



## بررسی تأثیر مواجهه با صدا و مونوکسیدکربن بر ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسمای میزان گلوتاتیون خون خرگوش

مسعود مطلبی کاشانی<sup>۱</sup>، سید باقر مرتضوی<sup>۲\*</sup>، علی خوانین<sup>۳</sup>، عبدالامیر علامه<sup>۳</sup>، رمضان میرزاچی<sup>۴</sup>، مهدی اکبری<sup>۵</sup>

<sup>۱</sup> گروه بهداشت حرفه‌ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی کاشان

<sup>۲</sup> گروه بهداشت حرفه‌ای، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

<sup>۳</sup> گروه بیوشیمی، دانشکده پزشکی، دانشگاه تربیت مدرس

<sup>۴</sup> گروه بهداشت حرفه‌ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی زاهدان

<sup>۵</sup> گروه شناختی‌شناسی، دانشکده علوم توانبخشی، دانشگاه علوم پزشکی ایران

### چکیده

زمینه: افت شناختی از صدا به عنوان یکی از ده بیماری مهم ناشی از کار در جهان شناخته شده است و مونوکسیدکربن موجب تقویت این ضایعه می‌شود. مطالعات نقش استرس اکسیداتیو در ایجاد افت شناختی ناشی از صدا را نشان داده‌اند ولی فرایندهای تقویت این عارضه توسط مونوکسیدکربن به خوبی روش نشده است. این پژوهش با هدف بررسی تأثیر مواجهه با صدا، مونوکسیدکربن و تماس توأم با این دو عامل بر ظرفیت کلی آنتی اکسیدان پلاسمای میزان گلوتاتیون احیاء خون در مدل حیوانی انجام شد.

مواد و روش‌ها: مطالعه به روش تجربی بر روی ۲۴ سر خرگوش سفید نر و بالغ در ۴ گروه انجام گرفت. گروه‌ها شامل گروه کنترل، گروه در معرض صدا، گروه در معرض توأم صدا و مونوکسیدکربن و گروه در معرض مونوکسیدکربن بودند. در کلیه گروه‌ها برآیند آنتی اکسیدانی پلاسمای خون و همچنین میزان گلوتاتیون احیاء غشاء گلبول‌های قرمز قبل و پس از مواجهه با عوامل زیان‌آور تعیین گردید و نتایج با استفاده از روش‌های آماری تجزیه و تحلیل شد.

یافته‌ها: میانگین برآیند آنتی اکسیدانی پلاسمای خون پس از مواجهه با صدا و مونوکسیدکربن به ترتیب برابر با  $811/3 \pm 51/8$  و  $707/5 \pm 31/7$  و  $811/3 \pm 51/8$  میکرومول بر لیتر و میزان گلوتاتیون احیاء به ترتیب برابر با  $1/39 \pm 0/04$  و  $1/79 \pm 0/08$  میلی گرم بر دسی لیتر RBCs بود ( $p < 0.05$ ), که از مقادیر مشابه در گروه کنترل کمتر می‌باشد.

نتیجه‌گیری: در گروه در معرض صدا و گروه در معرض همزمان صدا و مونوکسیدکربن کاهش ظرفیت کلی آنتی اکسیدانی پلاسمای گلوتاتیون احیاء در خون مشاهده می‌شود. بطوری که نقش صدا در این کاهش بیشتر از مونوکسیدکربن است.

وازگان کلیدی: صدا، مونوکسیدکربن، ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسمای گلوتاتیون

دریافت مقاله: ۸۸/۹/۱۶ - پذیرش مقاله: ۸۸/۱۰/۲۲

\*تهران، تقاطع بزرگراه جلال آلمحمد و شهید چمران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده پزشکی، گروه بهداشت حرفه‌ای

Email :sbmortazav@modares.ac.ir

## مقدمه

آنتی اکسیدان‌ها جهت پیشگیری و درمان این عارضه در چند سال اخیر صورت گرفته است. در برخی از این مطالعات آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی مثل ویتامین C و ویتامین E مورد استفاده قرار گرفتند (۹-۱۱) و در مطالعات دیگر از آنتی اکسیدان‌های آنزیمی مثل سوپراکسیدیسموتاز استفاده شده است (۱۲ و ۱۳). این مطالعات نشان دادند افزایش ظرفیت آنتی اکسیدان خون می‌تواند در پیشگیری از افت شنوایی ناشی از صدا مؤثر باشد. همچنین در مطالعه اهانیتو (Ohinata) و همکاران نقش گلوتاتیون در محدود کردن افت شنوایی ناشی از صدا مشخص شده است (۱۴). از سوی دیگر مواجهه همزمان با صدا و برخی از مواد شیمیایی موجب تقویت افت شنوایی ناشی از صدا می‌گردد، یکی از مهم‌ترین این مواد مونوکسیدکربن است (۱۵).

تماس توأم با صدا و مونوکسیدکربن در بسیاری از صنایع نظیر ریخته‌گری، ذوب آهن، ذوب مس، صنایع فولاد، معادن، تولید سیمان و نیز در برخی فعالیت‌های شغلی نظیر جوشکاری، آهنگری، تعمیرکاران اتومبیل و مأمورین آتش‌نشانی گزارش شده است (۱۶). مطالعات نشان داده است که مواجهه تنها با مونوکسیدکربن نمی‌تواند افت شنوایی دائم ایجاد کند لیکن چنانچه حیوانات در مواجهه توأم با صدا و مونوکسیدکربن قرار گیرند، مونوکسیدکربن می‌تواند موجب تقویت افت شنوایی ناشی از صدا بهویژه در فرکانس‌های بالا گردد (۱۷ و ۱۸). پژوهش‌های مختلف دیگر نیز نقش مونوکسیدکربن بر تقویت افت شنوایی ناشی از صدا در شرایط مختلف را نشان داده‌اند (۱۹-۲۱).

