

噪声对大鼠肝脏形态结构和功能的影响

李宁宁¹, 崔亚男², 余晓俊³, 崔博³, 余善法^{1,2}

1. 河南医学高等专科学校科研外事处, 河南 郑州 451191

2. 郑州大学公共卫生学院, 河南 郑州 450001

3. 军事科学院军事医学研究院环境医学与作业医学研究所, 天津 300041

摘要:

[背景] 噪声不仅可引起听觉系统的损伤, 也可致肝脏损伤, 但噪声性肝损伤的生物标志和损伤机制目前尚未明确。

[目的] 观察噪声对大鼠肝脏形态结构和功能的影响。

[方法] 30 只 Wistar 大鼠随机分为正常对照组、低噪声暴露组 [95 dB 声压级 (SPL)] 和高噪声暴露组 (105 dB SPL), 噪声暴露 30 d 后, 采血并取肝脏固定; 对肝脏进行病理组织学观察, 测定血清肝功能、血糖、血脂等生化指标, 采用超高压液相色谱-串联四级杆飞行时间质谱 (UPLC/Q-TOF-MS) 联用技术检测各组大鼠的血清代谢物, 鉴定代谢差异物, 分析代谢通路。

[结果] 噪声暴露后, 与对照组相比, 低、高噪声暴露组大鼠体重增长幅度降低 ($P < 0.001$, $P < 0.01$)。病理结果显示噪声暴露的两组大鼠肝脏均有不同程度的形态结构损伤, 高噪声暴露组大鼠损伤较重。与对照组相比, 低噪声暴露组大鼠血清天冬氨酸转氨酶、白蛋白、糖化血清蛋白水平升高 (均 $P < 0.05$), 总胆汁酸水平降低 ($P < 0.05$); 高噪声暴露组大鼠血清谷氨酸转氨酶、天冬氨酸转氨酶、白蛋白、甘油三酯、低密度脂蛋白、糖化血清蛋白水平升高 (均 $P < 0.05$), 葡萄糖水平降低 ($P < 0.05$)。血清代谢组学检测分析结果: 低噪声暴露组筛选出 11 种差异代谢物, 主要富集在硫胺素新陈代谢 (thiamine metabolism)、初级胆汁酸生物合成 (primary bile acid biosynthesis)、胆汁分泌 (bile secretion) 这 3 条与肝脏代谢相关的通路; 高噪声暴露组筛选出 4 种差异代谢物, 主要富集在胰岛素信号通路 (insulin signaling pathway)、非酒精性脂肪肝 (non-alcoholic fatty liver disease)、胆汁分泌 (bile secretion)、胰岛素分泌 (insulin secretion) 4 条不同的代谢通路, 但代谢通路均涉及到胆汁酸分泌代谢。

[结论] 噪声暴露可致大鼠肝组织结构发生改变和调节代谢的功能出现异常, 肝组织形态损伤及代谢异常可能与胆汁酸分泌代谢通路有关。

关键词: 噪声暴露; 肝损伤; 代谢组学; 生物标志物; 高效液相色谱-质谱; 胆汁酸

Effect of noise on morphological structure and functions of rat liver LI Ningning¹, CUI Yanan², SHE Xiaojun³, CUI Bo³, YU Shanfa^{1,2} (1. Department of Scientific Research and Foreign Affairs, Henan Medical College, Zhengzhou, Henan 451191, China; 2. College of Public Health, Zhengzhou University, Zhengzhou, Henan 450001, China; 3. Institute of Environmental and Operational Medicine, Academy of Military Medical Science, Academy of Military Science, Tianjin 300041, China)

Abstract:

[Background] Noise can cause not only auditory system injury, but also liver damage. However, the biomarkers and pathological mechanism of noise-induced liver injury are not clear yet.

[Objective] To observe the effect of noise on the morphological structure and functions of rat liver.

[Methods] A total of 30 Wistar rats were randomly divided into a normal control group, a low noise exposure group [(95 dB sound pressure level (SPL))], and a high noise exposure group (105 dB SPL). After 30 days of noise exposure, blood was collected, and livers were harvested and fixed. The pathological changes of livers were observed. The levels of biochemical indicators of liver function, blood glucose, and blood lipid were measured. Serum metabolites were detected by ultra-high-pressure liquid chromatography-tandem quadrupole time-of-flight mass spectrometry



DOI 10.11836/JEOM21389

基金项目

国家自然科学基金项目 (81872574)

作者简介

李宁宁 (1982—), 女, 硕士, 副教授;
E-mail: ningning0703@126.com

通信作者

余善法, E-mail: chinastress@sina.com

伦理审批 已获取

利益冲突 无申报

收稿日期 2021-08-22

录用日期 2022-02-17

文章编号 2095-9982(2022)04-0439-07

中图分类号 R114

文献标志码 A

补充材料

www.jeom.org/article/cn/10.11836/JEOM21389

►引用

李宁宁, 崔亚男, 余晓俊, 等. 噪声对大鼠肝脏形态结构和功能的影响 [J]. 环境与职业医学, 2022, 39(4): 439-445.

►本文链接

www.jeom.org/article/cn/10.11836/JEOM21389

Funding

This study was funded.

Correspondence to

YU Shanfa, E-mail: chinastress@sina.com

Ethics approval Obtained

Competing interests None declared

Received 2021-08-22

Accepted 2022-02-17

Supplemental material

www.jeom.org/article/en/10.11836/JEOM21389

► To cite

LI Ningning, CUI Yanan, SHE Xiaojun, et al. Effect of noise on morphological structure and functions of rat liver[J]. Journal of Environmental and Occupational Medicine, 2022, 39(4): 439-445.

► Link to this article

www.jeom.org/article/en/10.11836/JEOM21389

(UPLC/Q-TOF-MS). Differential metabolite markers and metabolic pathways were identified.

