعت پس از آن به منظور جداسازی پلاسما، از قلب خرگوش‌ها خون‌گیری شد. میانگین و انحراف معیار نتایج اندازه‌گیری‌ها به دست آمد و به منظور بررسی اختلاف میانگین مقادیر به دست آمده بین گروه‌ها از آزمون آماری تحلیل واریانس یک‌طرفه استفاده شد.

صدمه‌های ناشی از صدا بر سیستم شنوایی و مطالعه جهت یافتن روش‌های حفاظتی این عضو همزمان با تاریخ نوشتن آغاز شده است.^(۱) سازمان بهداشت جهانی برآورد کرده است که بیش از ۱۲ درصد جمعیت دنیا در معرض اُفت شنوایی ناشی از صدا هستند. امروزه تطابق با صدا به عنوان وسیله‌ای برای کاهش اثرات زیان‌آور ناشی از آسیب صوتی شناخته شده است.^(۲) دو اصطلاح در خصوص حفاظت شنوایی ناشی از صدا مطرح است؛ یکی تطابق و دیگری مقاومت و سخت شدن در مقابل اُفت 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.^(۳) پدیده مقاومت و سخت شدن در مقابل صدا بر سیستم شنوایی موش خرما، خوکچه هندی و موش صحرائی توسط محققین مختلف مورد بررسی قرار گرفته است.^(۲ و ۴ و ۵ و ۶)

به مواجهه حیوان در تراز فشار صدای کمتر از حد آسیب‌زا قبل از آن که در معرض آسیب صوتی قرار گیرد، تطابق گفته می‌شود.^(۳) مطالعه‌های اخیر نشان داده است که حساسیت گوش داخلی به آسیب صوتی می‌تواند به وسیله تماس قبلی با یک محرک صوتی کاهش داده شود.^(۷ و ۹)

از طرفی بر اساس فرضیه‌های سلیه (۱۹۵۶) صدا به عنوان یک عامل اکسیداتیو استرس مطرح شده است.^(۱۰) اکسیدکننده‌های ملکولی و آنتی‌اکسیدان‌ها را به نفع اکسیدکنندگی تغییر دهد. اگر بدن ذخیره کافی برای جبران آنتی‌اکسیدان‌های مصرف شده نداشته باشد باعث صدمه بیولوژیکی می‌شود.^(۱۱) صدا همانند ازن و پراکسید هیدروژن از عوامل اکسیداتیو استرس با منشأ خارجی است. عقیده بر آن است که ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن قسمتی از مکانیسم اصلی اُفت شنوایی ناشی از

آن را به ۱۵۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه نموده و ۵ دقیقه در حمام بن‌ماری ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار می‌گرفت، سپس ۵۰ میکرولیتر نمونه تیمار یا استاندارد به لوله‌ها اضافه شده و دوباره ۱۰ دقیقه در حمام بن‌ماری ۳۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده می‌شد. در خاتمه میزان جذب کمپلکس حاصل در طول موج ۵۹۳ نانومتر با دستگاه الکتروفوتومتر قرائت می‌شد.

* یافته‌ها :

میانگین زمان تأخیر تشکیل موج پنج با هر دو محرک کلیک و تون‌برست 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 گروه‌ها معنی‌دار ($p=0/0001$)، ولی این اختلاف در بین گروه دوم با گروه‌های سوم و چهارم معنی‌دار نبود. در آزمایش ABR با استفاده از محرک تون‌برست نیز در گروه‌های مورد اندازه‌گیری، بین میانگین زمان تأخیر تشکیل موج پنج گروه دوم، سوم و چهارم در هیچ یک از بسامدهای مورد آزمایش اختلاف معنی‌دار نبود، اما این اختلاف بین نتایج گروه اول با سایر گروه‌ها در بسامدهای ۲۵۰ و ۵۰۰ با $p=0/0001$ ، در بسامدهای ۱۰۰۰ و ۲۰۰۰ با $p=0/09$ و در فرکانس ۴۰۰۰ با $p=0/1$ معنی‌دار بود (جدول شماره ۱). تجزیه و تحلیل نتایج اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی کل پلاسما، اختلاف بین میانگین مقادیر گروه دوم با شاهد و گروه اول را معنی‌دار نشان نداد، هر چند بین میانگین مقادیر قدرت آنتی‌اکسیدانی گروه اول با گروه شاهد اختلاف معنی‌دار بود ($p<0/05$) (نمودار شماره ۱).