فرایندهایی که موجب تقویت افت شنوایی در

صدا یکی از مهم‌ترین عوامل زیان‌آور فیزیکی در محیط کار است. حداقل سی میلیون نفر در امریکا در معرض صدای خطرناک و بیش از حد مجاز قرار دارند (۱). همچنین برآورد می‌گردد که بیش از ششصد میلیون نفر در جهان با صدای بیش از ۸۵ دسیبل در محیط کار خود مواجه هستند (۲). مهم‌ترین آسیب ناشی از صدا، افت شنوایی است. افت شنوایی ناشی از صدا بعد از پیرگوشی شایع‌ترین علت افت شنوایی در بزرگسالان است. این ضایعه بعنوان یکی از ده بیماری مهم ناشی از کار در جهان شناخته شده و بار بیماری آن در سال ۲۰۰۰ میلادی برابر با ۴ میلیون سال عمر سالم تلف شده برآورد گردیده است (۳).

افت شنوایی ناشی از صدا یک پدیده چند علتی است که در آن علاوه بر آسیب‌های مکانیکی ناشی از صدا، آسیب‌های متابولیکی نیز در ایجاد عارضه نقش مهمی ایفا می‌کنند که مهم‌ترین آنها استرس اکسیداتیو ناشی از تشکیل رادیکال‌های آزاد (گونه‌های فعال اکسیژن) در حلزون گوش می‌باشد (۴).

در مطالعه یاماسویا (Yamasooba) و همکاران نشان داده شد که مواجهه خوکچه هندی با صدا موجب کاهش گلوتاتیون احیاء در سلول‌های موبی خارجی در حلزون گوش می‌گردد (۵). افزایش رادیکال‌های آزاد نیز در اثر مواجهه با صدای زیاد در موش صحرایی در برخی از مطالعات گزارش شده است (۶ و ۷) مطالعه فچتر (Fechter) و همکاران نیز کاهش ظرفیت آنتی اکسیدان خون را عامل بالقوه برای ایجاد افت شنوایی ناشی از صدا معرفی نموده است (۸).

با روشن شدن فرایندهای ایجاد افت شنوایی ناشی از صدا، پژوهش‌های گسترده‌ای در خصوص استفاده از

حرفاءی دانشگاه تربیت مدرس انجام شد. حیوانات از مؤسسه تحقیقاتی پاستور ایران تأمین گردیده و در حیوانخانه دانشگاه تربیت مدرس مطابق با شرایط استاندارد توصیه شده از نظر دما، غذا، نور و تهویه نگهداری شدند و موارد مندرج در بیانیه هلسینکی در خصوص کار با حیوانات آزمایشگاهی در مورد آنان رعایت گردید.

خرگوش‌ها مطابق با نوع مداخلات به چهار گروه به این شرح تقسیم شدند: گروه ۱ (گروه کنترل): حیواناتی که هیچ‌گونه مواجهه‌ای با عوامل زیان‌آور صدا و منوکسیدکربن نداشتند. گروه ۲: حیواناتی که تنها در مواجهه با صدا قرار داشتند. گروه ۳: حیواناتی که در مواجهه همزمان با صدا و منوکسیدکربن قرار داشتند. گروه ۴: حیواناتی که در مواجهه تنها با منوکسیدکربن قرار داشتند. حجم نمونه در هر گروه بر اساس نتایج مطالعات قبلی و نیز نتایج آزمایشات مقدماتی، تعداد ۶ سر تعیین شد (۶-۸) و در مجموع این پژوهش بر روی ۲۴ سر خرگوش به شرح زیر انجام گرفت.

#### طراحی اتفاقک مواجهه

برای مواجهه حیوانات با عوامل زیان‌آور یک اتفاقک از جنس طلق پلی‌کربنات به ابعاد ۵۰×۶۰×۹۰ سانتی‌متر طراحی و ساخته شد. انتخاب جنس و ابعاد اتفاقک با توجه به ایجاد شرایط پرطینی<sup>۱</sup> در داخل آن صورت گرفت، بهطوری که میزان صدا در داخل اتفاقک مستقل از فاصله باشد و حیوانات در تمام نقاط اتفاقک در معرض صدای یکسان قرار داشته باشند. حیوانات در هر گروه به‌طور جداگانه جهت مواجهه با صدا و منوکسیدکربن در داخل این اتفاقک قرار گرفتند.

<sup>1</sup> Reverberant field

صورت مواجهه همزمان صدا و منوکسیدکربن می‌شوند هنوز به درستی روشن نشده است. برخی از مطالعات این تقویت را به افزایش استرس اکسیداتیو ناشی از مواجهه همزمان صدا با منوکسیدکربن نسبت می‌دهند. در مطالعه فچتر و همکاران مشخص شد که سطح رادیکال‌های آزاد اکسیژن در حلزون گوش حیوانات مورد مطالعه‌ای که در تماس توأم با صدا و منوکسیدکربن بوده‌اند بیشتر از میزان آنها در حیواناتی است که تنها در معرض صدا قرار داشته‌اند (۲۲). در عین حال اندازه‌گیری رادیکال‌های آزاد در حلزون گوش بسیار دشوار گزارش شده است (۲۳). صدای‌های با فرکانس ۱ تا ۴ کیلوهرتز بعنوان اصوات خط‌رنگ در محیط کار محسوب می‌شود (۲۴). تماس شغلی با این اصوات به‌ویژه چنانچه با منوکسیدکربن توأم باشد، خطر افت شنوایی را افزایش می‌دهد. بنابراین بررسی تأثیر اصوات با فرکانس ۱ تا ۴ کیلوهرتز و همچنین اثر توأم آن با منوکسیدکربن بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خون و میزان گلوتاتیون حائز اهمیت بوده و می‌تواند فرضیه‌های جدیدی در خصوص بکارگیری آنتی‌اکسیدان‌ها جهت پیشگیری از این عارضه مطرح نماید. به‌همین منظور با توجه به محدودیت‌های مطالعه بر روی انسان، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر مواجهه با صدا و منوکسیدکربن بر ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسمای و میزان گلوتاتیون خون خرگوش انجام گرفت.

