

ORIGINAL RESEARCH PAPER

Effects of Noise and Aluminum Co-Exposure on Behavioral and Cognitive Indices and Biomarkers in a Wistar Rat Model

Jamal Biganeh¹, Seyed Abolfazl Zakerian¹, Mohammad Reza Monazzam Esmaeelpour¹, Shima Mohammadi², Ahmad Khosravi³, Seyed Jamaledin Shahtaheri^{1,4*}

¹Department of Occupational Health Engineering, School of Public Health, Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran

²Department of Neuroscience, School of Medicine, Shahrood University of Medical Sciences, Shahrood, Iran.

³Department of Epidemiology, School of Public Health, Shahrood University of Medical Sciences, Shahrood, Iran

⁴Center for Water Quality Research (CWQR), Institute for Environmental Research (IER), Tehran University of Medical Sciences (TUMS), Tehran, Iran.

Received: 15-10-2025

Accepted: 12-4-2026

ABSTRACT

Introduction: Combined exposures, such as noise and aluminum exposure, are present in many occupational workplaces. Nevertheless, the neurocognitive effects resulting from this co-exposure have been scarcely investigated. The present study aimed to determine the effects of noise and aluminum co-exposure on behavioral and cognitive indices and biomarkers in a Wistar rat model.

Material and Methods: This experimental study investigated 20 adult male Wistar rats over a period of 45 days, divided into four groups: 1. Control group (no exposure), 2. Noise exposure group (95 dB, 4 hours daily), 3. Aluminum chloride exposure group (10 mg/kg, daily intraperitoneal injection), and 4. Combined noise and aluminum exposure group (a combination of Group 2 and Group 3). Spatial memory performance was assessed using the Morris Water Maze test. The serum concentrations of total tau protein and beta-amyloid 42 were measured in blood samples using the ELISA method. Data were analyzed using SPSS software, version 27.

Results: Behavioral test results indicated that the control group spent the least time searching for the platform. Exposure to aluminum and the combination of noise + aluminum led to a significant decrease in cognitive performance. Furthermore, serum levels of tau protein and beta-amyloid were significantly increased in all exposed groups ($p < 0.01$), and a strong positive correlation was observed between these two biomarkers ($r = 0.70$, $p < 0.001$).

Conclusion: Findings demonstrated concurrent noise and aluminum exposure can synergistically impact cognitive performance and neurodegenerative biomarkers. These alterations likely occur through shared mechanisms such as oxidative stress, neuroinflammation, and disruption of protein homeostasis. Increased tau and amyloid, coupled with memory decline, underscore this combined role in worsening neurodegeneration. These results suggest monitoring combined exposure and using blood biomarkers for early cognitive assessment.

Keywords: Noise, Aluminum, Combined exposure, Cognitive function, Tau protein, Beta-amyloid.

HOW TO CITE THIS ARTICLE

Biganeh J, Zakerian S.A., Monazzam Esmaeelpour M.R., Mohammadi Sh., Khosravi A., Shahtaheri S.J. Effects of Noise and Aluminum Co-Exposure on Behavioral and Cognitive Indices and Biomarkers in a Wistar Rat Model. *J Health Saf Work*. 2026; 16(1): 80-98.

* Corresponding Author Email: shahtaheri@tums.ac.ir

1. INTRODUCTION

In industrial environments, workers are usually exposed to physical and chemical harmful agents. Each of these, alone or combined, can threaten people's physical and mental health. Noise is one of the most common factors. It not only causes hearing disorders but also non-hearing effects. These non-hearing effects happen through biological ways like increased oxidative stress, neuronal destruction, amyloid plaque formation, and neurofibrillary tangle creation. Besides this physical agent, aluminum is a widely used metal in industries such as foundry, metal production and aerospace, and at the same time, it is considered one of the potentially harmful agents in working environments. Even though the exact way aluminum causes neurotoxicity is not fully clear, research confirms that this element impacts the neuro-cognitive system. In recent years, worries about aluminum's damaging effects on cognitive processes have grown, and many studies link it to memory and learning problems (cognitive disorders).

From an occupational health view, cognitive disorder is an important result of neurological damage. It affects abilities like learning, memory, and perception. Cognitive decline not only reduces quality of life, but also directly impairs individual productivity and workplace safety, and increases the likelihood of errors and accidents.

Studies have shown that Mild Cognitive Impairment (MCI) might appear years before clinical dementia symptoms. Therefore, early detection of these changes using biomarkers is vital for prevention and intervention. In this regard, two biomarkers, tau protein and beta-amyloid, are among the most widely used biomarkers in this field, both of which play key roles in microtubule stability and synaptic transmission.

Although there is good information about the separate effects of noise and aluminum, a significant but less studied feature in industrial environments is simultaneous exposure to multiple harmful agents (Co-Exposure). Workers in metal smelting industries usually face co-exposure to both noise and aluminum fumes or particles. These simultaneous exposures might worsen the effects of each agent and increase the risk of neurocognitive impairment. However, a review of existing studies shows that most research has looked at the effects of noise and aluminum separately. Systematic data about the synergistic or interaction effects of these

two factors on cognitive functions and related molecular pathways is very limited. Especially in animal models like the Wistar rat, very few studies have checked the combined effects of these exposures on behavioral and biological indicators. This scientific gap stops us from creating effective preventive strategies in industries. Therefore, this research was designed to check the effects of co-exposure to noise and aluminum on behavioral/cognitive indicators and markers in a Wistar rat animal model, to give a better understanding of the possible synergistic effects of these two factors.

2. MATERIAL AND METHODS

Study Design

This experimental study was conducted on 20 adult male Wistar rats weighing 200–250 grams and aged over 8 weeks. All animals were maintained under controlled temperature (20–25°C), humidity (40–70%), 12-hour light/dark cycles, adequate ventilation, free access to food and water, and background noise below 50 dB for non-noise groups. All procedures adhered to the guidelines for laboratory animals and were approved by the Ethics Committee of Tehran University of Medical Sciences (IR.TUMS.AEC.1404.002) in accordance with the Helsinki Declaration.

Experimental Procedure

The study consisted of four primary stages:

1. Exposure to Harmful Agents for 45 Days:

a) Noise Exposure: Rats were subjected to 95 dB white noise for 4 hours per day via four overhead speakers in soundproof chambers measuring 50×60 cm, equipped with ventilation and 20×30 cm doors.

b) Aluminum Exposure: Rats received daily intraperitoneal injections of 10 mg/kg aluminum chloride (AlCl₃) dissolved in saline.

c) Combined Exposure: Rats received simultaneous noise and aluminum exposure.

d) Control Group: No exposure or intervention.

2. Cognitive Testing: Spatial memory was assessed using the Morris Water Maze (MWM). The circular pool (120–200 cm diameter, 25–30 cm depth, 25±2°C) contained a hidden platform submerged 1–5 cm below the surface. Rats underwent four daily trials for five consecutive days. A 60-second probe trial was conducted one day post-training.

3. Blood Sampling: One day after exposure, rats were anesthetized with ketamine (100 mg/kg)

and xylazine (10 mg/kg), and 5 mL of blood was collected from the heart. Serum was separated and stored at -20°C.

4. Biomarker Analysis: Serum total Tau protein (t-Tau) and Beta-amyloid 42 (A β 1-42) levels were measured using ELISA kits (ZellBio GmbH, Germany) following the double-antibody sandwich protocol with biotin-streptavidin-HRP detection.

Statistical Analysis

Data were expressed as mean \pm standard deviation. Repeated-measures ANOVA evaluated cognitive performance over days, with Bonferroni post hoc test for group comparisons. Pearson correlation assessed associations between t-Tau and A β 1-42. Graphs were generated using GraphPad Prism 9 and heatmaps via Python 3.8. Statistical analyses were performed using SPSS v27 at a significance level of 0.05.

3. RESULTS AND DISCUSSION

Cognitive Testing (Morris Water Maze)

The results indicated a significant improvement in animal performance over four consecutive days (Row factor: P-Value < 0.001). Furthermore, a significant difference was observed between the groups (P-Value = 0.03). Conversely, the interaction between day and group was not significant (P-Value = 0.07), suggesting that the pattern of learning changes across days was similar among the different treatment groups.

The statistical test results demonstrated a significant difference in the time spent in the hidden platform zone between the AL and AL+Noise groups when compared to the Control group (F(df1, df2) = 11.88, P < 0.001)

Biomarker Analysis

Serum t-Tau concentrations were significantly elevated in all exposure groups compared to controls (ANOVA F=24.877, P<0.01). A β 1-42 levels were similarly increased in exposed groups (ANOVA F=25.014, P<0.01). Pearson correlation demonstrated a strong positive association between t-Tau and A β 1-42 (r=0.708, p<0.001).

4. DISCUSSION

The present study investigated the effects of simultaneous exposure to noise and aluminum on cognitive performance and neurodegenerative biomarkers in male Wistar rats. The findings showed that body weight changes were significant only in

the aluminum-exposed group, which is consistent with previous studies suggesting that aluminum may induce weight loss through mechanisms such as oxidative stress, inflammation, and metabolic disturbances.

In the behavioral section, the results indicated that the overall learning trend across all groups over the four-day training period was statistically significant. Also, statistical analysis revealed that the pattern of changes across days differed significantly among the groups. Specifically, on day one, the control group differed significantly from the Noise and Noise+AL groups; on day three, from the AL group; and on day four, from the Noise+AL group. Baghban et al. reported differences between the aluminum-exposed group and the control group on all days, while Qin et al. examining different aluminum concentrations, observed a significantly altered learning trajectory compared to the control group. These findings suggest that exposure to aluminum and noise can influence learning and memory processes.

Analysis of the time spent in the target quadrant (quadrant 4) further confirmed the effects of the exposures. The control group spent more time in this quadrant, indicating better acquisition of the hidden platform location. In contrast, the AL and Noise+AL groups exhibited a significant reduction in time spent in the target quadrant (P-values of 0.023 and 0.011, respectively). Although the Noise-only group did not show a significant difference compared to controls, multiple human and animal studies, including the research by Ma et al. (2024), have shown that chronic noise exposure can induce Alzheimer-like changes in the hippocampus and impair spatial memory. In our study, the absence of a significant effect of noise alone does not necessarily indicate a lack of impact; it may be due to insufficient intensity or duration of exposure, variability in animal sensitivity, or compensatory mechanisms in the brain.

