

## Investigating the Protective Effect of Regular Aerobic Exercise and Benfotiamine on Improving Oxidative Brain Damage Caused by Occupational Noise in Male Mice

Hadiseh Abdi Ziari<sup>1</sup>,  
Alireza Safarzade<sup>2,3</sup>,  
Fateme Shaki<sup>4,5,6</sup>,  
Elahe Talebi-Garakani<sup>2</sup>,  
Mohammad Seyedabadi<sup>4</sup>

<sup>1</sup> PhD Candidate in Exercise Physiology, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sports Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

<sup>2</sup> Associate Professor, Department of Exercise Physiology, Faculty of Sports Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

<sup>3</sup> Athletic Performance and Health Research Center, University of Mazandaran, Babolsar, Iran

<sup>4</sup> Associate Professor, Department of Toxicology and Pharmacology, Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>5</sup> Pharmaceutical Sciences Research Center, Hemoglobinopathy Institute, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

<sup>6</sup> Plant and Animal Products Health Research Center, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran

(Received August 20, 2024; Accepted October 9, 2024)

### Abstract

**Background and purpose:** Exposure to noise leads to the production of reactive oxygen species (ROS) or free radicals in the brain. Even a slight increase in free radical levels in brain cells can disturb the central nervous system's structure and contribute to related diseases, including Alzheimer's disease. Therefore, this study aimed to investigate the protective effects of four weeks of regular aerobic training and benfotiamine supplementation on noise-induced oxidative stress in the brains of mice.

**Materials and methods:** Forty male mice were randomly divided into five groups: a control group, a noise-exposed group subjected to occupational noise (100 dB, 4 hours per day), a noise+exercise group, a noise+benfotiamine group, and a noise+exercise+benfotiamine group. All animals, except those in the control group, were exposed to daily occupational noise emitted from a loudspeaker. After noise exposure, benfotiamine (200 mg/kg) was administered via gavage to two groups of mice. The training groups then performed aerobic exercise on a treadmill (5 days per week, 30 minutes per day at 12 m/min) according to protocol. All interventions were performed for four consecutive weeks. Seventy-two hours after the last exercise session, the animals were anesthetized, and brain tissues were immediately collected and homogenized for further evaluation. Brain tissue levels of ROS, malondialdehyde, protein carbonyl, reduced glutathione, and total antioxidant capacity—markers of oxidative stress—were measured using biochemical methods. One-way analysis of variance and Tukey's post hoc tests were used to analyze the data.

**Results:** The results showed that, compared to the control group, daily exposure to occupational noise for four hours significantly increased levels of ROS, malondialdehyde, and protein carbonyl ( $P < 0.001$ ) and significantly decreased antioxidant capacity ( $P < 0.01$ ) and glutathione levels ( $P < 0.001$ ) in brain tissue. Four weeks of treadmill exercise reduced ROS levels ( $P < 0.01$ ) compared to the noise group but did not significantly impact other oxidative markers in the brains of animals exposed to daily noise ( $P > 0.05$ ). Daily administration of benfotiamine supplements led to reductions in ROS and malondialdehyde levels and an increase in reduced glutathione in brain tissues of noise-exposed mice compared to the noise group ( $P < 0.05$ ). However, this supplementation did not significantly affect protein carbonyl levels or total antioxidant capacity ( $P > 0.05$ ). Compared to the noise group, combining aerobic exercise with benfotiamine consumption significantly reduced ROS and protein carbonyl levels and increased glutathione in the brain tissue of noise-exposed animals ( $P < 0.001$ ). However, this combination had no significant effect on malondialdehyde levels or antioxidant capacity ( $P > 0.05$ ).

**Conclusion:** The results of this study indicate that benfotiamine, as an effective antioxidant, may have a protective and preventive role in reducing oxidative stress in brain tissue caused by occupational noise in mice. Daily benfotiamine supplementation combined with aerobic exercise may be an effective strategy for preventing oxidative disorders related to occupational noise exposure by inhibiting ROS production and improving certain oxidative stress markers. Further studies are needed to clarify the mechanisms underlying the combined effects of benfotiamine and aerobic exercise in reducing noise-induced oxidative stress.

**Keywords:** noise, exercise training, antioxidant, benfotiamine, neurotoxicity

J Mazandaran Univ Med Sci 2024; 34 (238): 1-14 (Persian).

**Corresponding Author:** Alireza Safarzade- Faculty of Sports Sciences, University of Mazandaran, Babolsar, Iran. (E-mail: a.safarzade@umz.ac.ir) and Fateme Shaki - Faculty of Pharmacy, Mazandaran University of Medical Sciences, Sari, Iran. (E-mail: fshaki.tox@gmail.com)

# بررسی اثر محافظتی تمرین هوازی منظم و مصرف بنفوتیامین بر بهبود آسیب اکسیداتیو مغزی ناشی از سروصدای شغلی در موش‌های سوری نر

حدیثه عبدی زبیری<sup>۱</sup>  
علی رضا صفرزاده<sup>۳،۲</sup>  
فاطمه شکی<sup>۴،۵</sup>  
الهه طالبی گرکانی<sup>۲</sup>  
محمد سیدآبادی<sup>۴</sup>

## چکیده

**سابقه و هدف:** قرار گرفتن در معرض سروصدا، منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژنی (Reactive oxygen species: ROS) یا رادیکال‌های آزاد در مغز می‌شود. حتی افزایش اندک در سطوح رادیکال‌های آزاد سلول‌های مغز می‌تواند منجر به اختلال در ساختار سیستم عصبی مرکزی و بروز بیماری‌های مرتبط با آن از جمله آلزایمر شود. بنابراین هدف از مطالعه حاضر بررسی تاثیر محافظتی چهار هفته تمرین هوازی منظم و مصرف بنفوتیامین بر اختلال اکسایش ناشی از نویز در مغز موش‌ها بود.

**مواد و روش‌ها:** در مطالعه تجربی حاضر، ۴۰ سر موش سوری نر دو ماهه به صورت تصادفی در پنج گروه قرار گرفتند: گروه کنترل، گروه نویز که روزانه با سر و صدای شغلی (۱۰۰ دسی بل / ۴ ساعت در روز / ۵ بار در هفته) مواجه بودند، گروه نویز+تمرین، گروه نویز+بنفوتیامین و گروه نویز+تمرین+بنفوتیامین. تمام گروه‌ها به جز حیوانات گروه کنترل به صورت روزانه در مواجهه با سر و صدا قرار می‌گرفتند، بلافاصله پس از قطع بلندگو مکمل بنفوتیامین (دوز ۲۰۰ mg/kg / ۵ بار در هفته) به صورت گاوژ به دو گروه از موش‌ها خوراندند شده و سپس گروه‌های تمرینی روی تردمیل برنامه تمرین هوازی (۵ بار در هفته/نیم ساعت) را طبق پروتکل انجام می‌دادند. تمام مداخلات برای چهار هفته متوالی انجام شد و ۷۲ ساعت پس از آخرین تمرین ورزشی حیوانات بیهوش و سپس بافت برداری شدند. سطوح بافتی نشانگرهای استرس اکسیداتیو (مالون دی آلدئید، پروتئین کربونیل، گلو تاتیون و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی) با استفاده از روش بیوشیمیایی اندازه گیری شدند. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از آزمون تحلیل واریانس یک طرفه و آزمون تعقیبی توکی استفاده شد.

**یافته‌ها:** نتایج پژوهش حاضر نشان دادند روزانه ۴ ساعت مواجهه با سروصدای شغلی منجر به افزایش معنی دار میزان ROS، مالون دی آلدئید و پروتئین کربنیل ( $P < 0/001$ ) و در مقابل کاهش معنی دار سطوح گلو تاتیون ( $P < 0/001$ ) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی ( $P < 0/01$ ) بافت مغز حیوانات در معرض سروصدا در مقایسه با گروه کنترل شد. روزانه ۳۰ دقیقه دویدن روی تردمیل به مدت چهار هفته اگرچه منجر به مهار معنی دار میزان ROS در قیاس با گروه نویز شد ( $P < 0/001$ ) اما تاثیر معنی داری بر سایر نشانگرهای اکسایشی و آنتی‌اکسیدانی مغز موش‌هایی که روزانه در معرض نویز قرار می‌گرفتند، نداشت ( $P > 0/05$ ). در مقایسه با گروه نویز، گاوژ روزانه مکمل بنفوتیامین منجر به کاهش سطوح ROS، مالون دی آلدئید و افزایش گلو تاتیون در بافت مغز موش‌های مواجه با نویز روزانه شد ( $P < 0/05$ )، اما مصرف بنفوتیامین بر مقادیر پروتئین کربونیل و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی بافت مغز تاثیر معنی داری نداشت ( $P > 0/05$ ). انجام منظم تمرینات ورزشی همراه با گاوژ بنفوتیامین بر کاهش سطوح ROS، پروتئین کربونیل و افزایش گلو تاتیون در سطوح بافتی حیوانات در معرض نویز نسبت به گروه نویز موثر بود ( $P < 0/001$ )، با این حال تاثیر معناداری بر مقادیر مالون دی آلدئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی مغز نداشت ( $P > 0/05$ ).

**استنتاج:** نتایج مطالعه حاضر نشان داد که مصرف بنفوتیامین می‌تواند در بهبود وضعیت استرس اکسیداتیو ناشی از سروصدای شغلی به عنوان یک آنتی‌اکسیدان موثر، نقش محافظتی و پیشگیرانه داشته باشد. مصرف روزانه مکمل بنفوتیامین در دوز تعیین شده هم‌زمان با انجام تمرینات ورزشی هوازی با شدت متوسط قادر است با بهبود وضعیت آنتی‌اکسیدانی و همچنین برخی نشانگرهای استرس اکسیداتیو در پیشگیری از بروز اختلالات ناشی از قرار گرفتن مداوم در معرض سروصدای شغلی اثرگذار باشد. برای بررسی مکانیسم ترکیب بنفوتیامین و ورزش هوازی بر مهار سطح استرس اکسیداتیو ناشی از سروصدا به مطالعات حیوانی و انسانی بیش‌تری نیاز است.

**واژه‌های کلیدی:** سروصدا، تمرین ورزشی، آنتی‌اکسیدان، بنفوتیامین، سمیت عصبی

E-mail: a.safarzade@umz.ac.ir

E-mail: fshaki.tox@gmail.com

**مؤلف مسئول:** علی رضا صفرزاده - بابلسر: دانشگاه مازندران، دانشکده علوم ورزشی و فاطمه شکی - ساری: کیلومتر ۱۷ جاده فرح آباد، مجتمع دانشگاهی پیامبر اعظم، دانشکده داروسازی

۱. دانشجوی دکتری تخصصی فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

۲. دانشیار، گروه فیزیولوژی ورزشی، دانشکده علوم ورزشی، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

۳. قلم علمی پایش سلامت ورزشی و پویش قهرمانی دانشگاه مازندران، دانشگاه مازندران، بابلسر، ایران

۴. دانشیار، گروه سم شناسی و فارماکولوژی، دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۵. مرکز تحقیقات علوم دارویی، پژوهشکده هموگلوبینوپاتی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

۶. مرکز تحقیقات سلامت فرآورده‌های گیاهی و دامی، دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۵/۹ تاریخ ارجاع جهت اصلاحات: ۱۴۰۳/۶/۲۰ تاریخ تصویب: ۱۴۰۳/۷/۱۸

## مقدمه

با توجه به روند رو به رشد صنعت در جهان و افزایش تعداد کارگران مشغول در کارخانجات و شرکت‌های صنعتی، سروصدای شغلی به‌عنوان یکی از مخاطرات سلامت فیزیکی و روانی کارگران در نظر گرفته شده است (۱). قرار گرفتن مداوم در معرض صداهای بلند و آزاردهنده مانند صدای تهویه، کمپرسور، ابزار و دستگاه‌های صنعتی در محیط کار می‌تواند سلامت این قشر وسیع از جوامع بشری را با مخاطرات جدی سلامتی مواجه کند و آسیب‌های مغزی از جمله افزایش استرس، اضطراب، اختلال در خواب، افت کارایی شناختی و حتی آلزایمر را به دنبال داشته باشد (۲).