#### مواد و روش کار

این پژوهش به روش تجربی در مدل حیوانی، بر روی ۲۴ سر خرگوش‌های نر سفید بالغ سه ماهه، از نژاد نیوزیلندری با محدوده وزنی ۱۵۰۰-۲۲۰۰ گرم در آزمایشگاه بهداشت

اتفاق برای اختلاط بیشتر این گاز با هوا استفاده شد. پایش غلظت مونوکسیدکربن در داخل اتفاق مطابق با روش استاندارد NIOSH به شماره ۶۶۰۴ و با استفاده از دستگاه قرائت مستقیم مدل MRU ساخت کشور آلمان صورت گرفت. غلظت مونوکسیدکربن در داخل اتفاق از طریق تغییر دبی هواکش خروج هوا و نیز تنظیم میکرووال، کترول و مرتباً در طول مواجهه توسط دستگاه قرائت مستقیم پایش می‌گردید.

### تعیین ظرفیت کلی آنتیاکسیدان پلاسمای خون حیوانات با استفاده از روش<sup>۳</sup> FRAP

روش سنجش FRAP که در سال ۱۹۹۶ توسط استرین (Strain) و بنزی (Benzie) معرفی شد یک روش حساس، تکرارپذیر و دقیق است که در آن ظرفیت کلی آنتیاکسیدانی پلاسمای خون از طریق تعیین توانایی پلاسما در تبدیل کمپلکس فریکتریپیریدیل تریازین (Fe<sup>3+</sup> – TPTZ) به فرم فرو (Fe<sup>2+</sup>) مشخص می‌گردد. فرم فرو (Fe<sup>2+</sup>) در محیط اسیدی به رنگ آبی است و حداقل جذب نوری آن در طول موج ۵۹۳ نانومتر قابل اندازه‌گیری می‌باشد (۲۵). در این پژوهش ابتدا محلول‌های استاندارد یون آهن تهیه و با محلول کار Frap که شامل محلول تریپیریدیل تریازین، کلوروآهن و بافر استات می‌باشد، مخلوط و طبق روش کار استاندارد جذب آنها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر مدل shimadzu-uv3100 ساخت کشور ژاپن در طول موج ۵۹۳ نانومتر قرائت گردید و منحنی استاندارد مربوطه رسم شد.

خون حیوانات از طریق خون‌گیری مستقیم از قلب حیوان و با استفاده از سرنگ آغازته به هپارین انجام شد. سپس با استفاده از سانتریفوژ با دور g ۱۰۰۰ پلاسمای خون جدا شده و طبق دستورالعمل استاندارد با محلول کار Frap

### مواجهه حیوانات با صدا

حیوانات در گروههای مورد نظر (گروه ۲ و ۳) در معرض صدا با پهنهای باند ۵۷۰۰–۷۰۰ هرتز، ترکیب سه صدای اکاوباند با مرکزیت ۱۰۰۰، ۲۰۰۰ و ۴۰۰۰ هرتز، و با تراز شدت معادل  $100 \pm 2$  دسیبل به مدت ۸ ساعت در روز و به میزان ۵ روز پیاپی قرار گرفتند. زمان کل مواجهه با صدا ۴۰ ساعت بوده است. با استفاده از نرمافزار سیگنان، صدا با ترکیب فرکانسی مورد نظر تولید و از طریق نرمافزار Cool edit بر روی کامپیوتر اجرا شد. صدای تولید شده از طریق یک آمپلی‌فایر و بلندگو در داخل اتفاق مواجهه پخش گردید. پایش میزان شدت و فرکانس صدا در داخل اتفاق بهوسیله‌ی دستگاه صداسنج آنالیزوردار مدل Cel-490 ساخت کشور انگلستان انجام گرفت. میکروفون دستگاه صداسنج در داخل اتفاق قرار گرفته و میزان صدا در طول مدت مواجهه بهصورت مرتب پایش و در صورت نیاز از طریق نرمافزار مربوطه ویرایش گردید.

### مواجهه حیوانات با گاز مونوکسیدکربن

حیوانات در گروههای مورد نظر (گروه ۳ و ۴) در معرض گاز مونوکسیدکربن با غلظت  $700 \pm 40$  قسمت در میلیون<sup>۲</sup> به مدت ۸ ساعت در روز و به میزان ۵ روز پیاپی (در کل ۴۰ ساعت) قرار گرفتند. ایجاد غلظت مورد نظر در داخل اتفاق با استفاده از یک سیلندر ۵۰ لیتری مونوکسیدکربن با خلوص ۹۹/۵ درصد و یک میکرووالو مدل Air Flow، بهصورت دینامیک انجام شد. دبی تهویه اتفاق ۵۶ لیتر بر دقیقه بود که برای تعویض هوای اتفاق به میزان ۱۲ بار در ساعت کافی می‌باشد. جهت همگن‌سازی مونوکسیدکربن با هوا، این گاز قبل از ورود به اتفاق در یک ظرف شیشه‌ای وارد شده و با هوا مخلوط می‌گردید؛ همچنین از یک هواکش در سقف

<sup>۳</sup> Ferric Reducing Ability of Plasma

<sup>۲</sup> PPM

آزمون کولموگروف اسمیرنوف<sup>۶</sup> استفاده گردید. سپس برای مقایسه داده‌ها قبل و بعد از مواجهه در هر گروه از آزمون  $t$  زوجی استفاده شد. همچنین برای مقایسه گروه‌ها با یکدیگر از آزمون آنالیزواریانس<sup>۷</sup> و نیز آزمون توکی<sup>۸</sup> برای مقایسه‌های دوگانه در داده‌های طبیعی استفاده شد. سطح معنی‌دار در کلیه آزمون‌ها ۵ درصد لحاظ گردید.