Also, the simultaneous effects of noise and aluminum exposure have not been extensively investigated. Nevertheless, consistent with the findings of the present study, Baghban et al. as well as El-Ganainy and colleagues reported that aluminum-exposed groups spent less time in the target quadrant. These results highlight the detrimental impact of aluminum on spatial memory and learning and suggest that while noise alone may not significantly alter learning and memory variables, its combination with a chemical

stressor like aluminum can exacerbate cognitive impairments.

The ANOVA results demonstrated that total Tau (t-Tau) levels were significantly higher in all three exposure groups compared to the control group. This finding is consistent with previous studies by Al-Bishri, Zhang, and Dey, which have all reported elevated Tau or phosphorylated Tau following aluminum exposure. Similarly, A β 42 levels were also increased across all exposure groups, matching the findings reported by Zhang, Al-Bishri, Dey, and Promyo. Evidence suggests that aluminum contributes to the accumulation of A β leading to the formation of neurotoxic plaques, likely by upregulating BACE1 and decreasing clearance mechanisms. Ultimately, our findings which include elevated Tau and A β alongside cognitive decline are in agreement with the results from studies by Liu (in rats) and Zawilla and Mohammed (in humans), which confirm the role of aluminum in inducing neurodegenerative changes.

From a mechanistic perspective, several pathways might explain the neurotoxic effects that arise when noise and aluminum exposure occur simultaneously. Firstly, oxidative stress stands out as a primary mechanism. Both noise and aluminum are known to crank up the production of Reactive Oxygen Species (ROS), which subsequently damages DNA, proteins, and cell membranes, ultimately derailing normal neuronal function. Another crucial factor is neuroinflammation. When microglia become activated in the presence of these stressors, they release pro-inflammatory cytokines such as IL-1 β and TNF- α which directly lead to neuronal damage and cognitive deficits.

The findings of this research can be helpful in establishing foundations for occupational monitoring. The adverse effects stemming from the simultaneous exposure to two common environmental factors in industrial settings (noise

and aluminum exposure) on cognitive function can lead to the necessity of reviewing occupational safety standards and protocols.

5. CONCLUSIONS

This study revealed that the simultaneous exposure to noise and aluminum can have synergistic effects on cognitive function and neurodegenerative biomarkers. The significant increase observed in Tau and beta-amyloid protein levels, coupled with diminished performance in spatial memory and learning tasks, clearly indicates the crucial role these combined exposures play in exacerbating neurodegenerative processes. The findings further suggest that even factors that do not induce significant changes on their own—such as noise in this specific study—can exhibit synergistic effects when present alongside a chemical agent like aluminum. Moreover, monitoring blood biomarkers stands out as a simple, cost-effective, and practical method that could prove valuable for the early detection of cognitive impairments arising from occupational exposures

6. ACKNOWLEDGMENT

We sincerely extend our gratitude to Shahrood University of Medical Sciences, especially the Office of Research, for their invaluable support and collaboration in the completion of this thesis.

7. ETHICAL CODE

This study was conducted as part of a research project approved by the Ethics Committee of Tehran University of Medical Sciences (IR.TUMS.AEC.1404.002).

7. FUNDING

The Tehran University of Medical Sciences, Tehran, Iran, provided support for this study under grant number 90127.

بررسی تاثیر مواجهه توأم صدا و آلومینیوم بر شاخص‌ها و نشانگرهای رفتاری/شناختی

در مدل رت ویستار

جمال بیگانه^۱، سیدابوالفضل ذاکریان^۱، محمدرضا منظم اسمعیل پور^۱، شیما محمدی^۲، احمد خسروی^۳،

سیدجمال‌الدین شاه‌طاهری^{۴*}

^۱گروه مهندسی بهداشت حرفه‌ای، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران.
^۲گروه علوم اعصاب، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران.
^۳گروه اپیدمیولوژی، دانشکده بهداشت، دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، شاهرود، ایران.
^۴مرکز تحقیقات کیفیت آب، پژوهشکده محیط زیست، دانشگاه علوم پزشکی تهران، تهران، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۷/۲۳، تاریخ پذیرش: ۱۴۰۵/۱/۲۳

چکیده

مقدمه: در بسیاری از محیط‌های شغلی مواجهات ترکیبی مانند مواجهه توأم صدا و آلومینیوم وجود دارند. با این وجود آثار عصبی-شناختی ناشی از این مواجهه توأم کمتر بررسی شده است. هدف مطالعه حاضر تعیین تأثیر مواجهه توأم صدا و آلومینیوم بر شاخص‌ها و نشانگرهای رفتاری/شناختی در مدل حیوانی رت ویستار بود.

روش کار: در این پژوهش تجربی، ۲۰ رت نر بالغ ویستار در چهار گروه بمدت ۴۵ روز مورد مطالعه قرار گرفتند. ۱. گروه کنترل (بدون مواجهه)، ۲. گروه مواجهه با صدا (۹۵ دسی‌بل، ۴ ساعت روزانه)، ۳. گروه مواجهه با کلرید آلومینیوم (۱۰ mg/kg) تزریق درون صفاقی، روزانه) و ۴. گروه مواجهه همزمان صدا و آلومینیوم (ترکیب گروه ۲ و ۳). پس از دوره مواجهه، عملکرد حافظه فضایی با آزمون ماز آبی موریس ارزیابی شد و غلظت سرمی پروتئین تاو تام (t-tau) و بتا آمیلوئید ۴۲ (Aβ1-42) با روش ELISA در خون اندازه‌گیری گردید. داده‌ها با نرم افزار SPSS ورژن ۲۷ تحلیل شدند.

یافته‌ها: نتایج آزمون رفتاری نشان داد که گروه کنترل کمترین زمان را صرف یافتن سکو داشتند. مواجهه با آلومینیوم و ترکیب صدا + آلومینیوم موجب کاهش معنادار در عملکرد شناختی گردید. همچنین، سطوح سرمی پروتئین تاو و بتا آمیلوئید در تمام گروه‌های مواجهه یافته بطور معناداری افزایش یافت ($p < 0.01$) و همبستگی مثبت قوی بین این دو بیومارکر مشاهده شد ($r = 0.70, p < 0.01$).

نتیجه‌گیری: یافته‌ها نشان دادند که مواجهه همزمان با صدا و آلومینیوم می‌تواند اثرات ترکیبی بر عملکرد شناختی و بیومارکرهای نورودژنراتیو داشته باشد. این تغییرات احتمالاً از طریق مکانیسم‌های مشترکی چون استرس اکسیداتیو، التهاب عصبی و اختلال در هموستاز پروتئینی رخ می‌دهد. افزایش معنادار سطوح پروتئین تاو و بتا آمیلوئید همراه با افت عملکرد حافظه، بر نقش مهم این مواجهات ترکیبی در تشدید فرآیندهای نورودژنراتیو تأکید دارد. این نتایج بر اهمیت پایش ترکیبی مواجهات شغلی و استفاده از بیومارکرهای خونی برای ارزیابی زودهنگام عملکرد شناختی دلالت دارند.

کلمات کلیدی: صدا، آلومینیوم، مواجهه همزمان، عملکرد شناختی، تاو پروتئین، بتا آمیلوئید

مقدمه

در محیط‌های صنعتی، کارگران معمولاً در معرض عوامل زیان‌آور فیزیکی و شیمیایی قرار دارند که هر یک به تنهایی یا به صورت ترکیبی می‌توانند سلامت جسمی و روانی افراد را تهدید کنند. یکی از شایع‌ترین این عوامل، سروصدا است؛ که نه تنها باعث بروز اختلالات شنوایی می‌شود، بلکه اثرات غیرشنوایی نیز به همراه دارد. این اثرات غیرشنوایی معمولاً از مسیرهای بیولوژیکی مانند افزایش استرس اکسیداتیو، تخریب نورونی، تشکیل پلاک‌های آمیلوئیدی و ایجاد کلاف‌های نوروفیبریلاری رخ می‌دهند و می‌توانند به افت عملکرد شناختی منجر شود (۱، ۲).

در کنار این عامل فیزیکی، آلومینیوم به دلیل ویژگی‌هایی مانند وزن سبک، انعطاف‌پذیری، مقاومت در برابر خوردگی و رسانایی بالا، از فلزات پرکاربرد در صنایعی نظیر ریخته‌گری، تولیدات فلزی و هوافضا به‌شمار می‌رود و در عین حال یکی از عوامل بالقوه زیان‌آور در محیط‌های کاری محسوب می‌شود (۳). همین گستردگی مصرف موجب افزایش احتمال مواجهه کارگران با ترکیبات آلومینیوم، به‌ویژه از مسیر استنشاقی می‌شود (۴). اگرچه مکانیسم دقیق سمیت عصبی آلومینیوم هنوز به‌طور کامل مشخص نشده است، شواهد پژوهشی تأثیر این عنصر بر سیستم عصبی-شناختی را تأیید کرده‌اند (۵، ۶). در سال‌های اخیر نگرانی‌ها درباره اثرات مخرب آلومینیوم بر فرآیندهای شناختی افزایش یافته و مطالعات متعدد، آن را با بروز اختلالات حافظه و یادگیری (اختلالات شناختی) مرتبط دانسته‌اند (۷، ۸).

از دیدگاه سلامت شغلی، اختلال شناختی از جمله پیامدهای مهم آسیب عصبی است که می‌تواند توانایی‌های یادگیری، حافظه و ادراک را تحت تأثیر قرار دهد. افت عملکرد شناختی نه تنها کیفیت زندگی را کاهش می‌دهد، بلکه مستقیماً بهره‌وری فردی و ایمنی محیط کار را مختل کرده و احتمال بروز خطا و حادثه را افزایش می‌دهد (۹). (۱۰). از آنجا که اندازه‌گیری مستقیم عوامل زیان‌آور محیطی علاوه بر دشواری و هزینه‌بر بودن، نمی‌تواند

به‌تنهایی پیش‌بینی‌کننده مناسبی برای مواجهات شغلی باشد (۱۱، ۱۲)، لذا استفاده از روش‌های پایش بیولوژیکی و بیومارکرهای زیستی جهت ارزیابی اثرات عصبی-شناختی اهمیت ویژه‌ای پیدا کرده است. پایش بیولوژیکی از طریق اندازه‌گیری شاخص‌های مولکولی و پروتئومی، یک روش معتبر برای بررسی تأثیر عوامل زیان‌آور بر بدن و ارزیابی زودهنگام تغییرات عملکرد شناختی محسوب می‌شود (۱۳-۱۵).