براساس مطالعات انجام شده در این زمینه، سروصدا با افزایش پاسخ‌های استرسی، تولید هورمون‌های استرسی و تولید رادیکال‌های آزاد و کاستن از فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی که مسئول از بین بردن رادیکال‌های آزاد در مغز هستند، می‌تواند منجر به تشدید استرس اکسیداتیو در مغز شود (۳). در واقع عدم تعادل بین تولید رادیکال‌های آزاد و فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها منجر به تجمع فزاینده رادیکال‌های آزاد در سلول شده و استرس اکسیداتیو به وقوع می‌پیوندد (۴). این ناهنجاری اکسیداتیو و ناتوانی سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی منجر به آسیب سلولی و آسیب درشت مولکول‌ها از جمله پروتئین‌ها و چربی‌ها می‌شود (۴). استرس اکسیداتیو یک پدیده فیزیولوژیک است که می‌تواند به دنبال اکسیداسیون پروتئین‌ها و لیپیدها و تعامل این درشت مولکول‌ها با رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژنی (Reactive oxygen species: ROS) در سلول‌ها منجر به تشکیل پروتئین کربونیل و مالون دی‌آلدئید شود (۵). این گونه مواد سمی تولید شده در سلول با پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک واکنش داشته و آثار زیان‌باری برای سلول‌ها و بافت‌ها دارند (۵). از آن‌جا که سلول‌های عصبی به دلیل میزان چربی و اکسیژن بالا و هم‌چنین سیستم آنتی‌اکسیدانی ضعیف از حساسیت

بالایی نسبت به استرس اکسیداتیو برخوردار هستند و برای انجام فعالیت‌های خود نیازمند انرژی بالایی هستند، این ناهنجاری می‌تواند آسیب‌های غیرقابل بازگشت در سلول‌های عصبی به وجود آورد و منجر پیدایش بیماری‌های گوناگون از جمله آلزایمر شود (۶).

محافظت از سلول عصبی در مقابل سمیت حاصل از نشانگرهای آسیب اکسیداتیو از جمله مالون دی‌آلدئید و پروتئین کربونیل و پیشگیری از تشکیل آن‌ها با استفاده از آنتی‌اکسیدان‌ها و ارتقای سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی بدن، می‌تواند از بروز بیماری‌های مختلف مرتبط با سیستم عصبی مرکزی جلوگیری کند (۷). مکمل بنفوتیامین (benfotiamine) به‌عنوان یک مشتق فعال و محلول در چربی ویتامین B1 (تیامین) شناخته می‌شود که به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان قوی عمل می‌کند و می‌تواند به کاهش استرس اکسیداتیو کمک کند (۸). بنفوتیامین به دلیل خواص حفاظتی خود در برابر آسیب اکسیداتیو و نقش آن در بهبود عملکرد متابولیک سلول‌ها مورد توجه قرار گرفته است (۹). بنفوتیامین با افزایش سطوح گلوکوتایون سلولی و بافتی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان‌های سلولی می‌تواند به کاهش فرآورده‌های استرس اکسیداتیو کمک کند (۹) و در مقابله با استرس اکسیداتیو و التهاب ناشی از فعال‌سازی میکروگلیا مؤثر است (۷). اگرچه بنفوتیامین به‌عنوان یک مکمل غذایی با پتانسیل درمانی بالا در حمایت از سلامت عصبی و بهبود متابولیسم گلوکز معرفی شده است (۱۰)، اما نقش و مکانیسم آن در پیشگیری و درمان سمیت عصبی ناشی از سروصدا به‌طور کامل مشخص نشده است. با توجه به این‌که قرار گرفتن در معرض سر و صدا می‌تواند منجر به افزایش تولید گونه‌های اکسیژن واکنشی و آسیب به سلول‌های مغزی شود، استفاده از بنفوتیامین به‌عنوان یک مداخله درمانی منطقی به نظر می‌رسد.

از نگاهی دیگر، تمرینات ورزشی منظم با توجه به نوع و شدت آن می‌توانند آثار متفاوتی بر استرس اکسیداتیو داشته باشند (۱۱). ورزش‌های هوازی مانند

دویدن با شدت متوسط با تولید ملایم و آرام رادیکال‌های آزاد همراه است و به دلیل تاثیرات مثبت بر سیستم قلبی-عروقی (۱۲) می‌تواند از طرق گوناگون از جمله بهبود تعادل انرژی و اکسیژن‌رسانی به بافت‌ها و افزایش تولید آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی مانند گلوکوتایون که نقش مهمی در خنثی‌سازی ROS و کاهش استرس اکسیداتیو در بدن دارند، منجر به مقاومت بدن در برابر استرس اکسیداتیو شود (۱۳)، بنابراین احتمالاً به کاهش استرس اکسیداتیو و حفظ سلامت سلول‌ها کمک می‌کند (۱۴). نتایج پژوهشی که بر روی زنان سالمند انجام شده بود نشان داد که ورزش هوازی با شدت متوسط آسیب‌های ناشی از استرس اکسیداتیو را کاهش داده و ظرفیت سیستم آنتی‌اکسیدانی را افزایش می‌دهد (۱۳). با این حال مکانیسم، نقش محافظتی و میزان تاثیر این نوع تمرینات با شدت متوسط در پیشگیری از صدمات اکسیداتیو ناشی از سروصدای شغلی نیاز به بررسی‌های بیش‌تری دارد.

استرس اکسیداتیو ناشی از سروصدای شغلی می‌تواند به آسیب‌های سلولی و بافتی منجر شود و ممکن است ترکیب بنفوتیامین و ورزش هوازی به عنوان یک راهبرد کارآمد در کاهش این آسیب‌ها مؤثر باشد. براساس بررسی ما، مطالعاتی که اثرات محافظتی همزمان مصرف بنفوتیامین و ورزش هوازی بر استرس اکسیداتیو ناشی از نویز را بر سیستم‌های بیولوژیکی بررسی کرده باشند، یافت نشد. بنابراین در مطالعه حاضر به ارزیابی تاثیر چهار هفته تمرین هوازی همزمان با دریافت بنفوتیامین بر نشانگرهای اکسیداتیو موش‌های نر در معرض سروصدا پرداخته شد.

## مواد و روش‌ها

### حیوانات

تمام مراحل آزمایشی مطالعه تجربی حاضر با رعایت دستورالعمل‌های مراقبت و استفاده از حیوانات آزمایشگاهی تایید شده توسط کمیته‌های اخلاق دانشگاه مازندران (IR.UMZ.REC.1402.042)، بابلسر،

ایران انجام شد. ۴۰ سر موش نر سوری دو ماهه با میانگین وزن  $25 \pm 5$  گرم از مرکز تحقیقات حیوانات آزمایشگاهی دانشگاه علوم پزشکی مازندران، ساری، ایران دریافت شدند. حیوانات در قفس موش‌ها در یک اتاق اختصاصی مجهز به بلندگو و لپ‌تاپ نگهداری شدند. اتاق دارای چرخه نور/تاریکی ۱۲ ساعته بود و در دمای  $22 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد نگهداری می‌شد. حیوانات به غذا و آب دسترسی آزاد داشتند. پس از این که موش‌ها به مدت یک هفته با شرایط زندگی خود و نحوه ورزش سازگار شدند، به طور تصادفی به پنج گروه (۸ موش/گروه) کنترل، نویز، نویز+تمرین، نویز+بنفوتیامین و نویز+تمرین+بنفوتیامین تقسیم شدند.

### پروتکل‌های آزمایشی

برای القای نویز شغلی، حیوانات مورد بررسی به جز گروه کنترل ( $n=8$ ) به مدت چهار هفته به‌طور مداوم و ۴ ساعت در روز در معرض صدا (۱۰۰ دسی‌بل) قرار گرفتند (۳). در این تحقیق از نرم‌افزار Cool Edit Pro (Adobe Systems, San Jose, CA, USA) نصب شده بر روی کامپیوتر برای مشاهده، ویرایش صدای ضبط شده از کارخانه‌های صنعتی، تهیه و کنترل کلیپ صوتی سروصدای شغلی (با توجه به سطح معادل به‌دست آمده از اندازه‌گیری‌ها) استفاده شد. نرم‌افزار رایانه‌ای (MEDIA PLAYER نسخه ۱۱، ۲۴۰۲، ۶، ۰) جهت تحویل به بلندگو برای تولید صدای شغلی استفاده شد. بلندگو در فاصله مساوی تقریباً ۳۰ سانتی‌متر از قفس موش‌ها در یک اتاق قرار داشت (۱۵). یک صداسنج کالیبره شده و مجهز به یک تحلیل‌گر فرکانس سنج ( $450\text{C}\ell$ ) به طور منظم خروجی آکوستیک را کنترل می‌کرد. برای استفاده از مکمل بنفوتیامین، پس از قطع صدا، در همان روز، دو گروه آزمایشی از حیوانات در معرض صدا، بنفوتیامین (دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم) به‌صورت گاوآژ دریافت کردند و این امر به مدت چهار هفته ادامه یافت (۱۶۸). برای اجرای پروتکل تمرین،

در طول موج ۵۹۵ نانومتر توسط یک اسپکتروفوتومتر (UV-1601 PC, Shimadzu, Japan) تعیین شد. غلظت نمونه‌ها از رسم منحنی استاندارد به دست آمد (۱۸).

#### ۲- سنجش میزان ذرات فعال اکسیژن

تشکیل ROS در هموژن‌های بافت مغز با استفاده از دی کلرودی هیدرو فلورسین دی استات (DCFH-DA) به عنوان معرف انجام شد. معرف مذکور با غلظت نهایی  $10 \mu\text{M}$  به نمونه‌ها افزوده و به مدت ۱۰ دقیقه انکوبه شد. سپس از طریق فلوریمتر Shimadzu RF5000U در طول موج تحریک ۴۸۵ نانومتر و طول موج انتشار ۵۲۰ نانومتر ارزیابی شد (۱۸).