مخلوط و جذب آن در طول موج ۵۹۳ نانومتر قرائت گردید. با تعیین جذب نمونه‌ها و با استفاده از منحنی استاندارد، ظرفیت کلی آنتی اکسیدانی پلاسمای خون بر مبنای غلظت یون فرو بر حسب میکرومول در لیتر مشخص شد. این آزمایش برای تمام گروه‌های مورد مطالعه قبل و یک ساعت پس از آخرین مواجهه انجام شد.

### یافته‌ها

توزیع داده‌ها در کلیه گروه‌های مورد مطالعه طبیعی بود. جدول ۱ شاخص‌های آماری برآیند آنتی اکسیدانی پلاسمای خون حیوانات (FRAP) بر حسب میکرومول بر لیتر را قبل و پس از مواجهه با عوامل زیان‌آور نشان می‌دهد. مقایسه میانگین برآیند آنتی اکسیدانی پلاسمای خون حیوانات قبل از هرگونه مواجهه با عوامل زیان‌آور در چهار گروه مورد مطالعه اختلاف معنی‌دار میان این مقادیر را نشان نمی‌دهد ( $P=0.997$ ). به عبارت دیگر میانگین برآیند آنتی اکسیدانی پلاسمای خون حیوانات در تمام گروه‌های مورد مطالعه قبل از مواجهه با عوامل زیان‌آور با یکدیگر یکسان بوده است. آزمون  $t$  زوجی انجام شده در هر گروه مشخص کرد که به جز گروه ۱، در سایر گروه‌ها ظرفیت آنتی اکسیدانی پلاسمای پس از مواجهه با عوامل زیان‌آور نسبت به قبل از مواجهه کاهش یافته است ( $P<0.001$ ).

در نمودار ۱، میزان کاهش برآیند آنتی اکسیدانی پلاسمای خون پس از مواجهه با عوامل زیان‌آور نسبت به قبل از مواجهه با این عوامل در چهار گروه مورد مطالعه با یکدیگر مقایسه شده است. نتایج این مقایسه نشان می‌دهد که کاهش ظرفیت

### اندازه‌گیری گلوتاتیون احیاء<sup>۴</sup> (GSH) در خون تام

این اندازه‌گیری به روش بوتلر و با استفاده از معرف المان<sup>۵</sup> (۵-۵-دی‌تیوبیس-۲-نیتروبنزوئیک‌اسید) انجام گرفت (۲۶). ابتدا با استفاده از محلول‌های استاندارد گلوتاتیون و معرف المان، جذب نمونه‌های استاندارد در طول موج ۴۱۲ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت و منحنی استاندارد رسم شد. سپس  $0.2$  میلی‌لیتر از خون تام حیوان پس از خون‌گیری مستقیم از قلب مطابق با شرایط استاندارد آماده و پس از مخلوط نمودن با معرف طبق دستورالعمل، جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت و میزان گلوتاتیون احیاء خون تام با استفاده از منحنی استاندارد تعیین شد. این آزمایش برای تمام گروه‌های مورد مطالعه قبل و یک ساعت پس از آخرین مواجهه انجام شد.

لازم به ذکر است که قبل از خون‌گیری از قلب جهت آزمایشات فوق، حیوانات بیهوش گردیدند. برای این منظور از مخلوط کتامین ۱۰ درصد و گزیلایزین ۲ درصد استفاده شد. مخلوطی از ۶۰ درصد کتامین و ۴۰ درصد گزیلایزین تهیه و  $0.4$  میلی‌لیتر به ازای هر کیلوگرم وزن خرگوش از طریق زیرجلدی در ناحیه ران تزریق شد.

### روش‌های آماری

پس از جمع‌آوری داده‌ها ابتدا جهت تعیین بهنجاری آنها از

<sup>6</sup> Kolmogorov-Smirnov Test

<sup>7</sup> Analysis of variance

<sup>8</sup> Tukey Test

<sup>4</sup> Glutathione sulfhydryl

<sup>5</sup> Ellman

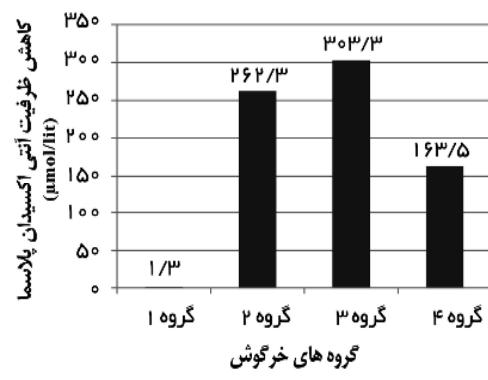
گروهی که فقط با صدا مواجهه داشتند (گروه ۲) به طور معنی‌داری بیشتر از گروهی که فقط با مونوکسیدکربن مواجهه داشتند (گروه ۴) کاهش یافته است ( $P=0.05$ ). به عبارت دیگر تأثیر صدا بر کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسمای خون بیشتر از مونوکسیدکربن است.