[Results] Compared with the control group, the body weight gain decreased in the low noise group and the high noise group after noise exposure ($P < 0.001$, $P < 0.05$). The pathological results showed that noise caused the rat livers' morphological and structural damage at various degrees, and damage of the high noise exposure group was more serious. Compared with the control group, the serum levels of aspartate aminotransferase, albumin, and glycosylated serum protein in the low noise exposure group were increased ($P < 0.05$), but the total bile acid level was decreased ($P < 0.05$). The serum levels of alanine aminotransferase, aspartate aminotransferase, albumin, triglyceride, low density lipoprotein, and glycosylated serum protein in the high noise group exposure were increased ($P < 0.05$), but the glucose level was decreased ($P < 0.05$). In the serum metabolomics analysis, 11 differential metabolites were screened out in the low noise exposure group, which were mainly enriched in 3 pathways (thiamine metabolism, primary bile acid biosynthesis, and bile secretion) related to liver metabolism. Four differential metabolites were screened out in the high exposure noise group, which were mainly enriched in four significantly different metabolic pathways (insulin signaling pathway, non-alcoholic fatty liver disease, bile secretion, and insulin secretion). All the metabolic pathways involved in bile acid secretion and metabolism.

[Conclusion] Noise exposure can not only damage the liver structure of rats, but also affects the metabolism functions of liver. The mechanism may be related to bile acid secretion metabolic pathway.

Keywords: noise exposure; liver injury; metabolomics; biomarker; ultra-high-pressure liquid chromatography-tandem quadrupole time-of-flight mass spectrometry; bile acid

噪声不仅是重要的职业危害因素之一,也是一种全球公认的公共健康危险因素。长期暴露于高噪声环境下不仅会导致暴露者听觉系统的损伤^[1],还可能引起其内分泌、消化、神经、免疫等多个“非听觉”系统的损伤和功能紊乱^[2]。消化系统与人体的供能有关,消化系统功能紊乱会影响机体营养摄入,缺少能量补给会导致其他系统和器官功能不能正常运转。肝脏是消化系统中最大的消化腺,分泌的胆汁对脂类物质的消化和吸收起着重要作用;肝脏还是体内以代谢功能为主的一个重要器官,参与糖、脂肪、蛋白质、维生素及激素的代谢。肝脏受损后,机体内代谢水平会发生改变。目前关于噪声引起的肝损伤已引起学者的关注,如 Zhang 等^[3]发现高频稳态噪声对肝脏有损伤作用,出现静脉、肝血窦和小叶间静脉扩张,肝小叶结构破坏,较多炎症细胞浸润;Oliveira 等^[4]发现长期暴露于工业宽带噪声会增加人体肝脏中结缔组织成分,引起肝脏纤维化。目前关于噪声对肝脏损伤的研究尚不充分,研究方向比较局限,临床上对噪声性肝损伤的诊断也有不足。肝功能检测指标如谷氨酸转氨酶(alanine aminotransferase, ALT)、天冬氨酸转氨酶(aspartate aminotransferase, AST)等存在敏感性低、特异性差的特点^[5],尚未找到理想的噪声性肝损伤生物标志。本研究以 Wistar 大鼠为实验对象,给予 95 dB 声压级(sound pressure level, SPL)和 105 dB SPL 噪声刺激 30 d,观察噪声对大鼠肝脏形态结构和功能的影响,检测并分析血浆中差异性代谢物及代谢通路的变化,探讨噪声致肝损伤的机制。

1 对象与方法

1.1 实验动物

SPF 级雄性 Wistar 大鼠 30 只(购自北京维通利华),4~6 周龄,重量为 160~180 g,耳廓反射灵敏,无耳毒性药物史及噪声暴露史,饲养于中国天津卫生与环境医学研究所实验动物中心。大鼠适应性饲养一周后,随机分成对照组、低噪声暴露组、高噪声暴露组 3 组,每组 10 只。因每只动物所采集的血液样本量不同,为统一指标检测只数,选取足够样本量进行检测,并根据方差分析的自由度估算的所需最小样本量为 5 只,本实验选取对照组 9 只、低噪声暴露组 7 只、高噪声暴露组 9 只大鼠进行统计分析。

1.2 噪声暴露条件

根据美国职业安全与健康管理局建议的现行职业噪声暴露安全限值以及国内外的相关文献^[6-7],选取 95 dB SPL、4 h·d⁻¹ 作为研究噪声对肝脏损伤的暴露条件;为了控制时间变量以及实验条件的限制,设置 105 dB SPL、4 h·d⁻¹ 的噪声暴露条件以探究较高噪声暴露水平下肝脏损伤以及机体代谢的变化情况,因此本研究低噪声暴露组暴露水平为 95 dB SPL,高噪声暴露组暴露水平为 105 dB SPL。

将低、高噪声暴露组大鼠单独关在噪声暴露笼中,笼子置于扬声器(ZM-16 S,天津振美)下方,噪声由噪声发生器(BK 3560 C,丹麦 B&K)产生,经功率放大器(扬声器 P-150 D,北京电子科技集团第三研究所)放大后传递到扬声器,分别暴露于 95 dB SPL 和 105 dB SPL 白噪声中,每天暴露 4 h(8:30—12:30),连续暴露 30 d,对照组大鼠暴露于背景噪声(≤ 40 dB)。每次暴露

前,对噪声水平进行校准,笼内噪声变化小于 1 dB SPL,以确保刺激的均匀性。噪声暴露时禁食禁水,噪声暴露组除噪声暴露条件不同外,其他条件均与对照组一致。动物实验通过环境医学与作业医学研究所实验动物福利伦理委员会审查批准(审查编号: IACUC of AMMS-04-2020-063)。