#### ۳- سنجش پروتئین کربونیل

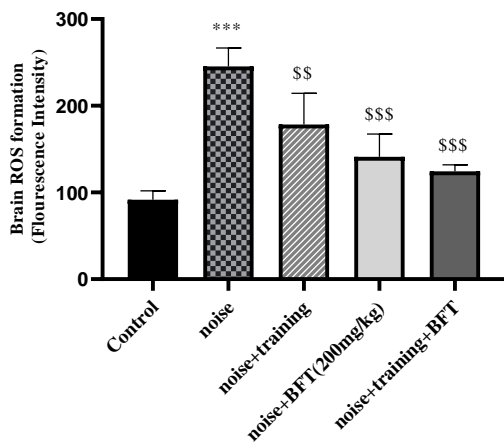
پس از افزودن محلول‌های مورد نظر براساس پروتکل و انجام سانتیفریوژ با سرعت ۶۵۰۰ دور، رسوب باقی مانده را با گوانیدین هیدرو کلراید به عنوان یک معرف برای تعیین محتوای کربونیل پروتئین ترکیب کردیم. محتوای پروتئین کربونیل توسط اسپکتروفوتومتری (UV-1601 PC, Shimadzu, Japan) و خواندن جذب در طول موج ۳۶۵ نانومتر براساس میلی مولار ارزیابی شد (۱۹).

#### ۴- سنجش مالون دی آلدئید (MDA)

ارزیابی محتوای مالون دی آلدئید که به عنوان محصول نهایی پراکسیداسیون لیپیدی شناخته شده است در نمونه‌های هموژن بافت مغز با استفاده از روش تیوباریتوریک اسید انجام شد. طبق دستورالعمل تترامتوکسی پروپان به عنوان استاندارد استفاده شد. سپس توسط اسپکتروفوتومتر (UV-1601 PC, Shimadzu, Japan) در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده و براساس میکرومولار بیان شد (۱۹).

#### اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدانی تام (FRAP)

تست قدرت آنتی اکسیدانی کاهش دهنده آهن (FRAP) برای سنجش پتانسیل آنتی اکسیدانی تام نمونه‌ها استفاده شد. ۲، ۴، ۶، ۸، ۱۰، ۱۲، ۱۴، ۱۶، ۱۸، ۲۰، ۲۲، ۲۴، ۲۶، ۲۸، ۳۰، ۳۲، ۳۴، ۳۶، ۳۸، ۴۰، ۴۲، ۴۴، ۴۶، ۴۸، ۵۰، ۵۲، ۵۴، ۵۶، ۵۸، ۶۰، ۶۲، ۶۴، ۶۶، ۶۸، ۷۰، ۷۲، ۷۴، ۷۶، ۷۸، ۸۰، ۸۲، ۸۴، ۸۶، ۸۸، ۹۰، ۹۲، ۹۴، ۹۶، ۹۸، ۱۰۰، ۱۰۲، ۱۰۴، ۱۰۶، ۱۰۸، ۱۱۰، ۱۱۲، ۱۱۴، ۱۱۶، ۱۱۸، ۱۲۰، ۱۲۲، ۱۲۴، ۱۲۶، ۱۲۸، ۱۳۰، ۱۳۲، ۱۳۴، ۱۳۶، ۱۳۸، ۱۴۰، ۱۴۲، ۱۴۴، ۱۴۶، ۱۴۸، ۱۵۰، ۱۵۲، ۱۵۴، ۱۵۶، ۱۵۸، ۱۶۰، ۱۶۲، ۱۶۴، ۱۶۶، ۱۶۸، ۱۷۰، ۱۷۲، ۱۷۴، ۱۷۶، ۱۷۸، ۱۸۰، ۱۸۲، ۱۸۴، ۱۸۶، ۱۸۸، ۱۹۰، ۱۹۲، ۱۹۴، ۱۹۶، ۱۹۸، ۲۰۰، ۲۰۲، ۲۰۴، ۲۰۶، ۲۰۸، ۲۱۰، ۲۱۲، ۲۱۴، ۲۱۶، ۲۱۸، ۲۲۰، ۲۲۲، ۲۲۴، ۲۲۶، ۲۲۸، ۲۳۰، ۲۳۲، ۲۳۴، ۲۳۶، ۲۳۸، ۲۴۰، ۲۴۲، ۲۴۴، ۲۴۶، ۲۴۸، ۲۵۰، ۲۵۲، ۲۵۴، ۲۵۶، ۲۵۸، ۲۶۰، ۲۶۲، ۲۶۴، ۲۶۶، ۲۶۸، ۲۷۰، ۲۷۲، ۲۷۴، ۲۷۶، ۲۷۸، ۲۸۰، ۲۸۲، ۲۸۴، ۲۸۶، ۲۸۸، ۲۹۰، ۲۹۲، ۲۹۴، ۲۹۶، ۲۹۸، ۳۰۰، ۳۰۲، ۳۰۴، ۳۰۶، ۳۰۸، ۳۱۰، ۳۱۲، ۳۱۴، ۳۱۶، ۳۱۸، ۳۲۰، ۳۲۲، ۳۲۴، ۳۲۶، ۳۲۸، ۳۳۰، ۳۳۲، ۳۳۴، ۳۳۶، ۳۳۸، ۳۴۰، ۳۴۲، ۳۴۴، ۳۴۶، ۳۴۸، ۳۵۰، ۳۵۲، ۳۵۴، ۳۵۶، ۳۵۸، ۳۶۰، ۳۶۲، ۳۶۴، ۳۶۶، ۳۶۸، ۳۷۰، ۳۷۲، ۳۷۴، ۳۷۶، ۳۷۸، ۳۸۰، ۳۸۲، ۳۸۴، ۳۸۶، ۳۸۸، ۳۹۰، ۳۹۲، ۳۹۴، ۳۹۶، ۳۹۸، ۴۰۰، ۴۰۲، ۴۰۴، ۴۰۶، ۴۰۸، ۴۱۰، ۴۱۲، ۴۱۴، ۴۱۶، ۴۱۸، ۴۲۰، ۴۲۲، ۴۲۴، ۴۲۶، ۴۲۸، ۴۳۰، ۴۳۲، ۴۳۴، ۴۳۶، ۴۳۸، ۴۴۰، ۴۴۲، ۴۴۴، ۴۴۶، ۴۴۸، ۴۵۰، ۴۵۲، ۴۵۴، ۴۵۶، ۴۵۸، ۴۶۰، ۴۶۲، ۴۶۴، ۴۶۶، ۴۶۸، ۴۷۰، ۴۷۲، ۴۷۴، ۴۷۶، ۴۷۸، ۴۸۰، ۴۸۲، ۴۸۴، ۴۸۶، ۴۸۸، ۴۹۰، ۴۹۲، ۴۹۴، ۴۹۶، ۴۹۸، ۵۰۰، ۵۰۲، ۵۰۴، ۵۰۶، ۵۰۸، ۵۱۰، ۵۱۲، ۵۱۴، ۵۱۶، ۵۱۸، ۵۲۰، ۵۲۲، ۵۲۴، ۵۲۶، ۵۲۸، ۵۳۰، ۵۳۲، ۵۳۴، ۵۳۶، ۵۳۸، ۵۴۰، ۵۴۲، ۵۴۴، ۵۴۶، ۵۴۸، ۵۵۰، ۵۵۲، ۵۵۴، ۵۵۶، ۵۵۸، ۵۶۰، ۵۶۲، ۵۶۴، ۵۶۶، ۵۶۸، ۵۷۰، ۵۷۲، ۵۷۴، ۵۷۶، ۵۷۸، ۵۸۰، ۵۸۲، ۵۸۴، ۵۸۶، ۵۸۸، ۵۹۰، ۵۹۲، ۵۹۴، ۵۹۶، ۵۹۸، ۶۰۰، ۶۰۲، ۶۰۴، ۶۰۶، ۶۰۸، ۶۱۰، ۶۱۲، ۶۱۴، ۶۱۶، ۶۱۸، ۶۲۰، ۶۲۲، ۶۲۴، ۶۲۶، ۶۲۸، ۶۳۰، ۶۳۲، ۶۳۴، ۶۳۶، ۶۳۸، ۶۴۰، ۶۴۲، ۶۴۴، ۶۴۶، ۶۴۸، ۶۵۰، ۶۵۲، ۶۵۴، ۶۵۶، ۶۵۸، ۶۶۰، ۶۶۲، ۶۶۴، ۶۶۶، ۶۶۸، ۶۷۰، ۶۷۲، ۶۷۴، ۶۷۶، ۶۷۸، ۶۸۰، ۶۸۲، ۶۸۴، ۶۸۶، ۶۸۸، ۶۹۰، ۶۹۲، ۶۹۴، ۶۹۶، ۶۹۸، ۷۰۰، ۷۰۲، ۷۰۴، ۷۰۶، ۷۰۸، ۷۱۰، ۷۱۲، ۷۱۴، ۷۱۶، ۷۱۸، ۷۲۰، ۷۲۲، ۷۲۴، ۷۲۶، ۷۲۸، ۷۳۰، ۷۳۲، ۷۳۴، ۷۳۶، ۷۳۸، ۷۴۰، ۷۴۲، ۷۴۴، ۷۴۶، ۷۴۸، ۷۵۰، ۷۵۲، ۷۵۴، ۷۵۶، ۷۵۸، ۷۶۰، ۷۶۲، ۷۶۴، ۷۶۶، ۷۶۸، ۷۷۰، ۷۷۲، ۷۷۴، ۷۷۶، ۷۷۸، ۷۸۰، ۷۸۲، ۷۸۴، ۷۸۶، ۷۸۸، ۷۹۰، ۷۹۲، ۷۹۴، ۷۹۶، ۷۹۸، ۸۰۰، ۸۰۲، ۸۰۴، ۸۰۶، ۸۰۸، ۸۱۰، ۸۱۲، ۸۱۴، ۸۱۶، ۸۱۸، ۸۲۰، ۸۲۲، ۸۲۴، ۸۲۶، ۸۲۸، ۸۳۰، ۸۳۲، ۸۳۴، ۸۳۶، ۸۳۸، ۸۴۰، ۸۴۲، ۸۴۴، ۸۴۶، ۸۴۸، ۸۵۰، ۸۵۲، ۸۵۴، ۸۵۶، ۸۵۸، ۸۶۰، ۸۶۲، ۸۶۴، ۸۶۶، ۸۶۸، ۸۷۰، ۸۷۲، ۸۷۴، ۸۷۶، ۸۷۸، ۸۸۰، ۸۸۲، ۸۸۴، ۸۸۶، ۸۸۸، ۸۹۰، ۸۹۲، ۸۹۴، ۸۹۶، ۸۹۸، ۹۰۰، ۹۰۲، ۹۰۴، ۹۰۶، ۹۰۸، ۹۱۰، ۹۱۲، ۹۱۴، ۹۱۶، ۹۱۸، ۹۲۰، ۹۲۲، ۹۲۴، ۹۲۶، ۹۲۸، ۹۳۰، ۹۳۲، ۹۳۴، ۹۳۶، ۹۳۸، ۹۴۰، ۹۴۲، ۹۴۴، ۹۴۶، ۹۴۸، ۹۵۰، ۹۵۲، ۹۵۴، ۹۵۶، ۹۵۸، ۹۶۰، ۹۶۲، ۹۶۴، ۹۶۶، ۹۶۸، ۹۷۰، ۹۷۲، ۹۷۴، ۹۷۶، ۹۷۸، ۹۸۰، ۹۸۲، ۹۸۴، ۹۸۶، ۹۸۸، ۹۹۰، ۹۹۲، ۹۹۴، ۹۹۶، ۹۹۸، ۱۰۰۰، ۱۰۰۲، ۱۰۰۴، ۱۰۰۶، ۱۰۰۸، ۱۰۱۰، ۱۰۱۲، ۱۰۱۴، ۱۰۱۶، ۱۰۱۸، ۱۰۲۰، ۱۰۲۲، ۱۰۲۴، ۱۰۲۶، ۱۰۲۸، ۱۰۳۰، ۱۰۳۲، ۱۰۳۴، ۱۰۳۶، ۱۰۳۸، ۱۰۴۰، ۱۰۴۲، ۱۰۴۴، ۱۰۴۶، ۱۰۴۸، ۱۰۵۰، ۱۰۵۲، ۱۰۵۴، ۱۰۵۶، ۱۰۵۸، ۱۰۶۰، ۱۰۶۲، ۱۰۶۴، ۱۰۶۶، ۱۰۶۸، ۱۰۷۰، ۱۰۷۲، ۱۰۷۴، ۱۰۷۶، ۱۰۷۸، ۱۰۸۰، ۱۰۸۲، ۱۰۸۴، ۱۰۸۶، ۱۰۸۸، ۱۰۹۰، ۱۰۹۲، ۱۰۹۴، ۱۰۹۶، ۱۰۹۸، ۱۱۰۰، ۱۱۰۲، ۱۱۰۴، ۱۱۰۶، ۱۱۰۸، ۱۱۱۰، ۱۱۱۲، ۱۱۱۴، ۱۱۱۶، ۱۱۱۸، ۱۱۲۰، ۱۱۲۲، ۱۱۲۴، ۱۱۲۶، ۱۱۲۸، ۱۱۳۰، ۱۱۳۲، ۱۱۳۴، ۱۱۳۶، ۱۱۳۸، ۱۱۴۰، ۱۱۴۲، ۱۱۴۴، ۱۱۴۶، ۱۱۴۸، ۱۱۵۰، ۱۱۵۲، ۱۱۵۴، ۱۱۵۶، ۱۱۵۸، ۱۱۶۰، ۱۱۶۲، ۱۱۶۴، ۱۱۶۶، ۱۱۶۸، ۱۱۷۰، ۱۱۷۲، ۱۱۷۴، ۱۱۷۶، ۱۱۷۸، ۱۱۸۰، ۱۱۸۲، ۱۱۸۴، ۱۱۸۶، ۱۱۸۸، ۱۱۹۰، ۱۱۹۲، ۱۱۹۴، ۱۱۹۶، ۱۱۹۸، ۱۲۰۰، ۱۲۰۲، ۱۲۰۴، ۱۲۰۶، ۱۲۰۸، ۱۲۱۰، ۱۲۱۲، ۱۲۱۴، ۱۲۱۶، ۱۲۱۸، ۱۲۲۰، ۱۲۲۲، ۱۲۲۴، ۱۲۲۶، ۱۲۲۸، ۱۲۳۰، ۱۲۳۲، ۱۲۳۴، ۱۲۳۶، ۱۲۳۸، ۱۲۴۰، ۱۲۴۲، ۱۲۴۴، ۱۲۴۶، ۱۲۴۸، ۱۲۵۰، ۱۲۵۲، ۱۲۵۴، ۱۲۵۶، ۱۲۵۸، ۱۲۶۰، ۱۲۶۲، ۱۲۶۴، ۱۲۶۶، ۱۲۶۸، ۱۲۷۰، ۱۲۷۲، ۱۲۷۴، ۱۲۷۶، ۱۲۷۸، ۱۲۸۰، ۱۲۸۲، ۱۲۸۴، ۱۲۸۶، ۱۲۸۸، ۱۲۹۰، ۱۲۹۲، ۱۲۹۴، ۱۲۹۶، ۱۲۹۸، ۱۳۰۰، ۱۳۰۲، ۱۳۰۴، ۱۳۰۶، ۱۳۰۸، ۱۳۱۰، ۱۳۱۲، ۱۳۱۴، ۱۳۱۶، ۱۳۱۸، ۱۳۲۰، ۱۳۲۲، ۱۳۲۴، ۱۳۲۶، ۱۳۲۸، ۱۳۳۰، ۱۳۳۲، ۱۳۳۴، ۱۳۳۶، ۱۳۳۸، ۱۳۴۰، ۱۳۴۲، ۱۳۴۴، ۱۳۴۶، ۱۳۴۸، ۱۳۵۰، ۱۳۵۲، ۱۳۵۴، ۱۳۵۶، ۱۳۵۸، ۱۳۶۰، ۱۳۶۲، ۱۳۶۴، ۱۳۶۶، ۱۳۶۸، ۱۳۷۰، ۱۳۷۲، ۱۳۷۴، ۱۳۷۶، ۱۳۷۸، ۱۳۸۰، ۱۳۸۲، ۱۳۸۴، ۱۳۸۶، ۱۳۸۸، ۱۳۹۰، ۱۳۹۲، ۱۳۹۴، ۱۳۹۶، ۱۳۹۸، ۱۴۰۰، ۱۴۰۲، ۱۴۰۴، ۱۴۰۶، ۱۴۰۸، ۱۴۱۰، ۱۴۱۲، ۱۴۱۴، ۱۴۱۶، ۱۴۱۸، ۱۴۲۰، ۱۴۲۲، ۱۴۲۴، ۱۴۲۶، ۱۴۲۸، ۱۴۳۰، ۱۴۳۲، ۱۴۳۴، ۱۴۳۶، ۱۴۳۸، ۱۴۴۰، ۱۴۴۲، ۱۴۴۴، ۱۴۴۶، ۱۴۴۸، ۱۴۵۰، ۱۴۵۲، ۱۴۵۴، ۱۴۵۶، ۱۴۵۸، ۱۴۶۰، ۱۴۶۲، ۱۴۶۴، ۱۴۶۶، ۱۴۶۸، ۱۴۷۰، ۱۴۷۲، ۱۴۷۴، ۱۴۷۶، ۱۴۷۸، ۱۴۸۰، ۱۴۸۲، ۱۴۸۴، ۱۴۸۶، ۱۴۸۸، ۱۴۹۰، ۱۴۹۲، ۱۴۹۴، ۱۴۹۶، ۱۴۹۸، ۱۵۰۰، ۱۵۰۲، ۱۵۰۴، ۱۵۰۶، ۱۵۰۸، ۱۵۱۰، ۱۵۱۲، ۱۵۱۴، ۱۵۱۶، ۱۵۱۸، ۱۵۲۰، ۱۵۲۲، ۱۵۲۴، ۱۵۲۶، ۱۵۲۸، ۱۵۳۰، ۱۵۳۲، ۱۵۳۴، ۱۵۳۶، ۱۵۳۸، ۱۵۴۰، ۱۵۴۲، ۱۵۴۴، ۱۵۴۶، ۱۵۴۸، ۱۵۵۰، ۱۵۵۲، ۱۵۵۴، ۱۵۵۶، ۱۵۵۸، ۱۵۶۰، ۱۵۶۲، ۱۵۶۴، ۱۵۶۶، ۱۵۶۸، ۱۵۷۰، ۱۵۷۲، ۱۵۷۴، ۱۵۷۶، ۱۵۷۸، ۱۵۸۰، ۱۵۸۲، ۱۵۸۴، ۱۵۸۶، ۱۵۸۸، ۱۵۹۰، ۱۵۹۲، ۱۵۹۴، ۱۵۹۶، ۱۵۹۸، ۱۶۰۰، ۱۶۰۲، ۱۶۰۴، ۱۶۰۶، ۱۶۰۸، ۱۶۱۰، ۱۶۱۲، ۱۶۱۴، ۱۶۱۶، ۱۶۱۸، ۱۶۲۰، ۱۶۲۲، ۱۶۲۴، ۱۶۲۶، ۱۶۲۸، ۱۶۳۰، ۱۶۳۲، ۱۶۳۴، ۱۶۳۶، ۱۶۳۸، ۱۶۴۰، ۱۶۴۲، ۱۶۴۴، ۱۶۴۶، ۱۶۴۸، ۱۶۵۰، ۱۶۵۲، ۱۶۵۴، ۱۶۵۶، ۱۶۵۸، ۱۶۶۰، ۱۶۶۲، ۱۶۶۴، ۱۶۶۶، ۱۶۶۸، ۱۶۷۰، ۱۶۷۲، ۱۶۷۴، ۱۶۷۶، ۱۶۷۸، ۱۶۸۰، ۱۶۸۲، ۱۶۸۴، ۱۶۸۶، ۱۶۸۸، ۱۶۹۰، ۱۶۹۲، ۱۶۹۴، ۱۶۹۶، ۱۶۹۸، ۱۷۰۰، ۱۷۰۲، ۱۷۰۴، ۱۷۰۶، ۱۷۰۸، ۱۷۱۰، ۱۷۱۲، ۱۷۱۴، ۱۷۱۶، ۱۷۱۸، ۱۷۲۰، ۱۷۲۲، ۱۷۲۴، ۱۷۲۶، ۱۷۲۸، ۱۷۳۰، ۱۷۳۲، ۱۷۳۴، ۱۷۳۶، ۱۷۳۸، ۱۷۴۰، ۱۷۴۲، ۱۷۴۴، ۱۷۴۶، ۱۷۴۸، ۱۷۵۰، ۱۷۵۲، ۱۷۵۴، ۱۷۵۶، ۱۷۵۸، ۱۷۶۰، ۱۷۶۲، ۱۷۶۴، ۱۷۶۶، ۱۷۶۸، ۱۷۷۰، ۱۷۷۲، ۱۷۷۴، ۱۷۷۶، ۱۷۷۸، ۱۷۸۰، ۱۷۸۲، ۱۷۸۴، ۱۷۸۶، ۱۷۸۸، ۱۷۹۰، ۱۷۹۲، ۱۷۹۴، ۱۷۹۶، ۱۷۹۸، ۱۸۰۰، ۱۸۰۲، ۱۸۰۴، ۱۸۰۶، ۱۸۰۸، ۱۸۱۰، ۱۸۱۲، ۱۸۱۴، ۱۸۱۶، ۱۸۱۸، ۱۸۲۰، ۱۸۲۲، ۱۸۲۴، ۱۸۲۶، ۱۸۲۸، ۱۸۳۰، ۱۸۳۲، ۱۸۳۴، ۱۸۳۶، ۱۸۳۸، ۱۸۴۰، ۱۸۴۲، ۱۸۴۴، ۱۸۴۶، ۱۸۴۸، ۱۸۵۰، ۱۸۵۲، ۱۸۵۴، ۱۸۵۶، ۱۸۵۸، ۱۸۶۰، ۱۸۶۲، ۱۸۶۴، ۱۸۶۶، ۱۸۶۸، ۱۸۷۰، ۱۸۷۲، ۱۸۷۴، ۱۸۷۶، ۱۸۷۸، ۱۸۸۰، ۱۸۸۲، ۱۸۸۴، ۱۸۸۶، ۱۸۸۸، ۱۸۹۰، ۱۸۹۲، ۱۸۹۴، ۱۸۹۶، ۱۸۹۸، ۱۹۰۰، ۱۹۰۲، ۱۹۰۴، ۱۹۰۶، ۱۹۰۸، ۱۹۱۰، ۱۹۱۲، ۱۹۱۴، ۱۹۱۶، ۱۹۱۸، ۱۹۲۰، ۱۹۲۲، ۱۹۲۴، ۱۹۲۶، ۱۹۲۸، ۱۹۳۰، ۱۹۳۲، ۱۹۳۴، ۱۹۳۶، ۱۹۳۸، ۱۹۴۰، ۱۹۴۲، ۱۹۴۴، ۱۹۴۶، ۱۹۴۸، ۱۹۵۰، ۱۹۵۲، ۱۹۵۴، ۱۹۵۶، ۱۹۵۸، ۱۹۶۰، ۱۹۶۲، ۱۹۶۴، ۱۹۶۶، ۱۹۶۸، ۱۹۷۰، ۱۹۷۲، ۱۹۷۴، ۱۹۷۶، ۱۹۷۸، ۱۹۸۰، ۱۹۸۲، ۱۹۸۴، ۱۹۸۶، ۱۹۸۸، ۱۹۹۰، ۱۹۹۲، ۱۹۹۴، ۱۹۹۶، ۱۹۹۸، ۲۰۰۰، ۲۰۰۲، ۲۰۰۴، ۲۰۰۶، ۲۰۰۸، ۲۰۱۰، ۲۰۱۲، ۲۰۱۴، ۲۰۱۶، ۲۰۱۸، ۲۰۲۰، ۲۰۲۲، ۲۰۲۴، ۲۰۲۶، ۲۰۲۸، ۲۰۳۰، ۲۰۳۲، ۲۰۳۴، ۲۰۳۶، ۲۰۳۸، ۲۰۴۰، ۲۰۴۲، ۲۰۴۴، ۲۰۴۶، ۲۰۴۸، ۲۰۵۰، ۲۰۵۲، ۲۰۵۴، ۲۰۵۶، ۲۰۵۸، ۲۰۶۰، ۲۰۶۲، ۲۰۶۴، ۲۰۶۶، ۲۰۶۸، ۲۰۷۰، ۲۰۷۲، ۲۰۷۴، ۲۰۷۶، ۲۰۷۸، ۲۰۸۰، ۲۰۸۲، ۲۰۸۴، ۲۰۸۶، ۲۰۸۸، ۲۰۹۰، ۲۰۹۲، ۲۰۹۴، ۲۰۹۶، ۲۰۹۸، ۲۱۰۰، ۲۱۰۲، ۲۱۰۴، ۲۱۰۶، ۲۱۰۸، ۲۱۱۰، ۲۱۱۲، ۲۱۱۴، ۲۱۱۶، ۲۱۱۸، ۲۱۲۰، ۲۱۲۲، ۲۱۲۴، ۲۱۲۶، ۲۱۲۸، ۲۱۳۰، ۲۱۳۲، ۲۱۳۴، ۲۱۳۶، ۲۱۳۸، ۲۱۴۰، ۲۱۴۲، ۲۱۴۴، ۲۱۴۶، ۲۱۴۸، ۲۱۵۰، ۲۱۵۲، ۲۱۵۴، ۲۱۵۶، ۲۱۵۸، ۲۱۶۰، ۲۱۶۲، ۲۱۶۴، ۲۱۶۶، ۲۱۶۸، ۲۱۷۰، ۲۱۷۲، ۲۱۷۴، ۲۱۷۶، ۲۱۷۸، ۲۱۸۰، ۲۱۸۲، ۲۱۸۴، ۲۱۸۶، ۲۱۸۸، ۲۱۹۰، ۲۱۹۲، ۲۱۹۴، ۲۱۹۶، ۲۱۹۸، ۲۲۰۰، ۲۲۰۲، ۲۲۰۴، ۲۲۰۶، ۲۲۰۸، ۲۲۱۰، ۲۲۱۲، ۲۲۱۴، ۲۲۱۶، ۲۲۱۸، ۲۲۲۰، ۲۲۲۲، ۲۲۲۴، ۲۲۲۶، ۲۲۲۸، ۲۲۳۰، ۲۲۳۲، ۲۲۳۴، ۲۲۳۶، ۲۲۳۸، ۲۲۴۰، ۲۲۴۲، ۲۲۴۴، ۲۲۴۶، ۲۲۴۸، ۲۲۵۰، ۲۲۵۲، ۲۲۵۴، ۲۲۵۶، ۲۲۵۸، ۲۲۶۰، ۲۲۶۲، ۲۲۶۴، ۲۲۶۶، ۲۲۶۸، ۲۲۷۰، ۲۲۷۲، ۲۲۷۴، ۲۲۷۶، ۲۲۷۸، ۲۲۸۰، ۲۲۸۲، ۲۲۸۴، ۲۲۸۶، ۲۲۸۸، ۲۲۹۰، ۲۲۹۲، ۲۲۹۴، ۲۲۹۶، ۲۲۹۸، ۲۳۰۰، ۲۳۰۲، ۲۳۰۴، ۲۳۰۶، ۲۳۰۸، ۲۳۱۰، ۲۳۱۲، ۲۳۱۴، ۲۳۱۶، ۲۳۱۸، ۲۳۲۰، ۲۳۲۲، ۲۳۲۴، ۲۳۲۶، ۲۳۲۸، ۲۳۳۰، ۲۳۳۲، ۲۳۳۴، ۲۳۳۶، ۲۳۳۸، ۲۳۴۰، ۲۳۴۲، ۲۳۴۴، ۲۳۴۶، ۲۳۴۸، ۲۳۵۰، ۲۳۵۲، ۲۳۵۴، ۲۳۵۶، ۲۳۵۸، ۲۳۶۰، ۲۳۶۲، ۲۳۶۴، ۲۳۶۶، ۲۳۶۸، ۲۳۷۰، ۲۳۷۲، ۲۳۷۴، ۲۳۷۶، ۲۳۷۸، ۲۳۸۰، ۲۳۸۲، ۲۳۸۴، ۲۳۸۶، ۲۳۸۸، ۲۳۹۰، ۲۳۹۲، ۲۳۹۴، ۲۳۹۶، ۲۳۹۸، ۲۴۰۰، ۲۴۰۲، ۲۴۰۴، ۲۴۰۶، ۲۴۰۸، ۲۴۱۰، ۲۴۱۲، ۲۴۱۴، ۲۴۱۶، ۲۴۱۸، ۲۴۲۰، ۲۴۲۲، ۲۴۲۴، ۲۴۲۶، ۲۴۲۸، ۲۴۳۰، ۲۴۳۲، ۲۴۳۴، ۲۴۳۶، ۲۴۳۸، ۲۴۴۰، ۲۴۴۲، ۲۴۴۴، ۲۴۴۶، ۲۴۴۸، ۲۴۵۰، ۲۴۵۲، ۲۴۵۴، ۲۴۵۶، ۲۴۵۸، ۲۴۶۰، ۲۴۶۲، ۲۴۶۴، ۲۴۶۶، ۲۴۶۸، ۲۴۷۰، ۲۴۷۲، ۲۴۷۴، ۲۴۷۶، ۲۴۷۸، ۲۴۸۰، ۲۴۸۲، ۲۴۸۴، ۲۴۸۶، ۲۴۸۸، ۲۴۹۰، ۲۴۹۲، ۲۴۹۴، ۲۴۹۶، ۲۴۹۸، ۲۵