مطالعات نشان داده‌اند که اختلال شناختی خفیف (MCI: Mild Cognitive Impairment) ممکن است سال‌ها پیش از بروز علائم بالینی زوال عقل ظاهر شوند، بنابراین آشکارسازی زودهنگام این تغییرات از طریق بیومارکرها در پیشگیری و مداخله اهمیت دارد (۱۶-۱۸). در همین راستا دو بیومارکر پروتئین تاو و بتا آمیلوئید جزء بیومارکرهای پرکاربرد در این زمینه می‌باشد (۱۹، ۲۰). هر دو این پروتئین‌ها نقش‌های مهمی در پایداری و پویایی میکروتوبول‌ها و همچنین در فرآیند انتقال سیناپسی ایفا می‌کنند (۲۱-۲۳).

هرچند اطلاعات مناسبی نسبت به اثرات جداگانه صدا و آلومینیوم وجود دارد، اما یک ویژگی مهم در محیط‌های صنعتی که کمتر مورد مطالعه قرار گرفته، مواجهه هم‌زمان کارگران با چندین عامل زیان‌آور است. کارگران صنایع ریخته‌گری، ذوب فلزات و معادن به‌طور معمول در معرض مواجهه هم‌زمان صدا و بخارات یا ذرات آلومینیومی قرار دارند؛ که این مواجهات توأم می‌تواند اثرات هر عامل را تشدید کرده و خطر آسیب‌های عصبی-شناختی را افزایش دهد (۲۴، ۲۵). با این حال، مرور پژوهش‌های موجود نشان می‌دهد که اکثر مطالعات، اثرات صدا و آلومینیوم را به صورت مجزا بررسی کرده‌اند و داده‌های نظام‌مند درباره اثرات ترکیبی یا تداخلی (interaction effects) این دو عامل بر عملکردهای شناختی و مسیرهای مولکولی مرتبط بسیار محدود است. به‌ویژه در مدل‌های حیوانی مانند رت ویستار، مطالعات اندکی اثرات ترکیبی این مواجهات را بر شاخص‌های رفتاری و بیولوژیکی بررسی کرده‌اند. این خلأ علمی مانع از ارائه شواهد کافی

$$n = \frac{(2\sigma^2)(Z\alpha/2 - Z\beta)^2}{d^2}$$

تصادفی‌سازی و کورسازی (Randomization and Blinding)

تخصیص حیوانات به گروه‌های تحت آزمایش، بر اساس اصل تصادفی‌سازی (Randomization) انجام پذیرفت. پس از رسیدن رت‌ها به سن و وزن مناسب، ۲۰ سر رت با جنسیت نر از نژاد ویستار، به صورت تصادفی با استفاده از تولیدکننده اعداد تصادفی کامپیوتری به ۴ گروه «گروه کنترل» و «گروه مواجهه با صدا»، «گروه مواجهه با آلومینیوم» و «گروه مواجهه با صدا و آلومینیوم بطور همزمان» تخصیص داده شدند (۵ سر رت در هر گروه). تخصیص گروه‌ها توسط مشاور اپیدمیولوژیستی انجام شد که در اجرای مداخلات محیطی و ارزیابی‌های رفتاری نقشی نداشت. علاوه بر این، تمامی مراحل ارزیابی رفتاری (شامل آزمون ماز آبی موریس) و همچنین تحلیل‌های بیومارکری (ELISA) به صورت کور (Blinded) انجام پذیرفت؛ بدین صورت که ارزیاب‌ها تنها کد نمونه را مشاهده می‌کردند و از تعلق نمونه به گروه‌های مختلف بی‌اطلاع بودند تا از هرگونه سوگیری مشاهده‌گر (Observer Bias) جلوگیری شود. به دلیل ماهیت مداخلات (مواجهه با صدا و تزریق درون‌صفافی)، کورسازی در مرحله اجرای مداخله امکان‌پذیر نبود. لازم به ذکر است که، به‌منظور شفاف‌سازی فرآیند تخصیص و کاهش سوگیری، توالی تصادفی تخصیص گروه‌ها به‌صورت از پیش تولیدشده (computer-generated random sequence) تهیه و تا زمان تخصیص نهایی حیوانات نزد مشاور اپیدمیولوژیست مستقل نگهداری شد. پژوهشگران مجری مداخلات تا زمان آغاز مواجهه‌ها از توالی تخصیص بی‌اطلاع بودند. کورسازی در این مطالعه به‌صورت تک‌کور (single-blind) و صرفاً در مراحل ارزیابی اعمال گردید.

مراحل انجام مطالعه

این پژوهش بطور کلی در ۴ مرحله اصلی طرح ریزی و اجرا گردید (شکل شماره ۱).

برای تدوین راهبردهای پیشگیرانه مؤثر در صنایع شده است. بر این اساس، این پژوهش با هدف بررسی اثرات مواجهه توأم صدا و آلومینیوم بر شاخص‌ها و نشانگرهای رفتاری/شناختی در مدل حیوانی رت ویستار طراحی شده است تا درک دقیق‌تری از اثرات ترکیبی احتمالی این دو عامل فراهم آورد.

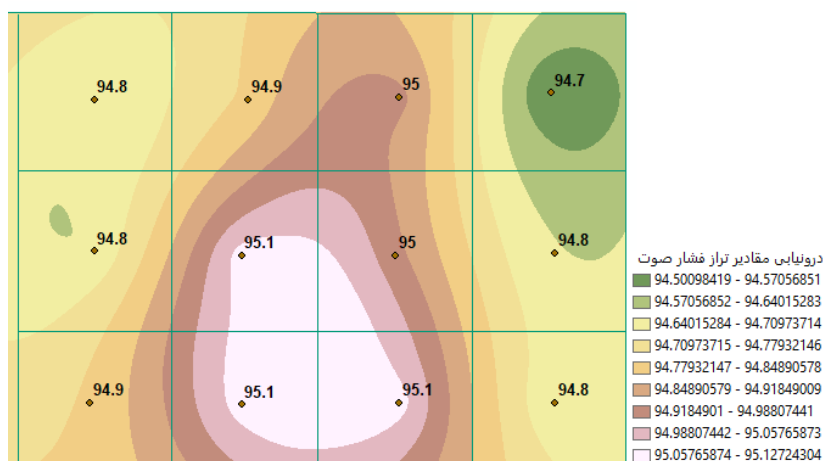
روش کار

طراحی مطالعه

این پژوهش به روش تجربی در مدل حیوانی، بر روی ۲۰ سر رت نر بالغ از نژاد ویستار با وزن ۲۰۰-۲۵۰ گرم و با سن بیش از ۸ هفته (معادل زمان بلوغ رت نر) انجام گردید. در طول انجام پژوهش تمامی حیوانات در دمای (۲۵-۲۰ درجه سانتی‌گراد) و رطوبت ۴۰ تا ۷۰ درصد، سیکل تاریکی و روشنایی (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی)، تهویه مناسب و دسترسی آزاد به آب و غذا (با ترکیبات مشابه برای همه گروه‌ها) و صدای کمتر از ۵۰ دسی بل (در گروه‌های غیر مواجهه با صدا) نگهداری شدند (۲). تمامی مراحل این مطالعه مطابق با دستورالعمل‌های کار با حیوانات آزمایشگاهی و کد اخلاق صادرشده توسط کمیته اخلاق دانشگاه علوم پزشکی تهران (IR.TUMS.AEC.1404.002) و مطابق با بیانیه هلسینکی انجام گردید.

انتخاب حیوانات

حجم نمونه بر اساس میانگین پیامدهای بیومارکرهای پروتئین تاو و بتا‌آمیلوئید و همچنین زمان صرف‌شده برای یافتن سکو، مطابق با مقادیر گزارش‌شده در مطالعات پیشین (۲۶، ۲۷) برای گروه‌های مداخله و کنترل، با استفاده از فرمول زیر با در نظر گرفتن خطای نوع اول ۰/۰۵ و توان آزمون ۸۰ درصد محاسبه شد. از آنجا که حجم نمونه محاسبه‌شده برای تمامی پیامدهای اولیه کمتر از ۵ بود، در نهایت تعداد ۵ رت در هر گروه به‌عنوان حجم نمونه نهایی انتخاب شد.



شکل ۱: نقشه صوتی مقادیر تراز فشار صوت اندازه گیری شده در اتاقک مواجهه.

آلومینیوم با فرمول شیمیایی $AlCl_3$ (Sigma-Aldrich) در روزانه دوزی معادل ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن آلومینیوم حل‌شده در محلول سالین را به‌صورت تزریق درون‌صفاقی (I.P.) دریافت کردند (۳۱).

پ) مواجهه با صدا و آلومینیوم بصورت همزمان
 حیوانات این گروه به‌صورت تصادفی به مدت ۴۵ روز، روزانه به مدت ۴ ساعت (از ساعت ۸ تا ۱۲ صبح، بصورت پیوسته) در معرض صدای سفید با شدت ۹۵ دسی‌بل (dB) قرار گرفتند. به‌طور همزمان، تمامی رت‌ها دوز روزانه ۱۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن بدن از کلرید آلومینیوم ($AlCl_3$) حل‌شده در محلول سالین به‌صورت تزریق درون‌صفاقی (IP) دریافت کردند.

ت) گروه کنترل
 حیوانات این گروه هیچ‌گونه مداخله دارویی یا مواجهه با صدا دریافت نکردند.

مرحله دوم: آزمون شناختی
 در این مطالعه حافظه فضایی حیوانات با استفاده

مرحله اول: مواجهه با عوامل زیان آور بمدت ۴۵ روز
الف) مواجهه با صدا

رت‌ها به مدت ۴۵ روز، روزانه به مدت ۴ ساعت (از ساعت ۸ تا ۱۲ صبح، بصورت پیوسته) تحت مواجهه با صدای سفید با تراز ۹۵ دسی‌بل (dB) قرار گرفتند (۲۸). صدای مورد نظر از طریق چهار بلندگوی تعبیه شده در بالای هر اتاقک پخش گردید. برای این منظور، حیوانات در اتاقک‌های مواجهه با صدا (چهار بلندگوی یک اهمی) قرار داده شدند. این اتاقک‌ها دارای ابعاد 60×50 سانتی‌متر بوده، از مصالح عایق صدا ساخته شده و به سیستم تهویه و دربی با ابعاد 30×20 سانتی‌متر مجهز بودند. بمنظور اطمینان از صحت مقادیر صدای مواجهه یافته در داخل اتاقک‌های مواجهه، صدای منتشره بطور روزانه با استفاده از دستگاه صداسنج مدل cell450 در شبکه فرکانسی A و سرعت پاسخ Slow مورد ارزیابی قرار گرفت. شکل ۱، نتایج حاصل از ارزیابی و بررسی تراز فشار صوت در نقاط مختلف اتاقک مواجهه را که با استفاده از نرم افزار GIS ترسیم شده است، نشان می‌دهد.