1.3 生化指标检测

腹腔注射 1%戊巴比妥钠($70 \text{ mg}\cdot\text{kg}^{-1}$)深度麻醉大鼠后,大鼠腹主动脉取血, 4°C 、 $3\,000 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ (离心半径 15 cm),离心 15 min 后取上清, -80°C 冻存备用。取 50 μL 血清,于全自动分析仪上测定肝功指标(ALT、AST、白蛋白、碱性磷酸酶、 γ -谷氨酰基转移酶、总胆汁酸、直接胆汁酸、间接胆汁酸)和血糖、血脂指标(葡萄糖、甘油三酯、总胆固醇、高密度脂蛋白、低密度脂蛋白、糖化血清蛋白)。

1.4 肝组织病理学检测

大鼠取完血后,脱颈椎处死,迅速取各组大鼠肝组织放入 4%中性甲醛固定液固定,经梯度脱水、透明、包埋、连续切片、脱蜡、水化、HE 染色后,光镜下观察并拍照。

1.5 代谢组学检测

1.5.1 血清样本制备 取 100 μL 血清,加入预冷甲醇/乙腈/水溶液(体积比 2:2:1),涡旋混匀以沉淀蛋白质。低温超声 30 min, -20°C 静置 10 min,于 $17\,500 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ (离心半径 10 cm),离心 20 min,取上清真空干燥,质谱分析时加入 100 μL 乙腈水溶液(乙腈:水=1:1,体积比)复溶,涡旋, $17\,500 \text{ r}\cdot\text{min}^{-1}$ (离心半径 10 cm), 4°C 离心 15 min,取 50 μL 上清液进样上机分析。

1.5.2 液相色谱-质谱分析条件 样品采用超高压液相色谱-串联四级杆飞行时间质谱(UPLC/Q-TOF-MS)系统检测样本中的代谢物,即经超高压液相色谱仪(1290 Infinity LC,德国 Agilent Technologies)分离后,用质谱仪(Triple TOF 6600,美国 AB SCIEX)进行质谱分析,分别采用电喷雾电离(electron spray ionization, ESI)正离子和负离子模式进行检测。(1)色谱条件。色谱柱: ACQUITY UPLC BEH Amide 色谱柱($1.7 \mu\text{m}$, $2.1 \text{ mm}\times 100 \text{ mm}$,爱尔兰 waters),柱温 25°C ,流速 $0.5 \text{ mL}\cdot\text{min}^{-1}$,进样量 2 μL ;流动相 A 为纯水+25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 乙酸铵+25 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ 氨水,流动相 B 为乙腈;梯度洗脱程序如下: 0~0.5 min, 95% B; 0.5~7 min, B 从 95%线性变化至 65%; 7~8 min, B 从 65%线性变化至 40%; 8~9 min, B 维持在 40%; 9~9.1 min, B 从 40%线性变化至 95%; 9.1~12 min, B 维持在 95%; 整个分析过程中样品置于

4°C 自动进样器中。(2)质谱条件。ESI 源设置参数如下:雾化气辅助加热气 1(Gas1), 60; 辅助加热气 2(Gas2), 60; 气帘气压力(CUR), 30 psi; 离子源温度, 600°C ; 喷雾电压(ISVF) $\pm 5.5 \text{ kV}$ (正负两种模式)。二级质谱采用数据依赖型采集模式(information dependent acquisition, IDA)设置如下: 动态排除同位素离子范围, 4; 每次扫描采集 10 个碎片图谱。

1.5.3 生物信息学分析 将液相色谱串联质谱法的 Wiff 格式原始数据经 ProteoWizard 软件转换成 MzXML 格式后,采用 XCMS 软件对原始数据进行峰提取、保留时间校正、缺失值删除等。通过与国家标准技术研究所(National Institute of Standards and Technology, NIST)数据库中代谢物的保留时间、准确的分子质量、二级碎裂谱图、碰撞能等信息进行匹配,对生物样本中的代谢物进行结构鉴定。将鉴定后的代谢物采用 R 软件包“ropls”进行正交偏最小二乘判别分析(orthogonal partial least squares discriminant analysis, OPLS-DA),获得变量权重值(variable importance of projection, VIP)。依据 $\text{VIP} > 1$ 与 Student's t 检验的 P 值 < 0.05 筛选对照组与低噪声暴露组、对照组与高噪声暴露组中的显著差异代谢物。最后使用 MetaboAnalyst(<http://www.metaboanalyst.ca>)和京都基因与基因组百科全书(Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes, KEGG)对差异表达的代谢物进行通路分析。

1.6 统计学分析

一般数据的统计分析运用 SPSS 21.0 软件。首先检验数据资料是否符合正态性。正态性资料用平均值 $\pm$ 标准差($\bar{x}\pm s$)来表示;非正态分布资料用四分位数间距 $M(P_{25}, P_{75})$ 进行统计描述。正态分布资料采用单因素方差分析,两两比较方差不齐时采用 Dunnett's T_3 检验,方差齐时采用 LSD- t 检验;不符合正态分布资料采用独立样本的非参数检验。检验水准 $\alpha=0.05$ 。