نمودار شماره ۱: سنجش سطوح ROS و اثر تمرین و بنفوتیامین بر سمیت عصبی ناشی از سروصدا

BFT: بنفوتیامین

\*\*\*: تفاوت معنی دار با گروه کنترل ( $P < 0/001$ )

\$: تفاوت معنی دار با گروه سروصدای شغلی (نویز) ( $P < 0/05$ )

\$\$: تفاوت معنی دار با گروه سروصدای شغلی (نویز) ( $P < 0/01$ )

\$\$\$: تفاوت معنی دار با گروه سروصدای شغلی (نویز) ( $P < 0/001$ )

هر دو تیمار انجام شده، چهار هفته تمرین هوازی و هم چنین مصرف مکمل بنفوتیامین با دوز ۲۰۰ mg/kg میزان تشکیل ROS را در بافت مغز موش های در معرض سروصدا به طور معنی داری مهار کردند ( $P < 0/001$ ) ( $P < 0/01$ ). علاوه بر آن، مداخلات درمانی همزمان ورزش و مکمل به مدت چهار هفته تاثیر قابل توجهی بر جلوگیری از تشکیل ROS در مغز موش ها به میزان نصف مقادیر تشکیل آن در گروه نویز داشت ( $P < 0/001$ ) (نمودار شماره ۱).

#### پروتئین کربونیل

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس یکطرفه نشان داد که ( $F(4,25)=16/01$ ) و ( $P < 0/001$ ). سروصدای شغلی منجر به افزایش قابل توجه سطوح پروتئین کربونیل به میزان بیش از دوبرابر آن در مقایسه با گروه کنترل شد ( $P < 0/001$ ) (نمودار شماره ۲).

ورزش هوازی یا مصرف بنفوتیامین تاثیر معنی داری بر میزان پروتئین کربونیل بافت مغز موش های در معرض

(TPTZ) به عنوان یک معرف استفاده شد، از غلظت های مختلف  $FeSO_4$  به عنوان استاندارد استفاده شد و فعالیت آنتی اکسیدانی استانداردها با استفاده از افزایش جذب ناشی از یون های آهن تولید شده در طول موج ۵۹۳ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر براساس میکرومولار برآورد شد (۱۸).

#### سنجش گلو تاتیون (GSH)

پس از افزودن محلول های مورد نظر به نمونه ها، آن ها را با دور ۳۵۰۰ و به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ کردیم. طبق پروتکل، محلول ۵ و ۵-دی تیویس -۲- نیتروبنزوتیوک اسید (DTNB) که رنگ زرد را به عنوان شاخص ایجاد می کند برای تعیین محتوای گلو تاتیون به مایع رویی افزوده شد. مخلوط در طول موج ۴۱۲ نانومتر بر روی دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد. محتوای گلو تاتیون به میکرومولار نشان داده شد (۱۹).

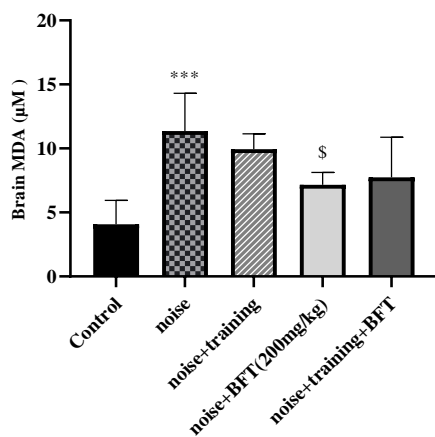
#### ارزیابی آماری

داده ها به عنوان میانگین  $\pm$  انحراف معیار نشان داده شده است. نرمال بودن داده ها با استفاده از آزمون شاپیرو-ویک مورد بررسی قرار گرفت. برای تعیین اثرات عمده ورزش، مکمل و ترکیب آن ها بر اختلال ناشی از نویز، از آنالیز واریانس یک طرفه استفاده شد و به دنبال آن تست تعقیبی توکی انجام شد. تجزیه و تحلیل های آماری با استفاده از GraphPad Prism نسخه ۸ انجام شد و معنی داری آماری در  $P < 0/05$  بیان شد.