آنـتیـاـکـسـیدـانـی پـلاـسـمـایـخـون در گـروـهـ ۳ـ نـسـبـتـ بهـ گـروـهـ ۲ـ معـنـیـ دـارـ نـمـیـ باـشـد ( $P=0.489$ ). به عبارت دیگر مواجهه توأم حیوانات با صدا و مونوکسیدکربن نمی‌تواند کاهش بیشتری در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسمای خون نسبت به حیواناتی که فقط در مواجهه با صدا بوده‌اند ایجاد کند. همچنین مشخص گردید که برآیند آنتی‌اکسیدانی پلاسمای در

جدول ۱) شاخص آماری ظرفیت کلی آنتی‌اکسیدانی پلاسمای خون (FRAP) بر حسب میکرومول بر لیتر قبل و پس از مواجهه با عوامل زیان‌آور در گروه‌های خرگوش مورد مطالعه

گروه‌های خرگوش	شاخص‌های آماری	قبل از مواجهه	یک ساعت پس از آخرین مواجهه	زمان انجام آزمایش
گروه ۱	میانگین $\pm$ انحراف معیار	۹۷۰/۱ $\pm$ ۴۷/۷	۹۷۱/۳ $\pm$ ۴۸/۹	
بدون مواجهه	P ارزش	۰/۶۶۶		
گروه ۲	میانگین $\pm$ انحراف معیار	۷۰۷/۵ $\pm$ ۳۱/۷	۹۶۹/۸ $\pm$ ۴۵/۶	
مواجهه با صدا	P ارزش	< ۰/۰۰۱		
گروه ۳	میانگین $\pm$ انحراف معیار	۶۷۱/۸ $\pm$ ۳۶/۸	۹۷۵/۱ $\pm$ ۴۳/۱	
مواجهه با صدا و مونوکسیدکربن	P ارزش	< ۰/۰۰۱		
گروه ۴	میانگین $\pm$ انحراف معیار	۸۱۱/۳ $\pm$ ۵۱/۸	۹۷۴/۸ $\pm$ ۵۳/۹	
مواجهه با مونوکسیدکربن	P ارزش	< ۰/۰۰۱		

از مواجهه با عوامل زیان‌آور را نشان می‌دهد. مقایسه میانگین غلظت گلوتاتیون احیاء خون حیوانات قبل از هرگونه مواجهه با عوامل زیان‌آور در چهار گروه مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری میان این مقادیر را نشان نمی‌دهد ( $P=0.458$ ). به بیانی دیگر میانگین غلظت گلوتاتیون احیاء خون حیوانات در تمام گروه‌های مورد مطالعه قبل از مواجهه با عوامل زیان‌آور با یکدیگر یکسان بوده است. آزمون  $t$  زوجی نشان داد به جز گروه ۱ در سایر گروه‌ها که در مواجهه با عوامل زیان‌آور بوده‌اند، غلظت گلوتاتیون احیاء پس از مواجهه با این عوامل نسبت به قبل از



نمودار ۱) مقایسه میزان کاهش برآیند آنتی‌اکسیدانی پلاسمای خون پس از مواجهه با عوامل زیان‌آور نسبت به قبل از مواجهه با این عوامل در گروه‌های خرگوش مورد مطالعه

جدول ۲) شاخص‌های آماری غلظت گلوتاتیون احیاء خون در غشاء گلبول‌های قرمز قبل و پس

حدود ۲۷ درصد بوده است. لیکن آزمون آماری نشان داد تفاوت معنی دار در میزان کاهش غلظت گلوتاتیون پس از مواجهه، میان گروه ۲ و گروه ۳ وجود ندارد ( $P=0.971$ ). به عبارت دیگر مواجهه توانم با صدا و مونوکسیدکربن نمی تواند کاهش بیشتری در غلظت گلوتاتیون احیاء خون نسبت به گروهی که فقط در معرض صدا بوده اند ایجاد نماید. همچنین کاهش غلظت گلوتاتیون در گروه ۲ (مواجهه تنها با صدا) به طور معنی دار از گروه ۴ بیشتر است ( $P<0.001$ ).

مواجهه کاهش یافته است.

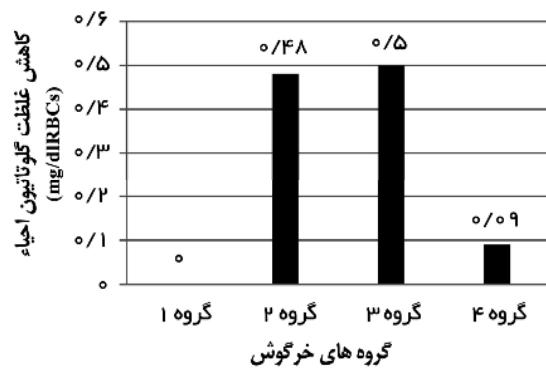
در نمودار ۲، میزان کاهش غلظت گلوتاتیون احیاء در غشاء گلبول های قرمز خون پس از مواجهه با عوامل زیان آور نسبت به قبل از مواجهه با این عوامل، در چهار گروه مورد مطالعه با یکدیگر مقایسه شده است. در گروهی که با صدا مواجهه داشته اند غلظت گلوتاتیون پس از مواجهه حدود ۲۶ درصد نسبت به قبل از مواجهه کاهش یافته است. در صورتی که این کاهش در گروهی که مواجهه توانم با صدا و مونوکسیدکربن داشتند

جدول ۲) شاخص های آماری میزان گلوتاتیون احیاء خون در غشاء گلبول های قرمز بر حسب میلی گرم بر دسی لیتر RBCs قبل و پس از مواجهه با عوامل زیان آور در گروه های خرگوش مورد مطالعه