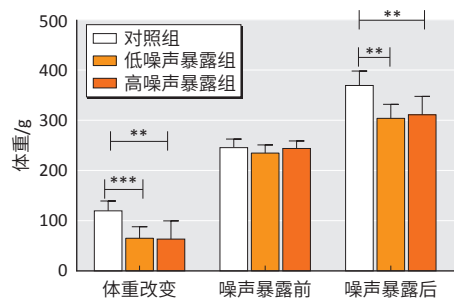
2 结果

2.1 噪声对大鼠体重的影响

与对照组比较,噪声暴露的两组大鼠体重增长幅度均降低(均 $P < 0.01$)。见图 1。

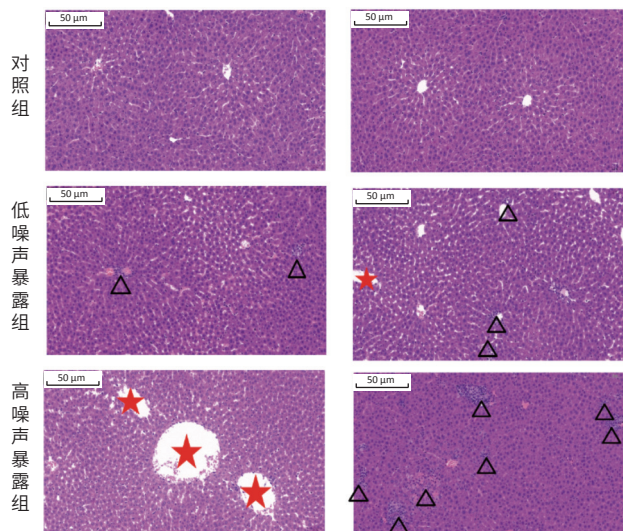
2.2 大鼠肝组织病理改变

噪声暴露组大鼠肝组织均出现了不同程度的中央静脉、肝血窦扩张,肝细胞坏死,坏死区伴有炎症细胞浸润。低噪声暴露组大鼠肝细胞呈点状坏死,高噪声暴露组呈片状坏死,损伤较低噪声暴露组严重。见图 2。



[注] **: $P < 0.01$; ***: $P < 0.001$ 。

图 1 各组大鼠体重变化图
Figure 1 The weight changes of rats in each group



[注] ★: 扩张的中央静脉; Δ: 肝细胞坏死、炎症细胞浸润。左右两侧代表不同视野。

图 2 各组大鼠肝脏组织病理学结果
Figure 2 The histopathological changes of liver of rats in each group

2.3 噪声对大鼠肝功能的影响

大鼠肝功能指标结果显示, ALT、AST、白蛋白质量浓度以及总胆汁酸浓度在三组间的差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。与对照组相比, 低噪声暴露组大鼠血浆中 AST、白蛋白质量浓度以及总胆汁酸浓度均发生改变, 且差异有统计学意义(均 $P < 0.05$); 而高噪声暴露组大鼠血浆中 ALT、AST 以及白蛋白质量浓度发生改变, 且差异有统计学意义(均 $P < 0.05$)。各指标在低噪声暴露组与高噪声暴露组之间的差异均没有统计学意义。见表 1。

2.4 噪声对大鼠血糖、血脂的影响

与对照组比较, 低噪声暴露组大鼠糖化血清蛋白浓度升高($P < 0.05$), 高噪声暴露组葡萄糖浓度降低($P < 0.05$), 甘油三酯、低密度脂蛋白、糖化血清蛋白浓度升高(均 $P < 0.05$)。两暴露组之间各血糖、血脂指标浓度差异无统计学意义。见表 2。

表 1 各组大鼠肝功能指标
Table 1 The liver function indexes of rats in each group

指标	对照组 (n=9)	低噪声 暴露组(n=7)	高噪声 暴露组(n=9)	Z/ χ^2	P
ALT活性 ^a /(U·L ⁻¹)	39.99±5.90	50.71±9.43	64.11±14.77 [*]	11.302	<0.001
AST活性 ^a /(U·L ⁻¹)	92.25±12.38	166.69±27.21 [*]	257.02±93.34 [*]	32.676	<0.001
白蛋白质量 浓度 ^a /(g·L ⁻¹)	31.61±1.21	34.04±1.13 [*]	33.92±1.65 [*]	8.643	0.002
碱性磷酸酶 活性 ^a /(U·L ⁻¹)	132.28±31.89	131.93±33.99	127.92±36.10	0.044	0.957
γ-谷氨酰基转移 酶活性 ^a /(U·L ⁻¹)	0.56±0.68	1.71±0.62	1.98±1.30	0.302	0.085
总胆汁酸 浓度 ^b /(μmol·L ⁻¹)	70.10 (34.45, 86.65)	25.70 (17.40, 39.00) [*]	39.50 (27.55, 46.50)	6.211	0.045
直接胆红素 浓度 ^b /(μmol·L ⁻¹)	3.30 (3.18, 4.73)	4.86 (4.50, 5.88)	4.62 (4.46, 5.09)	5.713	0.057
间接胆红素 浓度 ^b /(μmol·L ⁻¹)	3.30 (3.18, 4.72)	4.86 (4.50, 5.88)	4.62 (4.46, 5.09)	1.388	0.500

[注] *: 与对照组相比, $P < 0.05$ 。a: $\bar{x} \pm s$; b: $M(P_{25}, P_{75})$ 。

表 2 各组大鼠血糖、血脂浓度
Table 2 The levels of blood glucose and lipid of rats in each group