## یافته ها

#### ذرات فعال اکسیرن

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که ( $F(4,25)=39$ ) و ( $P < 0/001$ ). سروصدای شغلی سبب افزایش معنی دار القای ROS به میزان تقریبی سه برابر آن در بافت مغز در مقایسه با گروه کنترل شد ( $P < 0/001$ ) (نمودار شماره ۱).



نمودار شماره ۳: ارزیابی مالون دی آلدئید (MDA) و اثر تمرین و

بنفوتیامین بر سمیت ناشی از سروصدا

BFT: بنفوتیامین

\*\*\*: تفاوت معنی دار با گروه کنترل ( $P < 0/001$ )

\$: تفاوت معنی دار با گروه سروصدای شغلی (نویز) ( $P < 0/05$ )

\$\$: تفاوت معنی دار با گروه سروصدای شغلی (نویز) ( $P < 0/01$ )

\$\$\$ : تفاوت معنی دار با گروه سروصدای شغلی (نویز) ( $P < 0/0001$ )

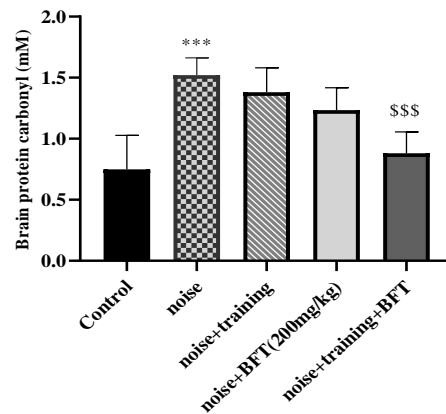
#### ظرفیت آنتی اکسیدانی تام

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که ( $F(2,27)=4/53$ ) و ( $P < 0/007$ ). ظرفیت آنتی اکسیدانی تام مغز موش‌هایی که در معرض سروصدای شغلی قرار گرفته بودند به میزان  $250/6$  واحد کم‌تر از گروه کنترل بود ( $P < 0/01$ ) (نمودار شماره ۴). هیچ یک از مداخلات درمانی ورزش هوازی یا مصرف بنفوتیامین به تنهایی و همچنین اعمال همزمان مداخلات ورزشی و مکمل‌دهی بنفوتیامین به مدت چهار هفته تاثیر معنی داری بر ظرفیت آنتی اکسیدانی بافت مغز موش‌های در معرض سروصدا نداشتند ( $P > 0/05$ ) (نمودار شماره ۴).

#### گلوکوتاتیون احیا (GSH)

نتایج تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که ( $F(4,2)=15/77$ ) و ( $P < 0/001$ ). مقادیر گلوکوتاتیون احیا به میزان قابل توجهی در گروه نویز ( $97/74$ ) کم‌تر از میزان آن در مقایسه با گروه کنترل ( $144/3$ ) بود ( $P < 0/001$ ) (نمودار شماره ۵). مداخله ورزش هوازی تاثیر معنی داری بر میزان گلوکوتاتیون بافت مغز موش‌های

سروصدا نداشتند ( $P > 0/05$ ). مصرف چهار هفته مکمل بنفوتیامین همراه با تمرینات ورزشی روی ترمیم مقادیر بافتی پروتئین کربونیل حیوانات در معرض سروصدا را تقریباً به نصف مقدار آن در مقایسه با حیوانات گروه نویز کاهش داد ( $P < 0/001$ )، (نمودار شماره ۲).



نمودار شماره ۲: سنجش غلظت پروتئین کربونیل و اثر تمرین و بنفوتیامین

بر سمیت ناشی از سروصدا

BFT: بنفوتیامین

\*\*\*: تفاوت معنی دار با گروه کنترل ( $P < 0/001$ )

\$: تفاوت معنی دار با گروه سروصدای شغلی (نویز) ( $P < 0/05$ )

\$\$: تفاوت معنی دار با گروه سروصدای شغلی (نویز) ( $P < 0/01$ )

\$\$\$ : تفاوت معنی دار با گروه سروصدای شغلی (نویز) ( $P < 0/0001$ )

#### مالون دی آلدئید

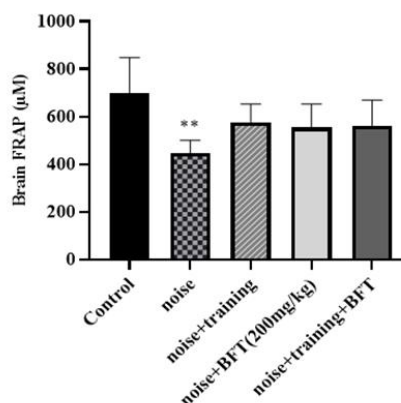
نتایج تجزیه و تحلیل واریانس یک طرفه نشان داد که افزایش معنی دار مقادیر مالون دی آلدئید به میزان تقریبی سه برابر آن در مقایسه با گروه کنترل شد ( $P < 0/001$ ) (نمودار شماره ۳). مصرف چهار هفته مکمل بنفوتیامین با دوز  $200 \text{ mg/kg}$  مقادیر بافتی مالون دی آلدئید موش‌های در معرض سروصدا را به شکل معنی داری در مقایسه با گروه نویز کاهش داد ( $P < 0/05$ ) تمرین هوازی و علاوه بر آن مداخلات درمانی همزمان ورزش و مکمل بر میزان مالون دی آلدئید مغز موش‌های در معرض سروصدا اثر قابل توجهی نداشتند ( $P > 0/05$ )، (نمودار شماره ۳).

## بحث

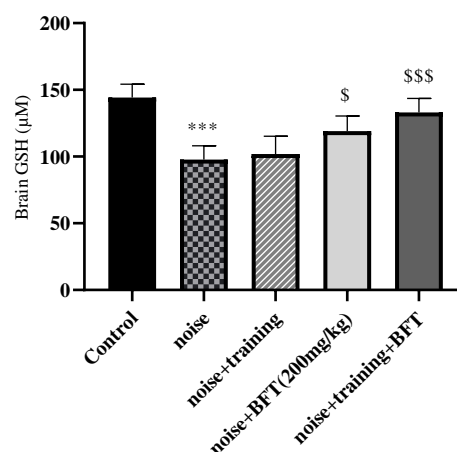
نتایج مطالعه حاضر نشان داد که سروصدای شغلی منجر به اختلال در تمام فاکتورهای مرتبط با استرس اکسیداتیو که در این پژوهش مورد ارزیابی قرار گرفته بودند، می‌شود. به علاوه، مصرف روزانه ۲۰۰ میلی‌گرم بنفوتیامین و هم‌چنین ترکیب درمانی تمرین هوایی با شدت متوسط و مکمل بنفوتیامین با افزایش آنتی‌اکسیدان ضروری گلوکاتایون و کاهش نشانگرهای اکسیداتیو، اثر محافظتی و پیشگیرانه بر آسیب اکسیداتیو ناشی از سروصدای بر مغز موش‌های نر داشته‌اند. باین حال چهار هفته تمرین هوایی منظم با شدت متوسط علی‌رغم مهار ROS تاثیر معنی‌داری بر سایر اختلالات ناشی از سروصدای شغلی بر مغز حیوانات نداشته است.

سروصدای محیطی با افزایش فعالیت سیستم عصبی سمپاتیک می‌تواند سبب تولید بیش از حد هورمون‌های استرس شود (۲۰). ماندگاری و تداوم حضور این هورمون‌ها می‌تواند تولید رادیکال‌های آزاد را افزایش و در مقابل، باعث کاهش سطح آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی بدن شوند (۲۱). پراکسیداسیون لیپیدی عمدتاً بر غشای سلولی تأثیر می‌گذارد، در حالی که آسیب پروتئین می‌تواند عملکرد آنزیم را مختل کند و به ساختار پروتئین آسیب برساند، افزایش سطح مالون دی‌آلدئید و کربونیل‌ها در مغز نشان دهنده آسیب سلولی قابل توجهی است که ممکن است بر عملکرد سلول عصبی تأثیر بگذارد (۲۲). همان‌طور که نتایج مطالعه ما نیز نشان داد، سروصدای شغلی منجر به افزایش سطوح مالون دی‌آلدئید و پروتئین کربونیل به‌عنوان نشانگرهای بروز استرس اکسیداتیو و سمی شدن محیط سلول شد و متقابلاً ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام و هم‌چنین گلوکاتایون به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان ضروری را کاهش داد. برخی مطالعات نشان داده‌اند که بنفوتیامین در شرایطی ممکن است تأثیر قابل توجهی بر کاهش سطح پروتئین کربونیل اعمال شده نداشته باشد اما از طریق مکانیسم‌های دیگر منجر به بهبود وضعیت استرس اکسیداتیو شده باشد. نتایج مطالعه

در معرض سروصدای نداشت ( $P > 0.05$ ). مصرف چهار هفته مکمل بنفوتیامین و هم‌چنین تلفیق بنفوتیامین همراه با تمرینات ورزشی روی تردمیل مقادیر بافتی گلوکاتایون حیوانات در معرض سروصدای را به ترتیب به میزان تقریبی ۲۲ ( $P < 0.05$ ) و ۳۶ ( $P < 0.001$ ) واحد در مقایسه با میزان آن در حیوانات گروه نوینز افزایش داد (نمودار شماره ۵).



نمودار شماره ۴: ارزیابی ظرفیت آنتی‌اکسیدانی تام (FRAP) و اثر تمرین و بنفوتیامین بر سمیت عصبی ناشی از سروصدای بنفوتیامین، \*\*\*: تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ( $P < 0.001$ )؛ تفاوت معنی‌دار با گروه سروصدای شغلی (نوینز) ( $P < 0.05$ )؛ تفاوت معنی‌دار با گروه سروصدای شغلی (نوینز) ( $P < 0.01$ )؛ تفاوت معنی‌دار با گروه سروصدای شغلی (نوینز) ( $P < 0.001$ )



نمودار شماره ۵: ارزیابی گلوکاتایون احیا (GSH) و اثر تمرین و بنفوتیامین بر سمیت عصبی ناشی از سروصدای بنفوتیامین، \*\*\*: تفاوت معنی‌دار با گروه کنترل ( $P < 0.001$ )؛ تفاوت معنی‌دار با گروه سروصدای شغلی (نوینز) ( $P < 0.05$ )؛ تفاوت معنی‌دار با گروه سروصدای شغلی (نوینز) ( $P < 0.01$ )؛ تفاوت معنی‌دار با گروه سروصدای شغلی (نوینز) ( $P < 0.001$ )



Wu و همکاران (۲۰۰۶) نشان داد که بنفوتیامین ممکن است استرس اکسیداتیو مغزی ناشی از دیابت را از طریق مکانیسمی غیر مرتبط با پروتئین کربونیل کاهش دهد (۲۳). Portari و همکاران (۲۰۱۶) به بررسی اثرات مفید درمان با بنفوتیامین در مدل حیوانی مسمومیت حاد با اتانول پرداختند، اگرچه نقش آنتی‌اکسیدانی در پارامترهای پراکسیداسیون لیپیدی برای تیمارهای بنفوتیامین مشاهده شد، اما پارامترهای اکسیداسیون پروتئین سرمی در این مطالعه، بهبود نیافت (۲۴). این موضوع احتمالاً با نوع بروز استرس اکسیداتیو و شدت آسیب اکسیداتیو در بافت و همچنین مسیری که بنفوتیامین منجر به بهبود آسیب اکسیداتیو ایجاد شده می‌پردازد در ارتباط است.