ب) مواجهه با آلومینیوم
 بمنظور شبیه سازی مواجهه با فلز آلومینیوم و بررسی اثرات ناشی از مواجهه با آلومینیوم، از ترکیب کلرید

شده و سپس آنالیز بیومارکرهای پروتئین تاو تام (t-tau) و بتا آمیلوئید ۴۲ (Aβ1-42) با استفاده از کیت مخصوص به روش ELISA به شرح ذیل انجام گرفت.

برای آنالیز این بیومارکرها از کیت تجاری ارائه شده توسط شرکت ZellBio آلمان (ZellBio GmbH, Germany, t-tau Cat. No: ZB-11235C-R9648, Aβ1-42 Cat. No: ZB-10093C-R9648) استفاده شد که مراحل انجام آزمایش نیز براساس دستورالعمل ارائه شده توسط این شرکت صورت پذیرفت. این کیتها بر مبنای روش ساندویچ آنتی‌بادی مضاعف بیوتین و تکنیک الایزا (ELISA) عمل می‌کنند. در این روش، پروتئین تاو و بتا آمیلوئید توسط آنتی‌بادی جذب‌کننده سطح چاهک به دام افتاده، سپس با یک آنتی‌بادی ثانویه بیوتین‌دار و به دنبال آن استرپتاویدین کونژوگه با HRP نشانه‌گذاری می‌شود. در نهایت، با افزودن سوبسترا، محصول رنگی آبی تولید و پس از توقف واکنش با محلول اسیدی، رنگ محلول از آبی به زرد تغییر می‌یابد و در طول موج ۴۵۰ نانومتر (ELISA Reader Cytation 5) قرائت می‌شود. شدت رنگ ایجاد شده مستقیماً متناسب با غلظت بیومارکرها در نمونه است

آنالیز آماری

برای توصیف داده‌های جمع‌آوری شده، از میانگین \pm انحراف معیار و برای بررسی تفاوت سطوح بیومارکرهای پروتئین تاو و بتا آمیلوئید و همچنین داده‌های آزمون شناختی، در گروه‌های مورد مطالعه (بعد از بررسی نرمالیتت داده‌ها و همگنی واریانس‌ها) از آزمون آنالیز واریانس با اندازه‌گیری‌های مکرر (Repeated Measures ANOVA) برای مقایسه تغییرات در طول روزهای آموزش بین گروه‌ها و آزمون تعقیبی Bonferroni برای مقایسه بین گروه‌ها استفاده گردید. برای ترسیم نمودارها از نرم افزار GraphPad Prism نسخه ۹ و برای ترسیم نقشه حرارتی از پایتون نسخه 3.8 استفاده شد. تمام آزمون‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS v27 و در سطح معناداری ۰/۰۵ انجام شد. با توجه به اینکه پیامدهای اصلی مطالعه حاضر

از آزمون ماز آبی موریس مورد سنجش قرار گرفت در این مطالعه، ارزیابی حافظه فضایی حیوانات با استفاده از آزمون ماز آبی موریس (MWM)^۱ انجام شد.

آزمون ماز آبی موریس

آزمون ماز آبی موریس یکی از روش‌های استاندارد ارزیابی یادگیری و حافظه فضایی در جوندگان است. این آزمون شامل یک مخزن دایره‌ای فلزی (قطر ۱۲۰-۲۰۰ سانتی‌متر، ارتفاع ۵۰-۶۰ سانتی‌متر) پر از آب به عمق ۲۵-۳۰ سانتی‌متر با دمای بهینه 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد می‌باشد. سکو پنهان فلزی (قطر ۱۰-۱۱ سانتی‌متر) در فاصله ۱-۵ سانتی‌متر زیر سطح آب و در یکی از چهار ربع مخزن قرار می‌گیرد، به‌گونه‌ای که برای حیوان قابل رؤیت نباشد (۳۲). حرکت موش‌ها توسط دوربین مادون قرمز متصل به نرم‌افزار ثبت و متغیرهایی مانند زمان رسیدن به سکو، مسافت طی‌شده و سرعت شنا تحلیل می‌شود. آموزش حیوانات طی پنج روز متوالی و روزانه چهار بار با فاصله ۱۰ دقیقه انجام می‌گیرد. یک روز پس از پایان آموزش، آزمون یادآوری ۶۰ ثانیه‌ای بدون حضور سکو برای ارزیابی حافظه فضایی اجرا می‌شود.

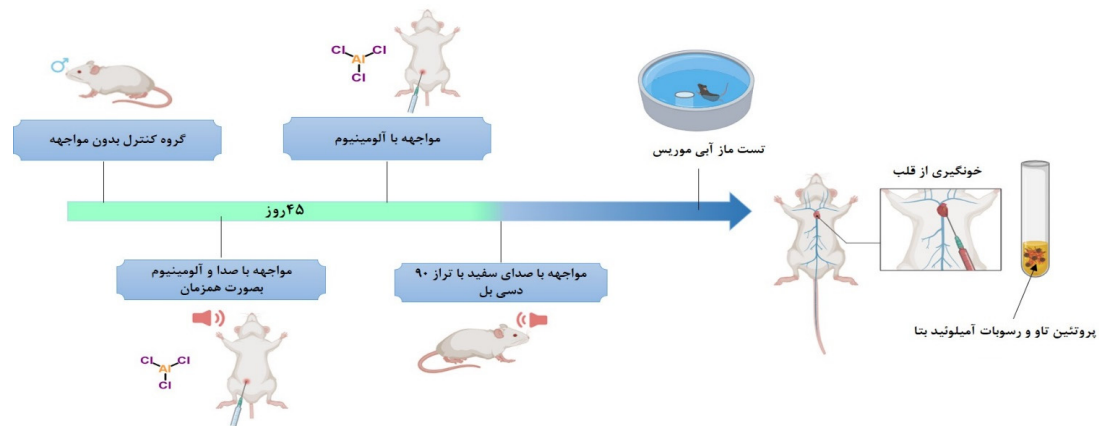
مرحله سوم: جمع‌آوری خون از نمونه‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر مواجهات بر بیومارکرهای شناختی، روز پس از پایان دوره مواجهه (۴۵ روزه)، از تمامی رت‌های تحت مطالعه نمونه خون جمع‌آوری شد. حیوانات ابتدا با استفاده از کتامین (۱۰۰ mg/kg) و زایلازین (۱۰ mg/kg) بیهوش شده، سپس بلافاصله مقدار ۵ میلی‌لیتر خون از قلب هر رت جمع‌آوری گردید و با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ (Sigma) سرم آنها جدا گردید. در پایان میکروتیوب‌ها به یخچال با دمای ۲۰- درجه سانتیگراد، انتقال و نگهداری شدند.

مرحله چهارم: آنالیز بیومارکرها شناختی (پروتئین تاو و بتا آمیلوئید)

در این مرحله نمونه‌های نگهداری شده از فریزر خارج

1. Morris Water Maze



شکل ۲: خلاصه مراحل اجرای پژوهش

جدول ۱: میانگین \pm انحراف معیار وزن حیوانات مورد آزمایش در روز شروع مطالعه و روز پایان مطالعه، به همراه تغییرات وزن حیوانات و اختلاف آماری گروه‌ها با گروه کنترل (ANOVA-Bonferroni).

اختلاف آماری تغییرات وزن در مقایسه با گروه کنترل (P-Value)	میانگین \pm انحراف معیار تغییرات وزن (گرم)	میانگین \pm انحراف معیار وزن حیوانات		گروه‌ها
		روز پایان مطالعه	روز شروع مطالعه	
۰/۰۶۳	۱۴۸/۴ \pm ۲۲/۵۴	۳۶۹/۴۰ \pm ۲۳/۹۲	۲۲۱/۰۰ \pm ۵/۵۷	Noise
۰/۰۰۱	۲۲/۴ \pm ۸/۷۳	۲۵۷/۸۰ \pm ۸/۲۵	۲۳۵/۴۰ \pm ۵/۲۷	AL
۰/۰۶۱۹	۸۰/۴ \pm ۳۶/۸۸	۲۸۹/۰۰ \pm ۲۷/۰۷	۲۰۸/۶۰ \pm ۱۰/۴۵	Noise+AL
-----	۱۰۵/۸ \pm ۱۴/۶۱	۳۶۶/۸۰ \pm ۲۳/۶۰	۲۳۱/۰۰ \pm ۱۳/۲۰	Control

وزن حیوانات

جدول ۱ میانگین و انحراف حیوانات مورد آزمایش در روز شروع مطالعه و روز پایان مطالعه را به همراه تغییرات وزن حیوانات در طول آزمایش، نشان می‌دهد. بمنظور بررسی اختلاف تغییرات وزن گروه‌های مختلف مورد مطالعه با گروه کنترل از آزمون ANOVA و آزمون تعقیبی Bonferroni استفاده شد ($F=25.695, p<0.001$). نتایج نشان داد که تغییرات وزن تنها در گروه مواجهه با آلومینیوم با گروه کنترل اختلاف معنادار داشته است. در صورتیکه در سایر گروه‌ها اختلاف معنادار مشاهده نگردید

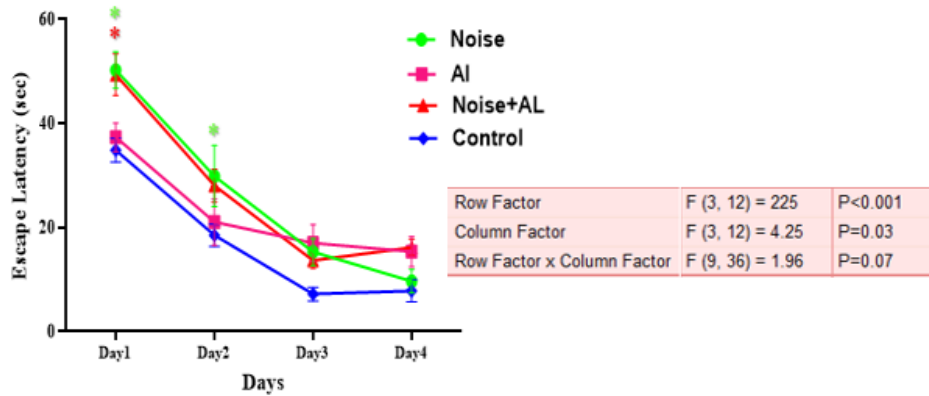
آزمون شناختی (ماز آبی موریس)