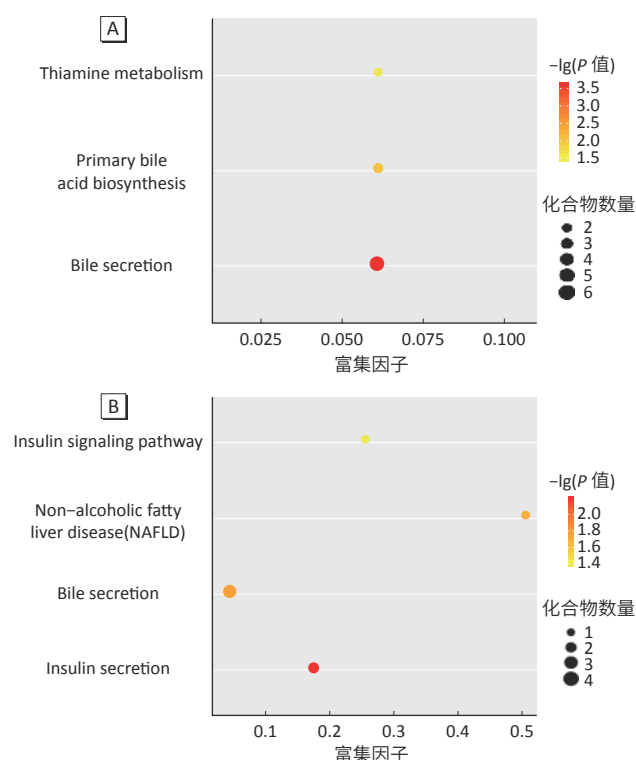
单位(Unit): mmol·L ⁻¹					
指标	对照组 (n=9)	低噪声暴露组 (n=7)	高噪声暴露组 (n=9)	Z/ χ^2 值	P值
葡萄糖 ^a	9.18±1.67	8.36±1.90	6.30±1.30 [*]	8.318	0.016
甘油三酯 ^a	1.71±0.21	1.82±0.15	1.95±0.25 [*]	3.941	0.034
总胆固醇 ^a	0.09±0.05	0.06±0.03	0.06±0.02	2.758	0.085
高密度脂蛋白 ^a	0.51±0.09	0.52±0.06	0.54±0.09	0.302	0.742
低密度脂蛋白 ^a	0.31±0.07	0.31±0.05	0.40±0.08 [*]	4.67	0.020
糖化血清蛋白 ^b	0.91 (0.90, 0.97)	1.12 (1.11, 1.43) [*]	1.14 (1.09, 1.19) [*]	13.721	0.001

[注] *: 与对照组相比, $P < 0.05$ 。a: $\bar{x} \pm s$; b: $M(P_{25}, P_{75})$ 。

2.5 与肝脏代谢有关大鼠血清差异性代谢物及代谢通路

将 $VIP > 1$, $P < 0.05$ 的差异性代谢物进行 KEGG 通路富集发现, 低噪声暴露组的差异代谢物主要富集了 3 条与肝脏代谢有关的通路(图 3A)。高噪声暴露组则主要富集在 4 条不同的代谢通路(图 3B), 但代谢通路均涉及到胆汁酸分泌代谢。经 KEGG 谱库检索筛选, 其中葡萄糖(glucose)、乙酰胆碱(acetylcholine)、左旋肉碱(L-carnitine)和胆酸(cholic acid)是高噪声暴露组中的差异代谢物, 而低噪声暴露组中除乙酰胆碱(acetylcholine)、左旋肉碱(L-carnitine)和胆酸(cholic acid)这 3 种差异代谢物外, 还包括硫酸牛黄胆酸(tauro lithocholic acid sulfate)、石胆酸(lithocholic acid)、甘氨酸胆酸盐(glycocholate)、甘氨酸胆酸(glycocholic acid)、鹅脱氧胆酸盐(chenodeoxycholate)、硫酸素-磷

酸(thiamine monophosphate)、DL-酪氨酸(DL-tyrosine)和酪氨酸(tyrosine)。结果见补充材料表 S1、S2。



[注] A: 低噪声暴露组的差异代谢物富集的 3 条与肝脏代谢相关的通路。Thiamine metabolism: 硫胺素新陈代谢; Primary bile acid biosynthesis: 初级胆汁酸生物合成; Bile secretion: 胆汁分泌。B: 高噪声暴露组富集的 4 条代谢通路。Insulin signaling pathway: 胰岛素信号通路; Non-alcoholic fatty liver disease: 非酒精性脂肪肝; Bile secretion: 胆汁分泌; Insulin secretion: 胰岛素分泌。

图 3 差异代谢物通路富集分析

Figure 3 Enrichment analysis of differential metabolite pathways

3 讨论

噪声不仅可致听力损失和耳蜗结构损伤,也可影响肝脏组织结构和代谢功能,改变细胞代谢途径中内源性代谢物的转化平衡,引起细胞对毒物或其他外源刺激的响应,产生毒性反应^[8]。肝细胞代谢水平的变化主要包括脂质代谢紊乱、胆汁淤积、磷脂病变和氧化应激等^[9]。本研究结果显示噪声不仅引起大鼠肝脏组织结构的病理改变,血清肝功能部分指标也出现异常。噪声暴露组大鼠肝组织均出现了不同程度的中央静脉、肝血窦扩张,肝细胞呈点状、片状坏死,并伴有炎性细胞浸润,并随着噪声暴露水平的提高,肝组织结构损伤程度逐渐加重;与对照组相比,噪声暴露组大鼠血清 ALT、AST 水平呈现增高趋势,低噪声暴露组血清 AST 水平、高噪声暴露组血清 ALT 和 AST 水平的升高均有统计学意义。目前对肝功能的检测,临床主要采用生化指标,如 ALT、AST 等,其灵敏性、特异性还有很多不足之处,轻度的肝细胞损伤一般不会引起肝功

能的显著改变,只有在肝细胞大量坏死时,ALT、AST 等大量释放入血,方可检测到血清中 ALT、AST 等显著升高,ALT、AST 在血液中的数值与肝组织受损情况密切相关^[10]。本实验病理结果表明这两种水平的噪声暴露对肝脏已经造成了较为严重的损伤,而低噪声暴露组大鼠血清中 ALT 水平并未发生显著性改变,肝功能常用的其他几个生化指标也未发生显著改变,这可能是由于低噪声暴露组大鼠肝损伤程度较轻,血清中肝功生化指标浓度并未累积到显著改变的水平,也可能是本实验样本量较小产生一定的偏差所致,说明通过肝功生化指标检测判断噪声性肝损伤程度尚缺乏一定的灵敏性和特异性。