گروه های خرگوش	شاخص های آماری	زمان انجام آزمایش	قبل از مواجهه	یک ساعت پس از آخرین مواجهه
گروه ۱	میانگین ± انحراف معیار	$1/93 \pm 0.06$	$1/93 \pm 0.07$	
بدون مواجهه	ارزش P	$>0.801$		
گروه ۲	میانگین ± انحراف معیار	$1/39 \pm 0.09$	$1/87 \pm 0.08$	
مواجهه با صدا	ارزش P	$<0.001$		
گروه ۳	میانگین ± انحراف معیار	$1/37 \pm 0.06$	$1/87 \pm 0.06$	
مواجهه با صدا و مونوکسیدکربن	ارزش P	$<0.001$		
گروه ۴	میانگین ± انحراف معیار	$1/79 \pm 0.08$	$1/88 \pm 0.07$	
واجهه با مونوکسیدکربن	ارزش P	$<0.01$		

### بحث

پژوهش حاضر نشان داد مواجهه حیوانات با صدا در فرکانس های ۱ تا ۴ کیلوهرتز موجب افزایش استرس اکسیداتیو و مصرف آنتی اکسیدان های خون می گردد. مطالعات قبلی در خصوص تاثیر صدا در فرکانس های مختلف بر استرس اکسیداتیو نیز همین را نشان دادند (۴-۸). بنابراین می توان افت شنوایی ناشی از صدا در این محدوده فرکانسی را به افزایش استرس اکسیداتیو نسبت داد. این یافته ها می توانند فرضیه به کارگیری آنتی اکسیدان ها در پیشگیری از افت شنوایی



نمودار ۲) مقایسه میزان کاهش غلظت گلوتاتیون احیاء غشاء گلبول های قرمز پس از مواجهه با عوامل زیان آور نسبت به قبل از مواجهه با این عوامل در گروه های خرگوش مورد مطالعه

و همکاران نیز نشان داده شد که مواجهه تنها با مونوکسیدکربن نمی‌تواند افت شنوایی دائم ایجاد کند (۱۷ و ۱۸). نتایج این مطالعات در کنار یافته‌های مطالعه حاضر می‌تواند تأییدکننده فرضیه‌هایی باشد که استرس اکسیداتیو را عامل اصلی در ایجاد افت شنوایی ناشی از صدا معرفی نموده‌اند (۴).

همچنین مطابق با نتایج این پژوهش تماس توأم با صدا و مونوکسیدکربن نمی‌تواند نقش بیشتری در کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خون نسبت به مواجهه تنها با صدا داشته باشد. این امر را می‌توان چنین توجیه نمود که با توجه به یافته‌های پژوهش، صدا در مقایسه با مونوکسیدکربن یک عامل قوی‌تر برای ایجاد استرس اکسیداتیو محسوب می‌شود و در نتیجه مواجهه آنتی‌اکسیدانی بدن را فعال نموده و در نتیجه مواجهه توام صدا با مونوکسیدکربن نمی‌تواند کاهش بیشتری در ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خون نسبت به مواجهه تنها با صدا ایجاد کند. در مطالعه چن (Chen) و همکاران نیز نشان داده شد که روش‌های بیوشیمیایی و استفاده از داروها می‌تواند در خصوصیات پیشگیری از افت شنوایی ناشی از صدا مؤثر باشد. لیکن این روش‌ها نقشی در پیشگیری از اثر تقویت‌کننده‌گی مونوکسیدکربن بر این عارضه ندارند (۲۰). این نتایج با یافته‌های پژوهش حاضر همخوانی دارد.

از سوی دیگر در مطالعه فچتر و همکاران مشخص گردید که سطح رادیکال‌های آزاد در حلزون گوش حیوانات مورد مطالعه‌ای که در مواجهه توأم با صدا و مونوکسیدکربن بوده‌اند، بیشتر از میزان آنها در حیواناتی است که تنها در معرض صدا قرار داشته‌اند (۲۲)، که این مورد با نتایج بدست آمده در این پژوهش در تضاد است. با توجه به اینکه در مطالعه

ناشی از صدا در محیط‌های کاری را مطرح نماید و توصیه می‌شود مطالعات بیشتری در این خصوص انجام گیرد. صدا بعنوان یک عامل تحریک‌کننده استرس اکسیداتیو خارجی موجب اختلال در هموستاز کلسیم و در نتیجه عدم تعادل یون کلسیم در میتوکندری می‌شود. این امر موجب آزاد شدن گونه‌های فعال اکسیژن به صورت رادیکال‌های آزاد می‌گردد. افزایش سطح رادیکال‌های آزاد در بدن منجر به مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها شده و در نتیجه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی خون کاهش می‌یابد.

مطابق با یافته‌های پژوهش مواجهه تنها با مونوکسیدکربن در شرایط مورد مطالعه می‌تواند موجب کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی پلاسمای خون شود که این یافته با نتایج مطالعه لوپز (Lopez) و همکاران مشابه دارد (۲۷). دو فرضیه برای توجیه کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی در مواجهه با مونوکسیدکربن وجود دارد، اول اینکه مونوکسیدکربن منجر به کاهش اکسیژن در سلول‌ها شده و در نتیجه سطح رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل افزایش می‌یابد و در نتیجه مصرف آنتی‌اکسیدان‌ها برای مقابله با این رادیکال‌های آزاد افزایش یافته و ظرفیت کلی آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌یابد. دوم آنکه مونوکسیدکربن می‌تواند منجر به افزایش ترشح گلوتامات در سلول‌های عصبی شده که این امر به نوبه خود موجب کاهش ظرفیت آنتی‌اکسیدانی می‌شود. لیکن پژوهش حاضر نشان داد تاثیر صدا بر افزایش استرس اکسیداتیو به مراتب بیشتر از مونوکسیدکربن است. به عبارت دیگر می‌توان پیش‌بینی نمود که نقش آلدگی صوتی محیط در ایجاد استرس اکسیداتیو و کاهش آنتی‌اکسیدان‌های پلاسمای بیشتر از آلدگی هوا با مونوکسیدکربن است. در مطالعه فچتر