بمنظور بررسی روند یادگیری در آزمون ماز آبی موریس، تحلیل واریانس با اندازه‌گیری تکراری (Repeated-measures ANOVA) انجام شد که نتایج در نمودار ۳

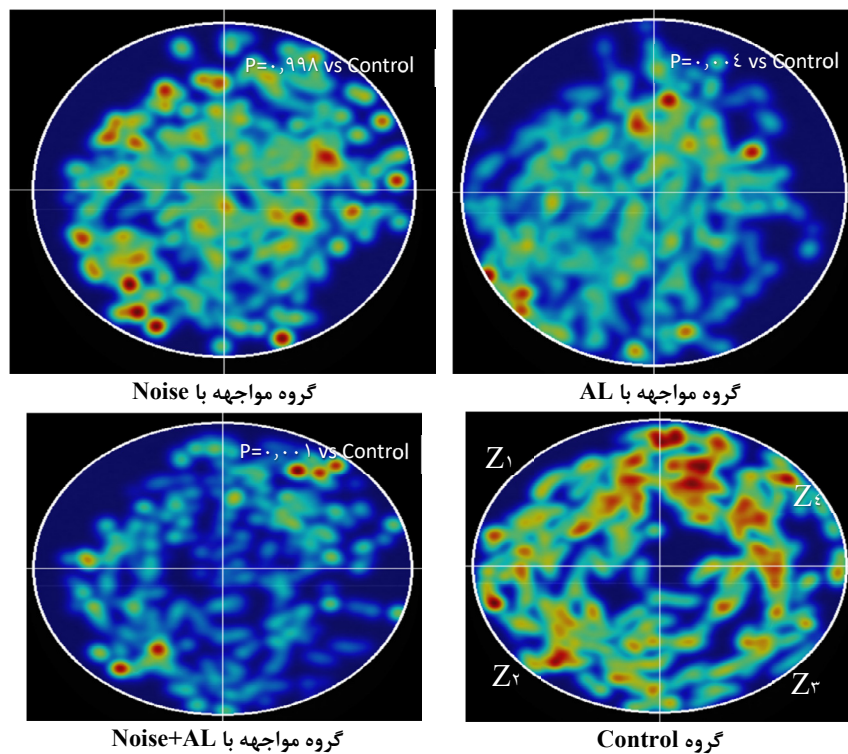
شامل عملکرد شناختی در آزمون ماز آبی موریس (زمان صرف‌شده برای یافتن سکو) و غلظت سرمی بیومارکرهای پروتئین تاو تام (t-tau) و بتا آمیلوئید ۴۲ ($A\beta_{1-42}$) بودند؛ تحلیل توان آماری برای این پیامدها در محدوده قابل قبول برای مطالعات حیوانی اکتشافی قرار داشت (برای شاخص شناختی ماز آبی موریس برابر با ۰/۷۷ و برای بیومارکرهای سرمی تاو و بتا آمیلوئید برابر با ۰/۸۴ بوده است).

یافته‌ها

در این مطالعه رت‌ها بطور تصادفی در ۴ گروه قرار گرفتند؛ که بعد از گذشت مدت زمان آزمایش، آزمون شناختی مرتبط با ماز آبی موریس و همچنین تعیین غلظت بیومارکرهای پروتئین تاو و بتا آمیلوئید، انجام گرفت.



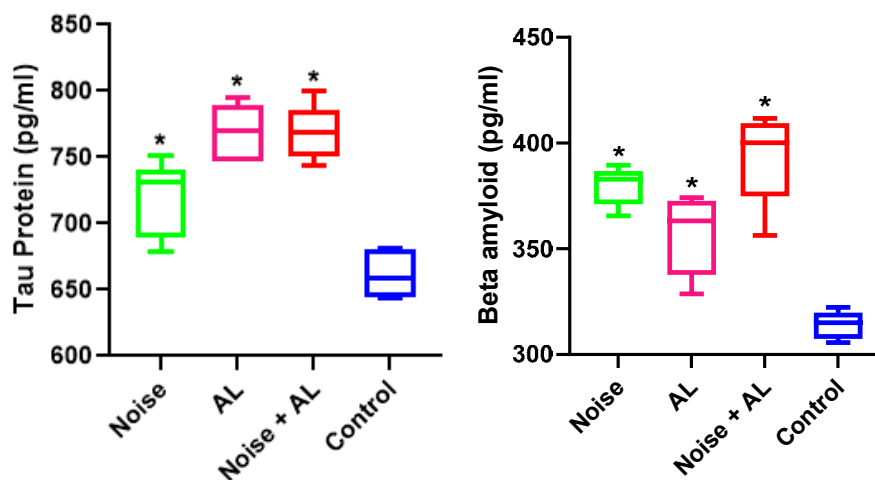
شکل ۳: نمودار روند زمان صرف شده جهت یافتن سکوی پنهان در روزهای آزمایش.



شکل ۴: نقشه حرارتی مسیر حرکت رت‌ها در نواحی مختلف ماز آبی موریس به تفکیک گروه‌های مورد مطالعه، همراه p-value مقایسه زمان صرف شده در ناحیه هدف (ناحیه ۴) نسبت به گروه کنترل (ANOVA-Bonferroni).

گروه‌ها مشابه بوده است. نتایج نشان داد که روند کاهش زمان یافتن سکوی پنهان در گروه کنترل سریع‌تر بوده و این گروه در روز پایانی به حداقل زمان رسید (Wilcoxon). (Day1 vs. Day4 Result: Z= -2.023, p=0.043).
نقشه‌های حرارتی حاصل از مسیر حرکت رت‌ها در شکل ۳ نمایش داده شده است. نتایج آزمون آماری نشان

آورده شده است. نتایج نشان داد که عملکرد حیوانات طی چهار روز متوالی به‌طور معناداری بهبود داشته است (Row factor: P-Value <0.001). همچنین بین گروه‌ها تفاوت معناداری وجود داشت (P-Value=0.03). از سوی دیگر، تعامل روز و گروه معنادار نبود (P-Value=0.07)، که نشان می‌دهد الگوی تغییرات یادگیری در طول روزها بین



شکل ۵: نمودار اختلاف آماری میانگین بیومارکرهای تاو پروتئین و بتا آمیلوئید در گروه‌های مورد مطالعه (ANOVA-Bonferroni).
**P-Value < 0.05, *P-Value < 0.01

جدول ۲: بررسی ارتباط مقادیر بیومارکرهای پروتئین تاو و بتا آمیلوئید (آزمون همبستگی پیرسون)

	میانگین	انحراف معیار	ضریب همبستگی	P-Value
تاو پروتئین	۷۲۹/۱۶	۴۹/۵۲	۰/۷۰۸	<۰/۰۰۱
بتا آمیلوئید	۳۶۱/۰۳	۳۴/۱۶		

ترتیب ۵۶/۵۴، ۱۰۶/۴۵ و ۱۰۶ پیکوگرم بر میلی‌لیتر بیشتر بود. همچنین غلظت سرمی بتا آمیلوئید نیز در تمام گروه‌های مواجهه بالاتر از گروه کنترل بود ($F:25.014, P<0.01$). به شکلی که میانگین بتا آمیلوئید در گروه مواجهه با صدا، گروه مواجهه با آلومینیوم و گروه توأم مواجهه صدا و آلومینیوم، نسبت به گروه کنترل به ترتیب ۶۵/۸۵، ۴۲/۹۱ و ۷۹/۷۹ پیکوگرم بر میلی‌لیتر، بیشتر بود (توان آزمون = ۰/۸۴).

آزمون ضریب همبستگی پیرسون (جدول ۲) نشان می‌دهد که ارتباط مثبت و معنادار بین افزایش سطوح بیومارکر پروتئین تاو و بتا آمیلوئید وجود دارد (P-Value < 0.001).

بحث

مطالعه حاضر اثر مواجهه همزمان با صدا و آلومینیوم را بر عملکرد شناختی و بیومارکرهای نورودژنراتیو در یک

داد که زمان صرف شده در ناحیه سکوی پنهان در گروه های AL+Noise و AL، اختلاف معناداری با گروه کنترل داشته است ($F:11.88, P<0.001$)؛ بطوریکه میانگین زمان صرف شده در ناحیه هدف (ناحیه ۴) در گروه مواجهه با صدا، گروه مواجهه با آلومینیوم و گروه توأم مواجهه صدا و آلومینیوم، نسبت به گروه کنترل به ترتیب ۳، ۸/۶ و ۱۱ ثانیه کمتر بود (توان آزمون = ۰/۷۷).

بیومارکرهای پروتئین تاو و بتا آمیلوئید

مقادیر اندازه گیری غلظت سرمی بیومارکرهای پروتئین تاو و بتا آمیلوئید ۴۲، حاصل از روش ELISA در شکل ۵ آورده شده است. براساس نتایج غلظت سرمی پروتئین تاو در تمام گروه‌های مواجهه بالاتر از گروه کنترل بود ($F:24.877, P<0.01$). بطوریکه میانگین پروتئین تاو در گروه مواجهه با صدا، گروه مواجهه با آلومینیوم و گروه توأم مواجهه صدا و آلومینیوم، نسبت به گروه کنترل به

مدل حیوانی (رت نر نژاد ویستار) بررسی نموده است. نتایج این پژوهش نشان داد که میانگین تغییرات وزن بدن تنها در گروه مواجهه با آلومینیوم تفاوت معناداری با گروه کنترل داشت. یافته حاضر هم‌راستا با نتایج مطالعه‌ی Al-Hazmi و همکاران (۲۰۲۱) است که گزارش کردند قرارگیری رت‌ها در معرض $AlCl_3$ با کاهش وزن معنادار همراه بود (۳۳). پژوهش‌های متعددی نیز تأیید کرده‌اند که مواجهه با نمک‌های آلومینیوم می‌تواند از طریق مکانیسم‌هایی نظیر افزایش استرس اکسیداتیو، التهاب سیستمیک، کاهش اشتها، اختلال عملکرد میتوکندری و تغییرات متابولیک منجر به کاهش وزن حیوان شود (۳۴، ۳۵). در مقابل، عدم مشاهده‌ی تفاوت معنادار بین گروه‌های مواجهه با صدا و کنترل با نتایج مطالعات Zymantiene و همکاران و همچنین Konkle و همکاران هم‌سو نیست. پژوهش‌های آنان کاهش وزن حیوانات مواجهه‌یافته با صدا را به ترشح هورمون‌های استرس و اختلالات خواب ناشی از تحریکات صوتی نسبت داده‌اند (۳۶، ۳۷). همچنین، در گروه مواجهه‌ی هم‌زمان صدا و آلومینیوم، تغییر وزن معناداری مشاهده نشد؛ هرچند این گروه‌ها از نظر بیومارکرهای شناختی، آسیب‌های شدیدتری نشان دادند. این الگو بیانگر آن است که ترکیب صدا و آلومینیوم ممکن است اثر هم‌افزایی بارزی بر سیستم عصبی-شناختی داشته باشد، اما الزاماً منجر به اثر هم‌افزایی بر پارامترهای متابولیک همچون وزن بدن نمی‌شود.