关于噪声对肝脏的影响虽已有报道,但目前关于噪声暴露致肝脏损伤机制尚不明确^[2, 11],这方面的研究也相对较少,且大多数研究都是从应激反应入手,方向比较局限。代谢组学是系统生物学的重要组成部分,通过运用高通量仪器对生物体内源性代谢物进行定性和定量分析,系统考察病理生理刺激^[12-13]、环境因子刺激^[14]和药物损伤^[15]的细胞或组织所产生的代谢应答变化,可广泛应用于生物标志的筛选和疾病发生机制的研究^[16-17]。代谢组学的分析包括代谢差异物的鉴定和代谢通路分析。本研究采用 UPLC/Q-TOF-MS 技术,通过 OPLS-DA 分析,可找到 $VIP > 1$ 以及 $P < 0.05$ 的差异性代谢物,并将它们进行 KEGG 通路富集,发现:低噪声暴露组差异性代谢物主要富集在 3 条与肝脏代谢相关的通路,高噪声暴露组主要富集在 4 条显著不同的代谢通路,但代谢通路均涉及到胆汁酸分泌代谢;经 KEGG 谱库检索低噪声暴露组筛选出 11 种差异代谢物,高噪声暴露组筛选出 4 种差异代谢物。

胆汁酸是一类以胆固醇为原料在肝脏中合成的胆烷酸总称,在脂肪吸收和胆固醇代谢中发挥着重要作用^[18]。作为一种信号分子,胆汁酸能够与胆汁酸受体,如法尼酯 X 受体、G 蛋白偶联胆汁酸受体 1 等结合,参与脂代谢、糖代谢和肝脏再生的调节等^[12, 19-22]。所以胆汁酸代谢紊乱可能会直接导致脂代谢和糖代谢的异常。胆汁酸在肝脏中异常高水平蓄积时,还会产生细胞毒性,通过破坏线粒体膜电位,增加活性氧的产生,诱导肝细胞的凋亡、坏死和氧化应激^[23-25]。肝脏在胆汁酸代谢中占重要地位,与胆汁酸的合成、分泌、转化等具有密切关系^[26]。因此,胆汁酸已被研究认为肝损伤早期诊断和病情严重程度的潜在生物标志物^[15, 27],胆汁酸代谢变化对于研究肝损伤机制也具有重要意义^[28]。

本实验血清生化检测结果显示,高噪声暴露组的血清葡萄糖降低,糖化血清蛋白、甘油三酯和低密度脂蛋白水平升高;低噪声暴露组血清总胆汁酸水平降低,提示胆汁酸稳态被干扰。因胆汁酸参与糖代谢和脂代谢,并在脂肪吸收方面发挥着重要作用,因此推测胆汁酸稳态被扰乱,可能是导致血糖和血脂异常的原因之一。糖代谢和脂代谢异常也可能是肝细胞损伤所导致的结果,因为肝脏本身是一个代谢器官,是控制血糖的主要器官,肝脏损伤后对糖原的分解减少,血糖在体内代谢变慢,引起糖代谢紊乱,血糖水平下降^[6];肝脏同样也是脂代谢的重要场所,脂肪的合成、分解和运输都需要通过肝脏来完成^[29]。低密度脂蛋白是转运胆固醇的重要蛋白质,其可将胆固醇转运到全身各处,其中被运输到肝脏的胆固醇合成胆酸后参与胆汁酸的合成。本研究中实验大鼠肝损伤后,血脂代谢紊乱,低密度脂蛋白水平升高,致使胆汁酸代谢水平稳态被干扰。

胆汁酸种类繁多,生理功能各异,其成分的改变可能通过炎症、膜损伤、细胞毒性等途径加重肝毒性^[30]。关于胆汁酸稳态干扰而引起肝损伤的研究已有报道:Yamazaki等^[31]用13种已知的引起各种类型药物性肝损伤的肝毒素分别处理大鼠造模,对这些大鼠的生物样本(血浆、尿液、肝脏)进行非靶向代谢组学分析,发现胆汁酸稳态的紊乱是药物性肝损伤的机制之一;Jia等^[32]研究显示胆汁酸代谢异常在肝内淤积时可产生细胞毒性作用,直接损伤肝细胞,激活死亡受体使肝细胞凋亡。本研究在低噪声暴露组检测出的差异性代谢物甘氨酸胆酸为人体中含量丰富的结合胆汁酸,在肝硬化患者研究中,相对于对照组,血清中甘氨酸含量显著升高,且与Child-Pugh肝功能分级呈正相关,可作为肝硬化进展的生物标志物^[33]。

本次研究尚有不足之处,如未应用靶向代谢组学方法,对各组的胆汁酸浓度定量测定,进一步探究噪声对胆汁酸谱的影响,需要在今后的实验中加以完善。课题组将深入探究噪声暴露生物标志物及胆汁酸对噪声性肝损伤潜在临床应用价值,进一步研究噪声暴露引起的健康损害及潜在通路机制。

综上所述,本研究结果显示95 dB SPL和105 dB SPL噪声暴露30 d造成大鼠肝脏组织结构损伤、肝功能异常;通过采用UPLC/Q-TOF-MS结合多变量数据统计分析方法检测两种水平噪声刺激下血清内源性代谢物的变化,并对可能的代谢通路分析,推测肝损伤机制主要与胆汁酸代谢通路有关,可能是胆汁酸稳态