همکاران نشان داده شده است (۱۴) که نتایج این مطالعات با یافته‌های این پژوهش مشابهت دارد. مطابق با یافته‌های پژوهش حاضر، مواجهه با اصوات در فرکانس‌های ۱ تا ۴ کیلوهرتز می‌تواند موجب کاهش گلوتاتیون و در نتیجه افزایش استرس اکسیداتیو گردد که این موارد با یافته‌های دیگر پژوهش در بررسی ظرفیت کلی آنتی اکسیدان خون (FRAP) همخوانی دارد و مجدداً بر طرح فرضیه به کارگیری آنتی اکسیدان‌ها در پیشگیری از افت شناوری ناشی از صدا در محیط کار تأکید می‌نماید. این پژوهش نشان داد کاهش معنی‌داری در میزان گلوتاتیون احیاء خون حیواناتی که در مواجهه تنها با مونوکسیدکربن بودند نسبت به گروه شاهد وجود ندارد. به عبارت دیگر مواجهه تنها با مونوکسیدکربن تأثیری بر میزان گلوتاتیون احیاء غشاء گلbulول‌های قرمز در مقایسه با گروه شاهد نداشته است. در یک مطالعه بر روی خرگوش نیز نشان داده شد که مواجهه با آلانینده‌های جوشکاری که شامل مونوکسیدکربن نیز می‌باشد به تنها یک نمی‌تواند تغییری در میزان گلوتاتیون احیاء غشاء گلbulول‌های قرمز ایجاد کند ولی مواجهه توأم این آلانینده‌ها و صدا میزان گلوتاتیون احیاء را کاهش می‌دهد (۲۸) که نتایج این مطالعه با یافته‌های پژوهش حاضر مطابقت دارد. پژوهش اخیر همچنین نشان داد تماس توأم با صدا و مونوکسیدکربن نمی‌تواند کاهش بیشتری در میزان گلوتاتیون احیاء نسبت به مواجهه تنها با صدا ایجاد کند که این مورد با یافته‌های دیگر پژوهش در بررسی FRAP مشابهت دارد.

به طور کلی مطابق با یافته‌های این پژوهش، مواجهه با عوامل زیان‌آور محیطی از قبیل صدا و مونوکسیدکربن می‌تواند به طور عمومی موجب آسیب‌های اکسیداتیو گردد و این تغییرات فقط به‌طور

موردنمود اشاره از صدای اکتاو باند با مرکزیت ۱۳/۶ کیلوهرتز استفاده شده است و در پژوهش حاضر حیوانات در معرض صدای ای با فرکانس پائین‌تر قرار گرفته‌اند می‌توان پیش‌بینی نمود که فرکانس صدای مورد مواجهه در افزایش استرس اکسیداتیو ناشی از تماس توأم با صدا و مونوکسیدکربن مؤثر باشد. در مطالعات قبلی نیز نشان داده شده است که اثر تقویت‌کنندگی مونوکسیدکربن بر افت شناوری ناشی از صدا در مواجهه با صدای ای با فرکانس بالا به مراتب بیشتر از صدای ای با فرکانس‌های پائین است (۱۷ و ۱۸). به عبارت دیگر این فرضیه مطرح می‌شود که مونوکسیدکربن می‌تواند در مواجهه توأم با اصوات با فرکانس بالا موجب افزایش استرس اکسیداتیو و در نتیجه تقویت افت شناوری ناشی از صدا گردد که مطالعات بیشتر در این خصوص توصیه می‌گردد. بررسی میزان گلوتاتیون احیاء غشاء گلbulول‌های قرمز خون در حیوانات مورد مطالعه نشان داد که مواجهه با صدا و مواجهه توأم صدا و مونوکسیدکربن می‌تواند موجب کاهش غلظت این ماده در خون گردد. گلوتاتیون احیاء بعنوان یک آنتی اکسیدان، عمل حفاظت سلول‌ها در برابر رادیکال‌های آزاد را انجام می‌دهد. این ماده با داشتن گروه تیول موجب دادن یک الکترون و  $H^+$  به رادیکال‌های آزاد و احیاء شدن آنها می‌شود. بنابراین کاهش غلظت این ماده در اثر مواجهه با عوامل زیان‌آور به دلیل مصرف زیاد آن برای پاکسازی رادیکال‌های آزاد تولید شده می‌باشد. در مطالعه یاماسویا و همکاران نیز مشخص گردید که مواجهه با صدا موجب کاهش گلوتاتیون احیاء در سلول‌های مویی خارجی در حلزون گوش می‌گردد (۵)، همچنین نقش گلوتاتیون در محدود نمودن افت شناوری ناشی از صدا در مطالعه اهانیتو (Ohinata) و

عوامل زیان‌آور محیطی انجام شود.

### تشکر و قدردانی

نویسنده‌گان مقاله بر خود لازم می‌دانند از معاونت پژوهشی دانشگاه تربیت مدرس که در انجام این تحقیق شرایط لازم را فراهم نمودند تشکر و قدردانی نمایند.