در دو نوبت (یک روز قبل ABR اندازه‌گیری‌های از مواجهه و پس از اتمام دوره‌های مواجهه) با دو محرک کلیک و تون‌برست با تراز فشار صدای ۱۰۰ دسی‌بل انجام شد. برای این منظور ابتدا خرگوش‌ها با تزریق مخلوط گزیلایزین (۶ میلی‌گرم در کیلوگرم) و کتامین (۳۵ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن) به طریق زیرجلدی بی‌هوش می‌شدند.^(۱۶) الکتروود مثبت سوزنی به زیر پوست فرق سر، الکتروود منفی به گوش راست (گوش مورد آزمایش) و الکتروود زمین به گوش غیرآزمایش‌شونده وصل می‌شد. دستگاه با (یک میلی‌ثانیه، Raise-fail time؛ زمان اُفت و خیز) میزان ۲۰ تحریک در ثانیه تنظیم می‌شد و در بسامدهای ۲۵۰، ۵۰۰، ۱۰۰۰، ۲۰۰۰، ۴۰۰۰ و ۸۰۰۰ هرتز، تراز فشار صدای ۱۰۰ دسی‌بل به گوش آزمایش‌شونده (گوش راست) فرستاده می‌شد. دستگاه تعداد ۲۰۴۸ تحریک را معدل‌گیری کرده و پاسخ را به شکل امواج یک تا پنج بر روی نمایشگر ترسیم می‌کرد. زمان تأخیر تشکیل امواج یک تا پنج و اشکال موجی برای هر بسامد ثبت چاپ می‌شد و مقدار عددی زمان تشکیل هر موج بر حسب میلی‌ثانیه ثبت می‌شد. در این مطالعه زمان تأخیر تشکیل موج پنج به عنوان معیار ارزیابی پاسخ شنیداری ساقه مغز استفاده شد.

اندازه‌گیری قدرت آنتی‌اکسیدانی (آزمون FRAP) به روش بنزی و استرین (Benzie & Strain) انجام شد.^(۱۷) مواد مورد استفاده در این آزمایش شامل بافر استات با $pH=3/6$ (۳/۱ گرم استات سدیم سه آب و ۱۶/۱ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال در یک لیتر آب مقطر)، اسید کلریدریک ۴۰ میلی‌مولار، سولفات آهن هفت آب، کلرید آهن ۶ آب و محلول TPTZ (۴،۲ و ۶ تری‌پیریدیل-S-تریازین) بود.

پس از تهیه محلول کار FRAP، ۱/۵ میلی‌لیتر از

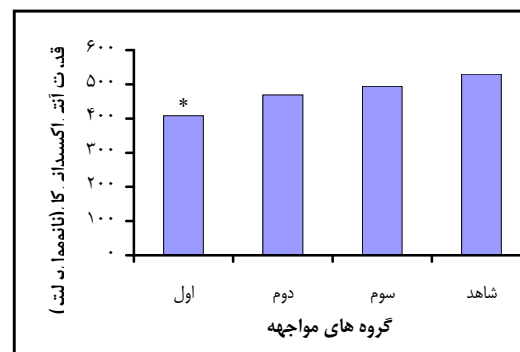
جدول ۱- میانگین زمان تأخیر تشکیل موج پنج پاسخ شنیداری ساقه مغز (ABR) بر حسب میلی‌ثانیه با محرک‌های کلیک و تون‌برست (بسامدهای مختلف)

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 ± ۰/۰۳	۴/۵۶ ± ۰/۰۴۳	۴/۸۱ ± ۰/۰۲۶	کلیک (Click)

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.^(۷)

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.^(۹) 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.^(۱۸) از طرفی صدا به عنوان یک اکسیداتیو استرس مورد توجه محققین قرار گرفته است. یاماسوبا و همکاران با تزریق یک داروی بازدارنده سنتز گلوتاتیون (آنتی‌اکسیدان) به خوکچه هندی و مواجه کردن آنها با تراز فشار صدای ۱۰۲ دسی‌بل نشان دادند که استفاده از بازدارنده ساخت گلوتاتیون، حساسیت حلزون به صدمه ناشی از صدا را افزایش می‌دهد.^(۱۴) محققین در تلاش بوده‌اند که برآیند عوامل اکسیدان و آنتی‌اکسیدان را در یک آزمون ارزیابی کنند. در حال حاضر بررسی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی با تکنیک FRAP مورد استقبال قرار گرفته است و در تحقیق حاضر از آن استفاده شده است.

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.^(۱۸) یوشیدا و همکاران در مطالعه‌ای باند صوتی ۸ تا ۱۶ کیلوهرتز را که نزدیک به آستانه شنوایی حیوانات مورد مطالعه بود، به عنوان صدای تطابق

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. Invivo 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. 2nd 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

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.^(۳۷ و ۳۸) نتایج مطالعه‌های انجام شد، در مورد اثرات زبان‌آور 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, Subnrnramanian 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 low-level acoustic stimulus. *Hearing Res* 1988; 34: 197-200