مطالعات پیشین نشان دادند که مکمل بنفوتیامین، با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی از جمله گلوکوتایون و هم‌چنین کاهش تولید رادیکال‌های آزاد و حفاظت از لیپیدهای غشای سلولی، می‌تواند به طور قابل توجهی سطح مالون دی‌آلدئید را کاهش دهد و به طور قابل توجهی منجر به کاهش استرس اکسیداتیو شود (۲۶-۲۴). در چندین مطالعه گزارش شده که مصرف بنفوتیامین به کاهش قابل توجه سطح مالون دی‌آلدئید به‌عنوان نشانه اصلی پراکسیداسیون لیپیدها در بافت‌های مختلف حیوانات از جمله مغز منجر شده است (۲۴۸). هم‌راستا با پژوهش‌های مرتبط با تعیین راهبردهای مقابله با استرس اکسیداتیو، در این مطالعه ما دریافتیم که مکمل بنفوتیامین با دوز ۲۰۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم می‌تواند در محافظت بافت مغز در مقابل اختلال اکسیداتیو ناشی از سروصدای شغلی از طریق کاهش سطوح مالون دی‌آلدئید و افزایش گلوکوتایون در موش‌های نر کمک‌کننده باشد.

یکی از جنبه‌های مهم اثرات ورزش منظم بر بدن، ارتباط بین ورزش و مدیریت استرس اکسیداتیو است، ورزش هوازی منظم و با شدت متوسط از چند مسیر می‌تواند به کاهش و یا پیشگیری از استرس اکسیداتیو کمک کند (۲۸، ۲۷). ورزش هوازی می‌تواند از طریق

کنترل هورمونی از جمله کاهش سطوح هورمون‌های استرس مانند کورتیزول، بهبود متابولیسم، تحریک سیستم ایمنی و یا کاهش التهاب مزمن در بافت‌ها به دفع استرس اکسیداتیو کمک کند (۲۹). نشان داده شده است که ورزش منظم می‌تواند باعث افزایش تولید آنتی‌اکسیدان‌های داخلی، پروتئین‌های تیولی بدن مانند گلوکوتایون و هم‌چنین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شود و از این طریق از تولید رادیکال‌های آزاد و از آسیب‌های ناشی از آن‌ها جلوگیری کند (۳۰، ۲۷). با این حال، سازگاری اولیه با پاسخ تمرین می‌تواند اثرات متفاوتی بر سلول‌ها از جمله افزایش تشکیل اکسیدان‌ها و واسطه‌های التهابی داشته باشد، اما این سناریو به نوع تمرین و شدت و وضعیت تمرین افراد بستگی دارد (۳۱). در هفته‌های اولیه شروع یک برنامه تمرینی با شدت متوسط، ممکن است افزایش موقت در تولید رادیکال‌های آزاد مشاهده شود، افزایش تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نیز در این مرحله از تمرین آغاز می‌شود، اما ممکن است به سطح مطلوب نرسیده باشند (۳۱، ۳۲). در واقع با گذشت چندین هفته از تمرین منظم، بدن به تدریج با برنامه تمرینی سازگار شده، با بهبود عملکرد میتوکندری، کاهش التهاب و سازگاری قلبی-عروقی، تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی افزایش و رادیکال‌های آزاد کاهش می‌یابند، در ادامه کاهش استرس اکسیداتیو مشاهده می‌شود (۳۲). مدت زمان سازگاری با تمرین و کاهش استرس اکسیداتیو با عوامل مختلفی از جمله شدت و نوع تمرین، وضعیت جسمانی اولیه، سن و جنسیت مرتبط است (۳۳). اثرات ضد اکسیداتیو ورزش هوازی بر متابولیسم مغز و ساختار مغز ممکن است با تغییرات فاکتور نوروتروفیک مشتق از مغز نوروتروفین (BDNF) مرتبط باشد (۳۳). برای درک سازگاری مغز با ورزش هوازی ارزیابی این فاکتور در مطالعات آینده پیشنهاد می‌شود. چندین پژوهش نشان داده‌اند که تمرینات هوازی و تمرین با شدت متوسط می‌تواند در بازه زمانی بیش از شش هفته باعث تغییرات قابل توجهی در سطح مارکرهای استرس اکسیداتیو و بهبود

عملکرد سیستم آنتی اکسیدانی در بافت شود (۲۹، ۳۷-۳۴). نتایج یک پژوهش نشان داد ورزش هوازی کم شدت به مدت چهار هفته توانست استرس اکسیداتیو را در موش های مبتلا به بیماری مزمن انسدادی ریه کاهش دهد (۲۸). بنابراین، با توجه به این که در پژوهش ما انجام چهار هفته برنامه تمرین هوازی با شدت متوسط برای موش ها در نظر گرفته شده بود و در پایان منجر به تغییرات معنی دار در فاکتورهای مورد ارزیابی نشد، ممکن است بازه زمانی تعیین شده برای رسیدن به سازگاری کافی نبوده باشد و یا شدت و نوع تمرین ورزشی که در این مطالعه به کار گرفته بودیم تاثیرگذاری مناسب در مقابل استرس اکسیداتیو القا شده با سروصدای شغلی را نداشته باشد. از نگاهی دیگر، احتمال دارد این نوع ورزش از مسیر سیگنالینگ یا مکانیسم دیگری بر مهار ROS بافت مغز اثرگذار باشد که به علت محدودیت های پژوهش حاضر مورد بررسی قرار نگرفته اند. نتیجه گیری در مورد تاثیر این نوع تمرین در این بازه زمانی با توجه به عوامل موثر بر سازگاری تمرینی نیاز به بررسی بیش تری دارد. استمرار در تمرین و استفاده از مکمل های آنتی اکسیدانی می تواند فرآیند بهبود استرس اکسیداتیو را تسریع کند و نتایج بهتری به همراه داشته باشد. برخی مطالعات که به بررسی افراد با شرایط سلامتی مختلف پرداخته اند نشان دادند که ترکیب تمرین هوازی با شدت متوسط و استفاده از مکمل های آنتی اکسیدانی می توانند به بهبود وضعیت استرس اکسیداتیو ایجاد شده در مواجهه با عوامل مختلف کمک کنند (۳۶، ۳۸). نتایج مطالعه ای که در جهت بررسی افراد بزرگسال انجام شد نشان داد که ترکیب تمرین هوازی و مصرف مکمل های ویتامین C و E منجر به کاهش نشانگرهای استرس اکسیداتیو شد (۳۹). در پژوهشی بر موش های مدل پیر، دویدن روی تردمیل با شدت متوسط و مکمل آل آرژنین از طریق سرکوب قوی استرس اکسیداتیو از قلب در برابر از دست دادن میوسیت و تشکیل فیروز محافظت کرد (۴۰). احتمالاً به دلیل افزایش هم افزایی تمرین و مکمل بنفوتیامین، این دو

می تواند اثرات مثبت یکدیگر را تقویت و به بهبود عملکرد سلولی کمک کنند (۴۱)، در واقع اثر آنتی اکسیدانی بنفوتیامین می تواند منجر به رفع استرس اکسیداتیو القا شده در ابتدای تمرینات ورزشی و تقویت ویژگی های آنتی اکسیدانی آن شود (۴۲).

یافته های این پژوهش نشان می دهد که بنفوتیامین و ترکیب آن با تمرینات هوازی دارای پتانسیل آنتی اکسیدانی هستند. نتایج مطالعه ما نشان می دهند گروهی از موش ها که همزمان با تمرینات ورزشی از مکمل بنفوتیامین استفاده کردند، سطوح بالاتری از گلو تاتیون را در مغز خود نشان دادند. این یافته ها تأیید می کند که این ترکیب می تواند به افزایش غلظت تیول ها در مغز موش های در معرض سروصدا کمک کند و احتمالاً با افزایش این آنتی اکسیدان غیر آنزیمی، به دفع رادیکال های آزاد ناشی از سروصدا کمک می کند. گلو تاتیون به عنوان جزء اصلی تیول ها، به استفاده و بازیافت آن در حین ورزش وابسته است (۲۵). ترکیب بنفوتیامین و تمرین با شدت متوسط بر بهبود استرس اکسیداتیو ناشی از سروصدای شغلی تأثیرگذار بود، که این ممکن است به دلیل هم افزایی بین تمرین و مکمل و تقویت خواص آنتی اکسیدانی باشد. استرس اکسیداتیو می تواند به واسطه عوامل مختلف و از طریق مکانیسم های گوناگون بروز کند و بر نشانگرهای اکسیداتیو تأثیر بگذارد. به نظر می رسد که ترکیب بنفوتیامین و تمرین می تواند بر برخی از این مکانیسم ها تسلط یابد و در نتیجه به بهبود نشانگرهایی مانند گلو تاتیون کمک کند. استرس اکسیداتیو می تواند با توجه به عامل ایجاد آن از طریق مکانیسم های مختلفی بروز یابد و نشانگرهای اکسیداتیو مختلفی را تحت تأثیر قرار دهد (۴۳).

یافته های این مطالعه نشان می دهد که ترکیب تمرین هوازی با شدت متوسط و بنفوتیامین می تواند با افزایش سطوح گلو تاتیون، به عنوان یک استراتژی مؤثر برای کاهش سمیت عصبی ناشی از نویز در بافت مغز موش ها عمل کند. هم چنین، نتایج نشان می دهد که

سازگاری مغز با ورزش هوازی ارزیابی فاکتور BDNF در مطالعات آینده پیشنهاد می‌شود. هم‌چنین پیشنهاد می‌شود که مطالعات آینده به بررسی اثرات طولانی‌مدت مصرف بنفوتیامین و تمرینات ورزشی منظم بر روی عملکرد شناختی مغز بپردازند. این اطلاعات می‌تواند به ارائه راهکارهای مؤثر برای پیشگیری از بیماری‌های مرتبط با سمیت عصبی و استرس اکسیداتیو از جمله آلزایمر کمک کند.

### سپاسگزاری

این مقاله، حاصل پایان‌نامه رشته فیزیولوژی ورزشی مقطع دکتری خانم حدیثه عبدی زیاری با کد اخلاق: IR.UMZ.REC.1402.042 از دانشگاه مازندران است. نویسندگان مراتب تشکر و سپاسگزاری خود را از مسوولین و هم‌چنین کارکنان واحدهای دانشگاه مازندران دخیل در انجام این پروژه اعلام می‌دارند.

