

[文章编号] 1000-4718(2007)12-2483-02

睾酮对慢性心力衰竭雄性大鼠神经内分泌及细胞因子系统的影响

周强¹, 柯俊¹, 马业新¹, 刘静华²(华中科技大学同济医学院附属同济医院¹ 心内科,² 超声影像科, 湖北武汉 430030)

[摘要] 目的: 探讨睾酮对慢性心力衰竭雄性大鼠神经内分泌激素以及炎性细胞因子的影响。方法: 74只雄性SD大鼠分为①正常对照组(control); ②心力衰竭组(CHF); ③睾丸切除+心力衰竭组(ORX+CHF); ④睾丸切除+心力衰竭+睾酮替代治疗组(ORX+CHF+T)。应用超声学检测大鼠心功能, 放射免疫法检测血浆中睾酮(T)、ANP和细胞因子(TNF- α 、ET-1)水平。结果: (1) CHF组大鼠血浆T浓度明显低于control组($P < 0.01$)。心力衰竭大鼠血浆T水平与左室短轴缩短率(FS%)呈正相关($R = 0.54, P < 0.01$)。(2) 心力衰竭大鼠的血浆ANP水平较正常降低。心力衰竭大鼠血浆TNF- α 、ET-1浓度明显高于正常, 相比ORX+CHF组睾酮替代治疗拮抗了血浆TNF- α 的升高($P < 0.05$), 但对ET-1的影响不明显。结论: 在扩张型心肌病慢性心力衰竭雄性大鼠, 血浆雄激素水平与左室收缩功能具有良好的相关性, 而体内正常的雄激素水平对神经内分泌及细胞因子系统的异常激活具有有益的调节作用。

[关键词] 睾酮; 心力衰竭, 充血性; 细胞因子; 肿瘤坏死因子

[KEY WORDS] Testosterone; Heart failure, congestive; Cytokines; Tumor necrosis factor

[中图分类号] R363 **[文献标识码]** A

心力衰竭不仅是心脏泵衰竭为特征的血流动力学异常综合征, 也是一种神经内分泌及细胞因子系统异常激活的进展性疾病。而后者在心力衰竭的不断进展和恶化病程中具有特别重要的作用。前期研究^[1]发现: 在阿霉素所致的扩张型心肌病心力衰竭大鼠, 维持体内正常的雄激素水平对心功能具有保护作用。最近又有研究^[2]显示, 睾酮补充治疗能改善中重度心衰男性患者的症状及劳力耐受。但作用机制不明。本实验探讨雄激素对慢性心衰时神经内分泌及细胞因子系统的影响, 并探讨其心功能保护作用的可能机制。

材 料 和 方 法

1 实验动物及分组

74只雄性SD大鼠, 体重(230 \pm 20)g(华中科技大学同济医学院实验动物中心提供)。随机分为4组: ①正常对照组(control); $n = 12$; ②心力衰竭组(CHF); $n = 21$; ③睾丸切除+心力衰竭组(ORX+CHF); $n = 21$; ④睾丸切除+心力衰竭+睾酮替代治疗组(ORX+CHF+T); $n = 20$ 。

2 动物模型复制

雄性大鼠睾丸切除术(orchectomy, ORX)及睾酮替代治疗: 在6%水合氯醛(5mL/kg)腹腔注射麻醉下, 于大鼠阴囊行纵形切口, 摘除双侧的睾丸。Control及CHF组行开关假手术。睾酮替代治疗: ORX+CHF+T组术后2d起给予丙酸睾酮2mg/kg皮下注射, 每2d1次; 其余各组给予皮下注射等量花生油作为阴性对照的安慰剂。扩心病慢性心力衰竭模型复制: 睾丸切除术后1周起腹腔注射盐酸阿霉素(AR, 深圳万乐药业公司), 每次剂量为2.5mg/kg, 每5d1次, 累积剂量达15mg/kg, 最后1次用药后观察3周, 即成扩心病慢性心功能不全模型。Control组予等量生理盐水腹腔注射。

3 血浆睾酮及细胞因子水平的测定

实验第7周超声检查结束后处死大鼠, 左室称重, 取腔静脉血EDTA-K₂抗凝, 离心分离血浆, 采用放射免疫法测定血浆T、TNF- α 、ET-1、ANP浓度。放射免疫试剂盒均购自北京科美东雅生物技术公司。