被干扰造成的。

参考文献

- [1] SALEHI MS, NAMAVAR MR, TAMADON A, et al. The effects of acoustic white noise on the rat central auditory system during the fetal and critical neonatal periods: a stereological study[J]. *Noise Health*, 2017, 19(86): 24-30.
- [2] 冯孟钠, 马佼, 赵婷, 等. 噪声对肥胖小鼠肝脏损伤机制的研究进展[J]. *西南医科大学学报*, 2021, 44(3): 275-279.
FENG MN, MA J, ZHAO T, et al. Research progress of mechanism of liver injury induced by noise in obese mice[J]. *J Southwest Med Univ*, 2021, 44(3): 275-279.
- [3] 张彦红, 薛来俊, 晓开提·依不拉音, 等. 高频稳态噪声对雌性大鼠多脏器组织的病理影响[J]. *新疆医科大学学报*, 2016, 39(2): 200-202, 206.
ZHANG YH, XUE LJ, YIBULAYIN X, et al. Effects of high frequency noise on female rat's multi-organ histology[J]. *J Xinjiang Med Univ*, 2016, 39(2): 200-202, 206.
- [4] OLIVEIRA MJ R, FREITAS D, CARVALHO AP O, et al. Exposure to industrial wideband noise increases connective tissue in the rat liver[J]. *Noise Health*, 2012, 14(60): 227-229.
- [5] 杨虹, 彭芳, 刘刚, 等. 基于脂类代谢组学研究对乙酰氨基酚对小鼠药物性肝损伤的早期毒性[J]. *中国药房*, 2019, 30(15): 2031-2036.
YANG H, PENG F, LIU G, et al. Study on early toxicity of paracetamol to drug-induced liver injury in mice based on lipid metabonomics research[J]. *China Pharm*, 2019, 30(15): 2031-2036.
- [6] MORAKINYO AO, SAMUEL TA, AWOBAJO FO, et al. Adverse effects of noise stress on glucose homeostasis and insulin resistance in Sprague-Dawley rats[J]. *Heliyon*, 2019, 5(12): e03004.
- [7] LIU L, WANG F, LU H, et al. Effects of noise exposure on systemic and tissue-level markers of glucose homeostasis and insulin resistance in male mice[J]. *Environ Health Perspect*, 2016, 124(9): 1390-1398.
- [8] BOUHIFD M, HARTUNG T, HOGBERG HT, et al. Review: toxicometabolomics[J]. *J Appl Toxicol*, 2013, 33(12): 1365-1383.
- [9] 李丽美, 臧清策, 张瑞萍, 等. 基于质谱技术的代谢组学在体外药物肝毒性评价中的研究进展[J]. *质谱学报*, 2021, 42(5): 772-786.
LI LM, ZANG QC, ZHANG RP, et al. Mass spectrometry-based metabolomics in the study of in vitro drug hepatotoxicity evaluation[J]. *J Chin Mass Spectrom Soc*, 2021, 42(5): 772-786.
- [10] 刘小茜, 吴文晓, 耿兴超, 等. 药物性肝损伤生物标志物研究进展[J]. *中国新药杂志*, 2018, 27(1): 47-52.
LIU XQ, WU WX, GENG XC, et al. Research progress of biomarkers of drug-induced liver injury[J]. *Chin J New Drugs*, 2018, 27(1): 47-52.
- [11] MENG X, GU Z, XIE X, et al. Acid sphingomyelinase mediates the noise-induced liver disorder in mice[J]. *Clin Exp Pharmacol Physiol*, 2019, 46(6): 556-566.
- [12] CHÁVEZ-TALAVERA O, TAILLEUX A, LEFEBVRE P, et al. Bile acid control of metabolism and inflammation in obesity, type 2 diabetes, dyslipidemia, and nonalcoholic fatty liver disease[J]. *Gastroenterology*, 2017, 152(7): 1679-1694.
- [13] KONG B, SUN R, HUANG M, et al. Fibroblast growth factor 15-dependent and bile acid-independent promotion of liver regeneration in mice[J]. *Hepatology*, 2018, 68(5): 1961-1976.
- [14] MA Z, WANG X, YIN P, et al. Serum metabolome and targeted bile acid profiling reveals potential novel biomarkers for drug-induced liver injury[J]. *Medicine (Baltimore)*, 2019, 98(31): e16717.
- [15] LI T, CHIANG JY L. Bile acid signaling in metabolic disease and drug therapy[J]. *Pharmacol Rev*, 2014, 66(4): 948-983.