### References

1. Yang S, Fu Y, Dong S, Yang B, Li Z, Feng C, et al. Association between perceived noise at work and mental health among employed adults in Southwest China. *J Affect Disord* 2023; 343: 22-30. PMID: 37739020.
2. Hahad O, Jimenez MTB, Kuntic M, Frenis K, Steven S, Daiber A, et al. Cerebral consequences of environmental noise exposure. *Environ Int* 2022; 165: 107306. PMID: 35635962.
3. Daiber A, Kröller-Schön S, Oelze M, Hahad O, Li H, Schulz R, et al. Oxidative stress and inflammation contribute to traffic noise-induced vascular and cerebral dysfunction via uncoupling of nitric oxide synthases. *Redox Biol* 2020; 34: 101506 PMID: 32371009.
4. Shastak Y, Gordillo A, Pelletier W. The relationship between vitamin A status and oxidative stress in animal production. *J Appl Anim Res* 2023; 51(1): 546-553.
5. Santos de Lima K, Schuch FB, Camponogara Righi N, Chagas P, Hemann Lamberti M, Puntel GO, et al. Effects of the combination of vitamins C and E supplementation on oxidative stress, inflammation, muscle soreness, and muscle strength following acute physical exercise: meta-analyses of randomized controlled trials. *Crit Rev Food Sci Nutr* 2023; 63(25): 7584-7597.
6. Foret MK, Orciani C, Welikovitch LA, Huang C, Cuello AC, Do Carmo S. Early oxidative stress and DNA damage in A $\beta$ -burdened hippocampal neurons in an Alzheimer's-like transgenic rat model. *Commun Biol* 2024; 7(1): 861 PMID: 39004677.
7. Wang K, Chen X. Protective effect of flavonoids on oxidative stress injury in Alzheimer's disease. *Nat Prod Res* 2024: 1-28. PMID: 38910339.

8. Bashir B, Mittal S, Muthukumar A, Vishwas S, Pandey N K, Gulati M, et al. Harnessing the neuroprotective effect of oral administration of benfotiamine in MPTP induced Parkinson's disease in rats. *Eur J Pharmacol* 2024; 962: 176234 PMID: 38043777.
9. Sambon M, Wins P, Bettendorff L. Neuroprotective effects of thiamine and precursors with higher bioavailability: focus on benfotiamine and dibenzoylthiamine. *Int J Mol Sci* 2021; 22(11): 5418.
10. Vafadar Ghasemi L, Behnam Rassouli M, Matin MM, Mahdavi-Shahri N. Benfotiamine reduced collagen IV contents of sciatic nerve in hyperglycemic rats. *J Diabetes Metab Disord* 2021; 20(1): 21-30. PMID: 34222057.
11. Pranoto A, Rejeki PS, Miftahussurur M, Setiawan HK, Yosika GF, Munir M, et al. Single 30 min treadmill exercise session suppresses the production of pro-inflammatory cytokines and oxidative stress in obese female adolescents. *J Basic Clin Physiol Pharmacol* 2023; 34(2): 235-242. PMID: 36804995.
12. Ávila RA, Rossi EM, de Carvalho GM, Krause M, Leopoldo AS, Carneiro MTWD, et al. Moderate- intensity aerobic training reduces cardiac damage attributable to experimental iron overload in rats. *Exp Physiol* 2021; 106(8): 1772-1784. PMID: 34148259.
13. Zarrindast S, Ramezanpour MR, Moghaddam MG. Effects of eight weeks of moderate intensity aerobic training and training in water on DNA damage, lipid peroxidation and total antioxidant capacity in sixty years sedentary women. *SCI Sport* 2021; 36(3): e81-e85.
14. Alves R, Suehiro CL, Oliveira FG, Frantz EDC, Medeiros RF, Vieira RP, et al. Aerobic exercise modulates cardiac NAD (P) H oxidase and the NRF2/KEAP1 pathway in a mouse model of chronic fructose consumption. *J Appl Physiol* 2020; 128(1): 59-69. PMID: 31647720.
15. Peng X, Mao Y, Tai Y, Luo B, Dai Q, Wang X, et al. Characterization of anxiety-like behaviors and neural circuitry following chronic moderate noise exposure in mice. *EHP* 2023; 131(10): 107004.
16. Chung K M, Kang W, Kim DG, Hong HJ, Lee Y, Han CH. Anti-diabetic effects of benfotiamine on an animal model of type 2 diabetes mellitus. *Korean J Vet Res* 2014; 54(1): 21-26.
17. Zeng B, Zhao G, Liu HL. The differential effect of treadmill exercise intensity on hippocampal soluble A $\beta$  and lipid metabolism in APP/PS1 mice. *Neuroscience* 2020; 430: 73-81. PMID: 31954827.
18. Ebrahimi M, Ahangar N, Zamani E, Shaki F. L-Carnitine Prevents Behavioural Alterations in Ketamine-Induced Schizophrenia in Mice: Possible Involvement of Oxidative Stress and Inflammation Pathways. *J Toxicol* 2023; 2023(1): 9093231. PMID: 37363159.
19. Arabnozari H, Shaki F, Najjari A, Sharifianjazi F, Sarker SD, Habibi E, et al. The effect of Polygonum hyrcanicum Rech. f. hydroalcoholic extract on oxidative stress and nephropathy in alloxan-induced diabetic mice. *Sci Rep* 2024; 14(1): 18117.
20. El-Tahan RA, Assem NM, Yakout HA, Mina BF. Stress Response of Neurotransmitters and Micro-RNAs 34c and 7a in Serum and Hypothalamus of Rats after Exposure to Different Powers of Noise. *Journal of the Medical Research Institute* 2023; 44(2): 42-50.
21. Noushad S, Ahmed S, Ansari B, Mustafa UH, Saleem Y, Hazrat H. Physiological biomarkers of chronic stress: A systematic review. *Int J Health Sci* 2021; 15(5): 46-59. PMID: 34548863.

22. Anderson EJ, Katunga LA, Willis MS. Mitochondria as a source and target of lipid peroxidation products in healthy and diseased heart. *Clin Exp Pharmacol Physiol* 2012; 39(2): 179-193. PMID: 22066679.
23. Wu S, Ren J. Benfotiamine alleviates diabetes-induced cerebral oxidative damage independent of advanced glycation end-product, tissue factor and TNF- $\alpha$ . *Neurosci Lett* 2006; 394(2): 158-162. PMID: 16260089.
24. Portari GV, Ovidio PP, Deminice R, Jordão Jr AA. Protective effect of treatment with thiamine or benfotiamine on liver oxidative damage in rat model of acute ethanol intoxication. *Life Sci* 2016; 162: 21-24. PMID: 27545821.
25. De Carvalho Gonçalves Á, Moreira EJS, Portari GV. Benfotiamine supplementation prevents oxidative stress in anterior tibialis muscle and heart. *J Integr Med* 2019; 17(6): 423-429. PMID: 31395444.
26. Ye Y, Lin H, Wan M, Qiu P, Xia R, He J, et al. The effects of aerobic exercise on oxidative stress in older adults: A systematic review and meta-analysis. *Front Physiol* 2021; 12: 701151. PMID: 34675813.
27. Wang X, Wang Z, Tang D. Aerobic exercise alleviates inflammation, oxidative stress, and apoptosis in mice with chronic obstructive pulmonary disease. *Int J Chron Obstruct Pulmon Dis* 2021; 16: 1369-1379. PMID: 34040365.
28. Gerber M, Imboden C, Beck J, Brand S, Colledge F, Eckert A, et al. Effects of aerobic exercise on cortisol stress reactivity in response to the trier social stress test in inpatients with major depressive disorders: a randomized controlled trial. *J Clin Med* 2020; 9(5): 1419. PMID: 32403243.
29. Fernandes MSdS, Silva LdLdSe, Kubrusly MS, Lima TRLdA, Muller CR, Américo AL V, et al. Aerobic exercise training exerts beneficial effects upon oxidative metabolism and non-enzymatic antioxidant defense in the liver of leptin deficiency mice. *Front Endocrinol* 2020; 11: 588502. PMID: 33329394.
30. Thirupathi A, Wang M, Lin JK, Fekete G, István B, Baker JS, et al. Effect of different exercise modalities on oxidative stress: A systematic review. *Biomed Res Int* 2021; 2021: 1947928. PMID: 33628774.
31. Thirupathi A, Pinho RA, Ugbohue UC, He Y, Meng Y, Gu Y. Effect of running exercise on oxidative stress biomarkers: a systematic review. *Front Physiol* 2021; 11: 610112. PMID: 33551836.
32. McGee SL, Hargreaves M. Exercise adaptations: molecular mechanisms and potential targets for therapeutic benefit. *Nat Rev Endocrinol* 2020; 16(9): 495-505. PMID: 32632275.
33. Choi JW, Jo SW, Kim DE, Paik IY, Balakrishnan R. Aerobic exercise attenuates LPS-induced cognitive dysfunction by reducing oxidative stress, glial activation, and neuroinflammation. *Redox Biol* 2024; 71: 103101. PMID: 38408409.
34. Wu F, Li Z, Cai M, Xi Y, Xu Z, Zhang Z, et al. Aerobic exercise alleviates oxidative stress-induced apoptosis in kidneys of myocardial infarction mice by inhibiting ALCAT1 and activating FNDC5/Irisin signaling pathway. *Free Radic Biol Med* 2020; 158: 171-180. PMID: 32726688.
35. Headley SA, Chapman DJ, Germain MJ, Evans EE, Hutchinson J, Madsen KL, et al. The effects of 16-weeks of prebiotic supplementation and aerobic exercise training on inflammatory markers, oxidative stress, uremic toxins, and the microbiota in pre-dialysis kidney patients: a randomized controlled trial-protocol paper. *BMC Nephrol* 2020; 21(1): 517. PMID: 33243160.

36. Gutiérrez-López L, Olivares-Corichi IM, Martínez-Arellanes LY, Mejía-Muñoz E, Polanco-Fierro JA, García-Sánchez JR. A moderate intensity exercise program improves physical function and oxidative damage in older women with and without sarcopenic obesity. *Exp Gerontol* 2021; 150: 111360. PMID: 33878422.
37. Arazi H, Eghbali E, Suzuki K. Creatine supplementation, physical exercise and oxidative stress markers: a review of the mechanisms and effectiveness. *Nutrients* 2021; 13(3): 869. PMID: 33800880.
38. Bouzid MA, Hammouda O, Matran R, Robin S, Fabre C. Low intensity aerobic exercise and oxidative stress markers in older adults. *JAPA* 2014; 22(4): 536-542. PMID: 24226272.
39. Ghazizadeh Darband S, Sadighparvar S, Yousefi B, Kaviani M, Mobaraki K, Majidinia M. Combination of exercise training and L-arginine reverses aging process through suppression of oxidative stress, inflammation, and apoptosis in the rat heart. *Pflugers Arch* 2020; 472(2): 169-178. PMID: 31624955.
40. Ghasemi E, Afzalpour ME, Nayebifar S. Combined high-intensity interval training and green tea supplementation enhance metabolic and antioxidant status in response to acute exercise in overweight women. *J Physiol Sci* 2020; 70(1): 31. PMID: 32586268.
41. Kruk J, Aboul-Enein BH, Duchnik E, Marchlewicz M. Antioxidative properties of phenolic compounds and their effect on oxidative stress induced by severe physical exercise. *J Physiol Sci* 2022; 72(1): 19. PMID: 35931969.
42. Puppel K, Kapusta A, Kuczyńska B. The etiology of oxidative stress in the various species of animals, a review. *J Sci Food Agric* 2015; 95(11): 2179-2184. PMID: 25418967.