در بخش رفتاری، آزمون ماز آبی موریس به‌عنوان یکی از معتبرترین آزمون‌ها برای سنجش حافظه فضایی و یادگیری مورد استفاده قرار گرفت. نتایج نشان داد روند یادگیری برای تمام گروه‌ها در طول چهار روز معنادار بود (شکل ۳). تحلیل آماری نشان داد که روند تغییر در طول روزها بین گروه‌ها تفاوت معنادار داشته بطوریکه گروه کنترل در روز اول با گروه‌های Noise+AL و Noise و در روز دوم با گروه Noise، تفاوت معنادار داشت. Baghban و همکاران اختلاف بین گروه آلومینیوم و گروه کنترل در تمامی روزها را گزارش کردند (۳۸)؛ همچنین

Qin و همکاران در بررسی غلظت‌های مختلف آلومینیوم، افزایش روند یادگیری با اختلاف معنادار نسبت به گروه کنترل را مشاهده نمودند (۳۹). این یافته‌ها نشان می‌دهد که مواجهه با آلومینیوم و صدا می‌تواند فرآیندهای یادگیری و حافظه را تحت تأثیر قرار دهد.

تحلیل مدت زمان صرف شده در ناحیه هدف (ناحیه شماره ۴) نیز مؤید اثرات مواجهات بود. گروه کنترل زمان بیشتری را در این ناحیه سپری کرد که در نقشه حرارتی نیز مشهود است (هرچند نقشه حرارتی هر دو متغیر مسیر و زمان را در نظر گرفته است) و نشان‌دهنده توانایی بهتر در یادگیری موقعیت سکوی پنهان است. در مقابل، گروه‌های AL و Noise+AL کاهش معناداری در زمان حضور در ناحیه هدف داشتند (P-Value به ترتیب ۰/۰۲۳ و ۰/۰۱۱). اگرچه گروه Noise به‌تنهایی تفاوت معناداری با گروه کنترل نشان نداد، اما مطالعات انسانی و حیوانی متعدد، از جمله پژوهش Ma و همکاران (۲۰۲۴)، نشان داده‌اند که مواجهه مزمن با صدا می‌تواند تغییرات شبه آلزایمری در هیپوکامپ و اختلال حافظه فضایی ایجاد کند (۲).

عدم وجود تفاوت معنادار در گروه Noise می‌تواند بازتاب‌دهنده این باشد که مدت و شدت مواجهه اعمال شده در بازه زمانی مطالعه حاضر، برای القای تغییرات پیشرونده مرتبط با اختلالات شناختی کافی نبوده است (۴۰). از آنجا که بسیاری از فرآیندهای نورودژنراتیو ماهیتی تدریجی و زمان‌بر دارند، بررسی اثرات مواجهات در بازه‌های زمانی کوتاه ممکن است به عدم بروز تغییرات قابل تشخیص در برخی پیامدها منجر شود. بنابراین، یافته‌های حاضر در گروه Noise باید در چارچوب اثرات کوتاه‌مدت تفسیر شوند.

هرچند تاکنون تأثیر مواجهات صدا و آلومینیوم بطور هم‌زمان مورد بررسی قرار نگرفته است ولی هم‌راستا با نتایج مطالعه حاضر، baghban و همکاران و همچنین El-Ganainy و همکاران در مطالعات خود گزارش نمودند که گروه‌های مواجهه با آلومینیوم زمان کمتری را در منطقه هدف سپری کرده‌اند (۳۸، ۴۱). این نتایج به تأثیر عامل

آن است که آلومینیوم می‌تواند از طریق افزایش بیان BACE1 و کاهش بیان پروتئین‌های دخیل در پاکسازی A β (مانند LRP1 و NEP)، سطح این بیومارکر را افزایش دهد. در نتیجه، تجمع A β می‌تواند تشکیل پلاک‌های نوروتوکسیک را تسریع کند و زمینه‌ساز بروز اختلالات شناختی شود (۴۶، ۴۷).

شواهد نشان می‌دهد که آلومینیوم نقش مهمی در القای تغییرات نورودژنراتیو ایفا می‌کند. Liu و همکاران (۲۰۲۲) نشان دادند که مواجهه تحت مزمن با آلومینیوم منجر به اختلال در یادگیری و حافظه و کاهش فاکتورهای نوروتروفیک در رت‌ها می‌شود (۲۹). یافته‌های ما نیز بطور مشابه افزایش سطح پروتئین تاو و بتا آمیلوئید و افت عملکرد در آزمون‌های شناختی را تأیید می‌کند. در مطالعات انسانی نیز Zawilla و همکاران (۲۰۱۴) و Mohammed و همکاران (۲۰۲۰) افزایش این بیومارکرها را در کارگران مواجهه یافته با آلومینیوم گزارش کرده‌اند (۱۹، ۲۰).

همان‌طور که در بخش روش کار ذکر شد، مواجهه با آلومینیوم در این مطالعه از طریق تزریق داخل‌صفاقی انجام شده است. بر اساس گزارش برخی مطالعات، رویه‌های کنترلی مانند تزریق درون‌صفاقی سالین (Sham) می‌توانند در جوندگان اثرات خفیف رفتاری یا بیومارکری مرتبط با استرس ایجاد کنند؛ با این حال، شواهد موجود نشان می‌دهد که این نوع تزریق‌ها معمولاً تأثیر قابل توجهی بر شاخص‌های شناختی کلاسیک مانند یادگیری و حافظه ندارند (۴۸). در مطالعه حاضر، الگوی تغییرات شناختی و بیومارکری مشاهده‌شده در گروه‌های مواجهه‌یافته، به‌ویژه در مواجهه همزمان صدا و آلومینیوم، بیانگر آن است که نتایج به‌احتمال زیاد بازتاب اثرات مواجهات اصلی بوده و نه صرفاً پیامد استرس ناشی از تزریق. این یافته‌ها تفسیر اثرات ترکیبی صدا و آلومینیوم بر عملکرد شناختی و بیومارکرهای نورودژنراتیو را تقویت می‌کند. با این حال، در نظر گرفتن گروه Sham می‌توانست به تفسیر دقیق‌تر و تفکیک بهتر نقش رویه‌های تجربی در نتایج کمک کند.

زیان آور آلومینیوم بر حافظه فضایی و یادگیری تاکید دارد و همچنین نشان می‌دهد که هرچند ممکن است صدا بصورت انفرادی باعث تغییر معنادار در متغیرهای یادگیری و حافظه نشود اما در صورت همراهی با یک عامل شیمیایی مانند آلومینیوم، می‌تواند اثرات هم‌افزایی ایجاد کند. چنین هم‌افزایی در برخی مدل‌های مواجهه با صدا و سایر عوامل مانند فلزات سنگین نیز گزارش شده و نشان داده شده است که استرس اکسیداتیو، حالت‌های التهابی و اختلال در شبکه هیپوکامپی در مواجهه ترکیبی تشدید می‌شود (۲۵، ۴۲، ۴۳).

در بخش بیومارکرهای شناختی، نتایج آزمون ANOVA نشان داد که سطوح بیومارکر پروتئین تاو تام (t-tau) در سه گروه مواجهه (AL، Noise و AL+Noise) اختلاف معناداری با گروه کنترل داشته است. همراستا با نتایج مطالعه حاضر، Al-Bishri و همکاران رت‌ها را بمدت ۴۵ روز با ۱۷ mg/kg آلومینیوم کلراید مواجهه دادند و بعد از اتمام دوره مواجهه، مقادیر بیومارکر تاو را در سرم اندازه‌گیری نمودند؛ که مقادیر اندازه‌گیری شده تفاوت معناداری با گروه کنترل داشت (۴۴). Zhang و همکاران در مطالعه خود که بمنظور القای یک مدل آلزایمری از ۱۰ mg/kg آلومینیوم کلراید به‌مراه D-gal استفاده کرده بودند، گزارش دادند که مقادیر تاو فسفریله شده، اختلاف معناداری با گروه کنترل داشته است (۳۱). همچنین Dey و همکاران نیز تفاوت معنادار بین گروه کنترل با گروه مواجهه با آلومینیوم کلراید (۲۰ mg/kg) آلومینیوم کلراید بصورت خوراکی) گزارش نمودند (۳۰). هرچند که آنها مقادیر تاو فسفریله شده را در بافت مغز، گزارش دادند ولی ارتباط بین مقادیر تاو فسفریله شده و تاو تام اثبات شده است و مطالعات مختلف از این دو بیومارکر بمنظور بررسی اختلالات شناختی بهره برده‌اند.

در خصوص بیومارکر بتا آمیلوئید ۴۲ (A β 1-42)، نتایج مطالعه حاضر نیز نشان داد که گروه‌های مواجهه یافته افزایش معناداری نسبت به کنترل داشتند. این یافته‌ها با مطالعات Zhang، Al-Bishri، Dey و Promyo همسو است (۳۰، ۳۱، ۴۱، ۴۴، ۴۵). شواهد حاکی از

ویژگی بارز مطالعه حاضر، بررسی اثرات همزمان صدا و آلومینیوم بود. نتایج نشان داد که گروه مواجهه ترکیبی بیشترین میزان اختلال را در هر دو بعد رفتاری و بیومارکری تجربه کرده اند. این یافته با مطالعات مرور سیستماتیک Golmohammadi و Darvishi همسو است که اثرات هم‌افزای مواجهه ترکیبی عوامل زیان آور محیط کار بر سیستم عصبی را گزارش کرده‌اند (۲۵). همچنین Deng و همکاران (۲۰۱۹) نشان دادند که مواجهه همزمان با فلزات و سایر آلاینده ها می‌تواند تغییرات مولکولی و بیان ژن را به شکل هم‌افزا تحت تأثیر قرار دهد (۲۴).