- [16] LI N, DAWSON PA. Animal models to study bile acid metabolism[J]. *Biochim Biophys Acta Mol Basis Dis*, 2019, 1865(5): 895-911.
- [17] SCHAT H S, WOLF A, POGNAN F, et al. Bile acids in drug induced liver injury: key players and surrogate markers[J]. *Clin Res Hepatol Gastroenterol*, 2016, 40(3): 257-266.
- [18] LI T, UDAYAN A. Bile acid metabolism and signaling in cholestasis, inflammation, and cancer[J]. *Adv Pharmacol*, 2015, 74: 263-302.
- [19] JENA P K, SHENG L L, DI LUCENTE J, et al. Dysregulated bile acid synthesis and dysbiosis are implicated in Western diet-induced systemic inflammation, microglial activation, and reduced neuroplasticity[J]. *FASEB J*, 2018, 32(5): 2866-2877.
- [20] JIAO N, BAKER S S, CHAPA-RODRIGUEZ A, et al. Suppressed hepatic bile acid signalling despite elevated production of primary and secondary bile acids in NAFLD[J]. *Gut*, 2018, 67(10): 1881-1891.
- [21] BRØNDEN A, ALBÉR A, ROHDE U, et al. The bile acid-sequestering resin sevelamer eliminates the acute GLP-1 stimulatory effect of endogenously released bile acids in patients with type 2 diabetes[J]. *Diabetes Obes Metab*, 2018, 20(2): 362-369.
- [22] 王锋. 疏水性胆汁酸诱导肝细胞损伤机制研究进展[J]. *医学研究生学报*, 2012, 25(8): 882-885.
WANG F. Mechanisms of hydrophobic bile acid mediating hepatocyte injury[J]. *J Med Postgra*, 2012, 25(8): 882-885.
- [23] KULLAK-UBLIK GA, ANDRADE R J, MERZ M, et al. Drug-induced liver injury: recent advances in diagnosis and risk assessment[J]. *Gut*, 2017, 66(6): 1154-1164.
- [24] CHIANG J Y L, FERRELL J M. Bile acid metabolism in liver pathobiology[J]. *Gene Expr*, 2018, 18(2): 71-87.
- [25] LAN W, CHEN Z, CHEN Y, et al. Glycochenodeoxycholic acid impairs transcription factor E3-dependent autophagy-lysosome machinery by disrupting reactive oxygen species homeostasis in L02 cells[J]. *Toxicol Lett*, 2020, 331: 11-21.
- [26] 李修龙, 胡诚, 李云鹤, 等. 基于代谢组学的对乙酰氨基酚诱导大鼠急性肝损伤机制研究[J]. *中国药理学通报*, 2020, 36(8): 1068-1075.
LI X L, HU C, LI Y H, et al. Mechanism study of acetaminophen-induced acute liver injury in rats based on metabolomics[J]. *Chin Pharmacol Bull*, 2020, 36(8): 1068-1075.
- [27] MASUBUCHI N, NISHIYA T, IMAOKA M, et al. Promising toxicological biomarkers for the diagnosis of liver injury types: bile acid metabolic profiles and oxidative stress marker as screening tools in drug development[J]. *Chem Biol Interact*, 2016, 255: 74-82.
- [28] LUO L, AUBRECHT J, LI D, et al. Assessment of serum bile acid profiles as biomarkers of liver injury and liver disease in humans[J]. *PLoS One*, 2018, 13(3): e0193824.
- [29] 吴广忠, 苏建友. 肝功能 血脂 血糖联合检测在脂肪肝患者中的应用价值[J]. *实用医技杂志*, 2021, 28(7): 899-901.
WU G Z, SU J Y. Application value of combined detection of liver function, blood lipid and blood glucose in patients with fatty liver[J]. *J Pract Med Techn*, 2021, 28(7): 899-901.
- [30] LI M, CAI S Y, BOYER J L. Mechanisms of bile acid mediated inflammation in the liver[J]. *Mol Aspects Med*, 2017, 56: 45-53.
- [31] YAMAZAKI M, MIYAKE M, SATO H, et al. Perturbation of bile acid homeostasis is an early pathogenesis event of drug induced liver injury in rats[J]. *Toxicol Appl Pharmacol*, 2013, 268(1): 79-89.
- [32] JIA W, XIE G, JIA W. Bile acid-microbiota crosstalk in gastrointestinal inflammation and carcinogenesis[J]. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*, 2018, 15(2): 111-128.
- [33] WANG X, XIE G, ZHAO A, et al. Serum bile acids are associated with pathological progression of hepatitis B-induced cirrhosis[J]. *J Proteome Res*, 2016, 15(4): 1126-1134.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 王晓宇)

(上接第 438 页)

- [8] YAN F, WEN Z, WANG R, et al. Identification of the lipid biomarkers from plasma in idiopathic pulmonary fibrosis by Lipidomics[J]. *BMC Pulm Med*, 2017, 17(1): 174.
- [9] CHU S G, VILLALBA J A, LIANG X, et al. Palmitic acid-rich high-fat diet exacerbates experimental pulmonary fibrosis by modulating endoplasmic reticulum stress[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2019, 61(6): 737-746.
- [10] TAGER A M, LACAMERA P, SHEA B S, et al. The lysophosphatidic acid receptor LPA₁ links pulmonary fibrosis to lung injury by mediating fibroblast recruitment and vascular leak[J]. *Nat Med*, 2008, 14(1): 45-54.
- [11] SURYADEVARA V, RAMCHANDRAN R, KAMP D W, et al. Lipid mediators regulate pulmonary fibrosis: potential mechanisms and signaling pathways[J]. *Int J Mol Sci*, 2020, 21(12): 4257.
- [12] SHEA B S, BROOKS S F, FONTAINE B A, et al. Prolonged exposure to sphingosine 1-phosphate receptor-1 agonists exacerbates vascular leak, fibrosis, and mortality after lung injury[J]. *Am J Respir Cell Mol Biol*, 2010, 43(6): 662-673.
- [13] MILARA J, NAVARRO R, JUAN G, et al. Sphingosine-1-phosphate is increased in patients with idiopathic pulmonary fibrosis and mediates epithelial to mesenchymal transition[J]. *Thorax*, 2012, 67(2): 147-156.
- [14] BU S, ASANO Y, BUJOR A, et al. Dihydrospingosine 1-phosphate has a potent antifibrotic effect in scleroderma fibroblasts via normalization of phosphatase and tensin homolog levels[J]. *Arthritis Rheum*, 2010, 62(7): 2117-2126.
- [15] ZHAO Y D, YIN L, ARCHER S, et al. Metabolic heterogeneity of idiopathic pulmonary fibrosis: a metabolomic study[J]. *BMJ Open Respir Res*, 2017, 4(1): e000183.
- [16] MEIER C, FREIBURGHHAUS K, BOVET C, et al. Serum metabolites as biomarkers in systemic sclerosis-associated interstitial lung disease[J]. *Sci Rep*, 2020, 10(1): 21912.
- [17] GAUGG M T, ENGLER A, BREGY L, et al. Molecular breath analysis supports altered amino acid metabolism in idiopathic pulmonary fibrosis[J]. *Respirology*, 2019, 24(5): 437-444.
- [18] SHOSHA E, FOUADA A Y, NARAYANAN S P, et al. Is the arginase pathway a novel therapeutic avenue for diabetic retinopathy?[J]. *J Clin Med*, 2020, 9(2): 425.
- [19] ZOU G L, ZHANG X R, MA Y L, et al. The role of Nrf2/PIWIL2/purine metabolism axis in controlling radiation-induced lung fibrosis[J]. *Am J Cancer Res*, 2020, 10(9): 2752-2767.
- [20] LATTI V D, CABIATI M, ROCCHICCIOLI S, et al. The role of the adenosine system in lung fibrosis[J]. *Pharmacol Res*, 2013, 76: 182-189.

(英文编辑: 汪源; 责任编辑: 丁瑾瑜)