موضوعی ایجاد نمی‌شود. بنابراین روش‌های عمومی بررسی استرس اکسیداتیو نظری روش FRAP و تعیین میزان گلوتاتیون احیاء غشاء گلوبول‌های قرمز می‌تواند جهت بررسی تأثیر زیان‌آور عوامل محیطی مورد استفاده قرار گیرد و توصیه می‌شود مطالعات بیشتری جهت تعیین کارایی این روش‌ها در بررسی سایر

### References:

- 1.Seixas NS, Goldman B, Sheppard L, et al. Prospective noise induced changes to hearing among construction industry apprentices. *Occup Environ Med* 2005; 62: 309-17.
- 2.Kopke RD, Weisskopf PA, Boon JL, et al. Reduction of noise-induced hearing loss using L-NAC and salicylate in the chinchilla. *Hear Res* 2000; 149: 138-46.
- 3.Nelson DI, Nelson RY, Concha-Barrientos M, et al. The global burden of occupational noise-induced hearing loss. *Am J Ind Med* 2005; 48: 446-58.
- 4.Le Prell CG, Yamashita D, Minami SB, et al. Mechanisms of noise-induced hearing loss indicate multiple methods of prevention. *Hear Res* 2007; 226: 22-43.
- 5.Yamasoba T, Harris C, Shoji F, et al. Influence of intense sound exposure on glutathione synthesis in the cochlea. *Brain Res* 1998; 804: 72-8.
- 6.Heinrich U, Feltens R. Mechanisms underlying noise-induced hearing loss. *Drug Discov Today Dis Mech* 2006; 3: 131-5.
- 7.Yamashita D, Jiang HY, Schacht J, et al. Delayed production of free radicals following noise exposure. *Brain Res* 2004; 1019: 201-9.
- 8.Fechter LD. Oxidative stress: a potential basis for potentiation of noise-induced hearing loss. *Environ Toxicol Pharmacol* 2005; 19: 543-6.
- 9.McFadden SL, Woo JM, Michalak N, et al. Dietary vitamin C supplementation reduces noise-induced hearing loss in guinea pigs. *Hear Res* 2005; 202: 200-8.
- 10.Hou F, Wang S, Zhai S, et al. Effects of alpha-tocopherol on noise-induced hearing loss in guinea pigs. *Hear Res* 2003; 179: 1-8.
- 11.Le Prell CG, Hughes LF, Miller JM. Free radical scavengers vitamins A, C, and E plus magnesium reduce noise trauma. *Free Radic Biol Med* 2007; 42: 1454-63.
- 12.Pourbakht A, Yamasoba T. Ebselen attenuates cochlear damage caused by acoustic trauma. *Hear Res* 2003; 181: 100-8.
- 13.Seidman MD, Shivapuja BG, Quirk WS. The protective effects of allopurinol and superoxide dismutase on noise-induced cochlear damage. *Otolaryngol Head Neck Surg* 1993; 109: 1052-6.
- 14.Ohinata Y, Yamasoba T, Schacht J, et al. Glutathione limits noise-induced hearing loss. *Hear Res* 2000; 146: 28-34.
- 15.Bilski B. Interaction between noise and ototoxic agents in the work environment. *Med Pr* 2003; 54: 481-5.
- 16.Cullis CF, Hirschler MM. Man's emission of carbon monoxide and hydrocarbons into the atmosphere. *Atmospheric environment* 1989; 23: 1195-203.
- 17.Fechter LD, Chen GD, Rao D, et al. Predicting exposure conditions that facilitate the potentiation of noise-induced hearing loss by carbon monoxide. *Toxicol Sci* 2000; 58: 315-23.
- 18.Fechter LD, Young JS, Carlisle L, et al. Potentiation of noise induced threshold shifts and hair cell loss by carbon monoxide. *Hear Res* 1988; 34: 39-47.
- 19.Young JS, Upchurch MB, Kaufman MJ, et al. Carbon monoxide exposure potentiates high-frequency auditory threshold shifts induced by noise. *Hear Res* 1987; 26: 37-43.
- 20.Chen GD, Kong J, Reinhard K, et al. NMDA receptor blockage protects against permanent noise-induced hearing loss but not its potentiation by carbon monoxide. *Hear Res* 2001; 154: 108-15.
- 21.Chen GD, McWilliams ML, Fechter LD. Intermittent noise-induced hearing loss and the influence of carbon monoxide. *Hear Res* 1999; 138: 181-91.
- 22.Fetcher LD, Chen GD, Rao D. Chemical Asphyxiants and noise. *Noise health* 2002; 4: 49-61.
- 23.Rao D, Fechter LD. Protective effects of phenyl-N-tert-butylnitronate on the potentiation of noise-induced hearing loss by carbon

- monoxide. *Toxicol Appl Pharmacol* 2000; 167: 125-31.
- 24.Maltby M. Occupational Audiometry: Monitoring and Protecting Hearing at Work. 1st ed. Oxford: Butterworth-Heinemann; 2005: 4-7.
- 25.Benzie IF, Strain JJ. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": the FRAP assay. *Anal Biochem* 1996; 239: 70-6.
- 26.Beutler E, Duron O, Kelly BM. Improved method for the determination of blood glutathione. *J Lab Clin Med* 1963; 61: 882-8.
- 27.Lopez IA, Acuna D, Beltran-Parrazal L, et al. Oxidative stress and the deleterious consequences to the rat cochlea after prenatal chronic mild exposure to carbon monoxide in air. *Neuroscience* 2008; 151: 854-67.
- 28.Mirzaee R, Allameh A, Mortazavi SB, et al. Assessment of outer hair cell function and blood antioxidant status of rabbits exposed to noise and metal welding fumes. *Auris Nasus Larynx* 2007; 34: 147-54.