از منظر مکانیسمی، چندین مسیر می‌توانند در بروز اثرات نورو توکسیک ناشی از مواجهه همزمان با صدا و آلومینیوم نقش داشته باشند. نخست، استرس اکسیداتیو به‌عنوان یک مکانیسم کلیدی مطرح است؛ هر دو عامل صدا و آلومینیوم با افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS: Reactive oxygen species) موجب آسیب به DNA، پروتئین‌ها و لیپیدهای غشایی شده و در نهایت کارکرد نورونی را مختل می‌کنند (۳، ۴۹). مکانیسم بعدی، التهاب عصبی است؛ فعال‌سازی میکروگلیا و افزایش ترشح سایتوکاین‌های پیش‌التهابی مانند IL-1 β و TNF- α در حضور این عوامل می‌تواند منجر به آسیب نورونی و اختلالات شناختی شود (۲، ۵). بروز اختلال در هموستاز پروتئین‌های مرتبط با اختلالات شناختی از جمله فسفریلاسیون بیش از حد پروتئین تاو و برهم خوردن تعادل بین تولید و پاکسازی بتا آمیلوئید، نیز مطرح است. این تغییرات منجر به تجمع ساختارهای نورو توکسیک مانند نوروفیبریلاری تانگل‌ها و پلاک‌های آمیلوئید شده و فرآیندهای نورودژنراتیو را تسریع می‌کنند (۱۹، ۲۱، ۲۲). با این حال، از آنجا که در مطالعه حاضر شاخص‌های مستقیم استرس فیزیولوژیک یا فعالیت محور HPA اندازه‌گیری نشده‌اند، این تفسیرهای مکانیسمی باید با احتیاط و در چارچوب شواهد غیرمستقیم در نظر گرفته شوند.

نتایج این پژوهش می‌تواند در تدوین زیرساخت‌های پیش‌شغلی کمک کننده باشد. تأثیرات سوء ناشی از

مواجهه همزمان دو عامل محیطی رایج در محیط‌های صنعتی (صوتی و مواجهه با آلومینیوم) بر عملکرد شناختی، ضرورت بازنگری در استانداردها و پروتکل‌های ایمنی شغلی را می‌تواند در پی داشته باشد. از آنجا که این مطالعه اثرات مضاعف (احتمالاً سینرژیک) این دو عامل را بر نشانگرهای کلیدی آسیب عصبی (پروتئین‌های تاو و بتا آمیلوئید) اثبات کرده است، مسئولین بهداشت حرفه‌ای باید راهکارهای کنترلی را نه به صورت مجزا، بلکه در قالب یک استراتژی یکپارچه برای مدیریت چند عامل زیان‌آور تدوین کنند. لذا می‌بایست در محیط‌های کاری پایش دوره‌ای کارگران با تمرکز بر هر دو شاخص محیطی و بیولوژیکی به صورت الزامی درآید. همچنین، استفاده از تجهیزات حفاظت فردی (PPE) باید به گونه‌ای تنظیم شود که کاهش مواجهه همزمان را هدف قرار دهد و در صورت امکان، برنامه‌های کاری طوری تنظیم گردند که از محدود کردن هم‌زمانی مواجهات طولانی‌مدت جلوگیری شود. نکته کلیدی دیگر در روش کار این مطالعه، استفاده از خون (سرم) به‌عنوان ماتریس بیولوژیک برای سنجش بیومارکرها تاو و بتا آمیلوئید است؛ در حالیکه مطالعات معمولاً بر روی بافت مغز یا مایع مغزی-نخاعی (CSF) تمرکز دارند. مشاهده تفاوت‌های معنادار در سطوح این بیومارکرها در خون، کارآمدی و عملی بودن استفاده از خون به عنوان یک ماتریس در دسترس و کم‌هزینه را برای پایش روتین و غربالگری کارگران در معرض خطر، به شکل اثبات‌شده‌ای افزایش می‌دهد.

نتیجه‌گیری

نتایج این مطالعه نشان داد که مواجهه همزمان با صدا و آلومینیوم می‌تواند با افت عملکرد شناختی و تغییر در سطوح سرمی بیومارکرها مرتبط با اختلالات نورودژنراتیو همراه باشد. افزایش سطوح پروتئین تاو و بتا آمیلوئید در سرم، همزمان با کاهش عملکرد در آزمون‌های حافظه فضایی و یادگیری، حاکی از بروز تغییراتی است که می‌تواند منعکس‌کننده درگیری مسیرهای مرتبط با آسیب عصبی باشد؛ هرچند استنتاج

بیومارکرهاى استرسى، عدم ارزیابى مستقیم CNS، بررسى نشدن اثر جنسیت و ترازهاى مختلف صدا و مقادیر متفاوت آلومینیوم، و نیز عدم پیگیری نتایج در گذر زمان (Follow-up)، از جمله محدودیت‌هاى این مطالعه به‌شمار می‌روند.

پیشنهادات برای مطالعات آینده

با توجه به اینکه تاکنون پژوهش‌هاى اندكى به بررسى زمینه‌هاى بروز اختلالات شناختى با بهره‌گیری از نشانگرهاى زیستی پرداخته‌اند، پیشنهاد می‌شود در مطالعات آتی سایر نشانگرهاى مرتبط با عملکرد شناختى نیز مورد ارزیابى قرار گیرند. همچنین، می‌توان مدت زمان مواجهه را به گونه‌اى طراحی کرد که به مدل‌هاى مواجهه‌ی مزمن نزدیک‌تر باشد و نتایج و اثرات در طول زمان مورد بررسى قرار گیرد. علاوه بر این، با توجه به وجود عوامل زیان‌آور متعدد در محیط‌هاى صنعتی، بررسى اثرات زیستی و شناختى سایر عوامل زیان‌آور، به‌صورت منفرد و ترکیبى، می‌تواند جهت‌گیری ارزشمندی برای پژوهش‌هاى آینده فراهم آورد. هرچند بمنظور انجام مطالعه مشابه، ارزیابى هیستولوژیک مغز، اندازه‌گیری مارکرهاى کورتیکوسترون/کورتیزول و ارزیابى رفتارهاى اضطرابی می‌تواند در تحلیل دقیق نتایج کمک‌کننده باشد.

تشکر و قدردانی

این مقاله بخشی از طرح تحقیقاتی مصوب معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه علوم پزشکی تهران با شناسه اخلاق IR.TUMS.AEC.1404.002 و کد ۹۰۹۷۵ می‌باشد، که بدینوسیله از حمایت‌هاى مالی معاونت مذکور در انجام طرح سپاسگزاری می‌شود. همچنین پژوهشگران این طرح از دانشگاه علوم پزشکی شاهرود، بویژه از معاونت محترم تحقیقات و فناوری دانشگاه مذکور بدلیل همکاری‌هاى تدارکاتی و ارزنده در انجام این طرح تحقیقاتی نهایت امتنان را ابراز می‌دارند.

مستقیم درباره فرآیندهاى نورودژنراتیو مرکزی مستلزم بررسى‌هاى تکمیلی در بافت مغز یا CSF است. یافته‌ها همچنین حاکی از آن است که عواملی مانند صدا، که به‌تنهایی تغییرات معناداری ایجاد نکردند، در حضور یک عامل شیمیایی مانند آلومینیوم می‌توانند باعث ایجاد اثرات ترکیبى بر شاخص‌هاى شناختى و بیومارکری شوند. در این چارچوب، استفاده از بیومارکرهاى خونی می‌تواند به‌عنوان ابزاری عملی و در دسترس برای پایش اولیه و غربالگری مواجهات شغلی مورد توجه قرار گیرد. از منظر کاربردی، این نتایج بر اهمیت توجه به مواجهات چندعاملی در محیط‌هاى صنعتی و شغلی تأکید دارد و ضرورت تدوین استراتژی‌هاى یکپارچه برای کنترل و کاهش همزمان چندین عامل زیان‌آور را برجسته می‌کند. در مجموع، یافته‌هاى این پژوهش نه تنها اهمیت کنترل مواجهات ترکیبى در محیط‌هاى صنعتی را روشن می‌سازد، بلکه مسیرهایی برای توسعه استراتژی‌هاى پیشگیرانه و پایش بیومارکرهاى قابل دسترس ارائه می‌کند و می‌تواند به‌عنوان یک مطالعه پایه ارزشمند برای تحقیقات آینده، از جمله مطالعات انسانی و سیاست‌گذاری در حوزه بهداشت حرفه‌ای مورد استفاده قرار گیرد.

نقاط قوت و محدودیت‌ها

در این مطالعه، برای نخستین‌بار اثرات عصبی شناختی ناشی از مواجهه‌ی همزمان صدا و آلومینیوم مورد بررسى قرار گرفت. از آن‌جا که اغلب پژوهش‌هاى پیشین، بیومارکرهاى مرتبط را در بافت مغزی یا مایع مغزى-نخاعی (CSF) مورد اندازه‌گیری قرار داده‌اند، در پژوهش حاضر با توجه به اهداف کاربردی و به‌ویژه امکان بهره‌گیری از نتایج در مطالعات شغلی، بیومارکرهاى مورد نظر در ماتریس خون که به‌عنوان یک ماتریس زیستی در دسترس‌تر و کارآمدتر در گروه‌هاى شغلی تلقی می‌شود، مورد سنجش و ارزیابى قرار گرفت؛ با این حال، نبود گروه Sham و داده‌هاى بافت‌شناسی، عدم ارزیابى

REFERENCES

- Jafari Z, Okuma M, Karem H, Mehla J, Kolb BE, Mohajerani MH. Prenatal noise stress aggravates cognitive decline and the onset and progression of beta amyloid pathology in a mouse model of Alzheimer's disease. *Neurobiol Aging*. 2019;77:66-86.
- Ma J, Zhang J, Ou Z, Ren Y, Wu K, Zhang Y, et al. Chronic noise exposure induces Alzheimer's disease-like neuropathology and cognitive impairment via ferroptosis in rat hippocampus. *Environ Health Prev Med*. 2024;29:50.
- Rahimzadeh MR, Rahimzadeh MR, Kazemi S, Amiri RJ, Pirzadeh M, Moghadamnia AA. Aluminum poisoning with emphasis on its mechanism and treatment of intoxication. *Emerg Med Int*. 2022;2022(1):1480553.
- Wesdock JC, Arnold IM. Occupational and environmental health in the aluminum industry: key points for health practitioners. *J Occup Environ Med*. 2014;56(Suppl 5):S5-S11.
- Renke G, Almeida VBP, Souza EA, Lessa S, Teixeira RL, Rocha L, et al. Clinical outcomes of the deleterious effects of aluminum on neuro-cognition, inflammation, and health: a review. *Nutrients*. 2023;15(9):2221.
- Vlasak T, Dujlovic T, Barth A. Aluminum exposure and cognitive performance: a meta-analysis. *Sci Total Environ*. 2024;906:167453.
- Shang N, Zhang P, Wang S, Chen J, Fan R, Chen J, et al. Aluminum-induced cognitive impairment and PI3K/Akt/mTOR signaling pathway involvement in occupational aluminum workers. *Neurotox Res*. 2020;38:344-58.
- Silvia N, Sutomo AH, Astuti I. Effect of occupational aluminum exposure on cognitive function among informal aluminum foundry industry workers. *Bali Med J*. 2022;11(2):1034-40.
- Savinkov M, Ustinova OY, Nosov A, Ivashova YuA, Kostarev V. Risks related to cognitive disorders development in workers with different work experience employed at an oil extracting facility. *Health Risk Anal*. 2021;2:83-93.
- Rouch I, Wild P, Ansiau D, Marquié JC. Shiftwork experience, age and cognitive performance. *Ergonomics*. 2005;48(10):1282-93.
- Jakubowski M. Biological monitoring versus air monitoring strategies in assessing environmental-occupational exposure. *J Environ Monit*. 2012;14(2):348-52.
- Jakubowski M, Trzcinka-Ochocka M. Biological monitoring of exposure: trends and key developments. *J Occup Health*. 2005;47(1):22-48.
- Morgan MS. The biological exposure indices: a key component in protecting workers from toxic chemicals. *Environ Health Perspect*. 1997;105(Suppl 1):105-15.
- Bonassi S, Neri M, Puntoni R. Validation of biomarkers as early predictors of disease. *Mutat Res*. 2001;480-481:349-58.
- Calafat AM, Ye X, Silva MJ, Kuklennyik Z, Needham LL. Human exposure assessment to environmental chemicals using biomonitoring. *Int J Androl*. 2006;29(1):166-71.
- Sperling RA, Aisen PS, Beckett LA, Bennett DA, Craft S, Fagan AM, et al. Toward defining the preclinical stages of Alzheimer's disease: recommendations from the National Institute on Aging-Alzheimer's Association workgroups on diagnostic guidelines for Alzheimer's disease. *Alzheimers Dement*. 2011;7(3):280-92.
- Chiu MJ, Chen YF, Chen TF, Yang SY, Yang FPG, Tseng TW, et al. Plasma tau as a window to the brain—negative associations with brain volume and memory function in mild cognitive impairment and early Alzheimer's disease. *Hum Brain Mapp*. 2014;35(7):3132-42.
- Giau VV, Bagyinszky E, An SSA. Potential fluid biomarkers for the diagnosis of mild cognitive impairment. *Int J Mol Sci*. 2019;20(17):4149.
- Zawilla N, Taha F, Kishk N, Farahat S, Farghaly M, Hussein M. Occupational exposure to aluminum and its amyloidogenic link with cognitive functions. *J Inorg Biochem*. 2014;139:57-64.
- Mohammed RS, Ibrahim W, Sabry D, El-Jaafary SI. Occupational metals exposure and cognitive performance among foundry workers using tau protein as a biomarker. *Neurotoxicology*. 2020;76:10-6.
- Taylor JP, Hardy J, Fischbeck KH. Toxic proteins in neurodegenerative disease. *Science*. 2002;296(5575):1991-5.
- Shankar GM, Li S, Mehta TH, Garcia-Munoz A, Shepardson NE, Smith I, et al. Amyloid- β protein dimers isolated directly from Alzheimer's brains impair synaptic plasticity and memory. *Nat Med*. 2008;14(8):837-42.

23. Qu Y, Ma YH, Huang YY, Ou YN, Shen XN, Chen SD, et al. Blood biomarkers for the diagnosis of amnesic mild cognitive impairment and Alzheimer's disease: a systematic review and meta-analysis. *Neurosci Biobehav Rev.* 2021;128:479-86.
24. Deng Q, Dai X, Feng W, Huang S, Yuan Y, Xiao Y, et al. Co-exposure to metals and polycyclic aromatic hydrocarbons, microRNA expression, and early health damage in coke oven workers. *Environ Int.* 2019;122:369-80.
25. Golmohammadi R, Darvishi E. The combined effects of occupational exposure to noise and other risk factors—a systematic review. *Noise Health.* 2019;21(101):125-41.
26. Dey M, Singh RK. Chronic oral exposure of aluminum chloride in rat modulates molecular and functional neurotoxic markers relevant to Alzheimer's disease. *Toxicol Mech Methods.* 2022;32(8):616-27.
27. Dai Xj, Liao Jh, Jia Y, Cao R, Zhou Mn. Noise exposure promotes Alzheimer's disease-like lesions and DNA damage. *Noise Health.* 2024;26(122):287-93.
28. Gai Z, Su D, Wang Y, Li W, Cui B, Li K, et al. Effects of chronic noise on the corticotropin-releasing factor system in the rat hippocampus: relevance to Alzheimer's disease-like tau hyperphosphorylation. *Environ Health Prev Med.* 2017;22(1):79.
29. Liu W, Liu J, Gao J, Duan X, Zhang L. Effects of subchronic aluminum exposure on learning, memory, and neurotrophic factors in rats. *Neurotox Res.* 2022;40(6):2046-60.
30. Dey M, Singh RK. Chronic oral exposure of aluminum chloride in rat modulates molecular and functional neurotoxic markers relevant to Alzheimer's disease. *Toxicol Mech Methods.* 2022;32(8):616-27.
31. Zhang Z, Wu H, Qi S, Tang Y, Qin C, Liu R, et al. 5-Methyltetrahydrofolate alleviates memory impairment in a rat model of Alzheimer's disease induced by D-galactose and aluminum chloride. *Int J Environ Res Public Health.* 2022;19(24):16426.
32. Zavvari F, Karimzadeh F. A review on the behavioral tests for learning and memory assessments in rat. *NeuroSci J.* 2017;5(4):110-24.
33. Al-Hazmi MA, Rawi SM, Hamza RZ. Biochemical, histological, and neuro-physiological effects of long-term aluminum chloride exposure in rats. *Metab Brain Dis.* 2021;36(3):429-36.
34. Ondreička R, Ginter E, Kortus J. Chronic toxicity of aluminium in rats and mice and its effects on phosphorous metabolism. *Br J Ind Med.* 1966;23(4):305-12.
35. Mesole SB, Alfred OO, Yusuf UA, Lukubi L, Ndhlovu D. Apoptotic inducement of neuronal cells by aluminium chloride and the neuroprotective effect of eugenol in Wistar rats. *Oxid Med Cell Longev.* 2020;2020(1):8425643.
36. Konkle AT, Keith SE, McNamee JP, Michaud D. Chronic noise exposure in the spontaneously hypertensive rat. *Noise Health.* 2017;19(90):213-21.
37. Zymantiene J, Zelvyte R, Pampariene I, Aniulienė A, Juodziukyniene N, Kantautaitė J, et al. Effects of long-term construction noise on health of adult female Wistar rats. *Pol J Vet Sci.* 2017;20(4):755-65.
38. Mohammadbaghan E, Taravati A, Najafzadehvarzi H, Khaleghzadeh-Ahangar H, Tohidi F. Oral administration of encapsulated catechin in chitosan-alginate nanoparticles improves cognitive function and neurodegeneration in an aluminum chloride-induced rat model of Alzheimer's disease. *Physiol Rep.* 2024;12(13):e16095.
39. Qin X, Li L, Nie X, Niu Q. Effects of chronic aluminum lactate exposure on neuronal apoptosis and hippocampal synaptic plasticity in rats. *Biol Trace Elem Res.* 2020;197(2):571-9.
40. Hartung T. Thoughts on limitations of animal models. *Parkinsonism Relat Disord.* 2008;14(Suppl 2):S81-3.
41. El-Ganainy SO, Soliman OA, Ghazy AA, Allam M, Elbahnasi AI, Mansour AM, et al. Intranasal oxytocin attenuates cognitive impairment, β -amyloid burden and tau deposition in female rats with Alzheimer's disease: interplay of ERK1/2/GSK3 β /caspase-3. *Neurochem Res.* 2022;47(8):2345-56.
42. Prasher D. Heavy metals and noise exposure: health effects. *Noise Health.* 2009;11(44):141-4.
43. Castellanos MJ, Fuente A. The adverse effects of heavy metals with and without noise exposure on the human peripheral and central auditory system: a literature review. *Int J Environ Res Public Health.* 2016;13(12):1223.
44. Al-Bishri WM, Hamza AH, Farran SK. Resveratrol treatment attenuates amyloid beta, tau protein and markers of oxidative stress, and inflammation in

- Alzheimer's disease rat model. *Int J Pharm Res Allied Sci.* 2017;6(3):116-25.
45. Promyo K, Iqbal F, Chaidee N, Chetsawang B. Aluminum chloride-induced amyloid β accumulation and endoplasmic reticulum stress in rat brain are averted by melatonin. *Food Chem Toxicol.* 2020;146:111829.
46. Wang L, Hu J, Zhao Y, Lu X, Zhang Q, Niu Q. Effects of aluminium on β -amyloid (1-42) and secretases (APP-cleaving enzymes) in rat brain. *Neurochem Res.* 2014;39(7):1338-45.
47. Luo Y, Niu F, Sun Z, Cao W, Zhang X, Guan D, et al. Altered expression of $A\beta$ metabolism-associated molecules from D-galactose/ $AlCl_3$ induced mouse brain. *Mech Ageing Dev.* 2009;130(4):248-52.
48. Moraes MA, Áraabe LB, Resende BL, Codo BC, Reis ALA, Souza BR. Beyond control: experimental control protocol slightly affects prepubescent mice behavior in a sex-specific manner. *bioRxiv.* 2022;2022.04.06.487373.
49. Shahtaheri SJ, Goodarzi Z, Karami E, Khavanin A, Khansari MG, Kiani M, et al. Effects of acute exposure to Al_2O_3 -NPs (α and γ) and white noise and their combination on cochlea structure and function in Wistar rats. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2023;30(38):89859-76.