4 超声检查

大鼠于实验开始时及第7周行超声心动图检查。使用GE公司的Vivid7心脏超声诊断仪, 探头选用10S。测定左室短轴缩短率(FS%)代表左室收缩功能。

5 统计学处理

利用SPSS 10.0统计分析软件进行分析, 各项计量数据以均数 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示, 不同组别间的均数比较采用单因素方差分析, 两两比较使用 q 检验。

结 果

1 实验各组大鼠基本指标及左室收缩功能

腹腔注射AR后大鼠出现中毒症状, 表现为活动及进食减少, 体重减轻, 后期出现腹水。ORX+CHF+T组大鼠则依然活跃, 一般情况较好。T替代治疗明显增加了慢性心衰大鼠的心脏重量。对比ORX+CHF组, 具有正常血浆T水平的ORX+CHF+T组大鼠表现更好的左室收缩功能, 见表1。

2 慢性心力衰竭大鼠血浆睾酮水平的变化

从表2可见, 扩心病慢性心力衰竭大鼠血浆T浓度较正常显著下降($P < 0.01$); 睾丸切除后雄性大鼠血浆T水平极度低下, 经T替代治疗恢复血浆T浓度至正常水平。我们进一步探讨了血浆T水平与心衰大鼠心功能之间可能的联系, 行相关分析结果显示: 在心力衰竭雄性大鼠(包括CHF和ORX+CHF+T组), 血浆T水平与左室FS%值呈正相关

[收稿日期] 2006-06-23

[修回日期] 2006-11-23

Tel: 027-83663607; E-mail: zhouq@tjh.tjmu.edu.cn

表 1 实验大鼠基本指标及左室收缩功能

Tab 1 Animal characteristics and left ventricular function ($\bar{x} \pm s$)

	BW (g)	LVW (mg)	LVW/BW (mg/g)	FS (%)	Mortality rate (%)
Control (n = 12)	350 ± 25	924 ± 36	2.68 ± 0.08	63.7 ± 3.6	0
CHF (n = 16)	294 ± 37**	758 ± 56****	2.52 ± 0.08****	53.9 ± 4.5*	37.5%
ORX + CHF (n = 19)	291 ± 40**	736 ± 46****	2.49 ± 0.07****	50.4 ± 5.2**	42%
ORX + CHF + T (n = 20)	297 ± 46**	826 ± 51**	2.72 ± 0.11	58.1 ± 5.1*	30%

** P < 0.01 vs control; *** P < 0.01 vs ORX + CHF + T. BW: body weight; LVW: left ventricle weight; LVW/BW: heart weight index; FS: fraction shortening.

表 2 睾酮对慢性心力衰竭雄性大鼠血浆 TNF-α、ET-1 和 ANP 水平的影响

Tab 2 Effect of T on plasma level of TNF-α, ET-1 and ANP in male rats with chronic heart failure ($\bar{x} \pm s$)

	T (ng/dL)	TNF-α (μg/L)	ET-1 (ng/L)	ANP (ng/L)
Control (n = 12)	557.6 ± 321.0	0.42 ± 0.13	37.28 ± 4.29	473 ± 152
CHF (n = 9)	175.5 ± 86.0**	1.10 ± 0.25***	42.66 ± 6.76*	312 ± 120*
ORX + CHF (n = 10)	1.5 ± 1.3##	1.28 ± 0.26***	44.19 ± 6.57*	251 ± 92*
ORX + CHF + T (n = 14)	596.6 ± 249.0	0.86 ± 0.27**	41.21 ± 6.51*	340 ± 141

* P < 0.05, ** P < 0.01 vs control; ## P < 0.05, ### P < 0.01 vs ORX + CHF + T.

(R = 0.54, P < 0.01)。

3 睾酮对慢性心力衰竭雄性大鼠血浆神经内分泌激素和细胞因子水平的影响

如表 2 所示,扩心病慢性心力衰竭大鼠血浆 TNF-α、ET-1 浓度均明显高于正常。反映了慢性心衰时细胞因子系统异常的激活。对比 ORX + CHF 组,生理量睾酮替代治疗显著降低了血浆 TNF-α 水平 (P < 0.05),但对 ET-1 的影响不明显。阿霉素所致扩张型心肌病大鼠的血浆 ANP 水平较正常降低,在 ORX + CHF 组特别明显,而生理量睾酮替代治疗显示出对抗 ANP 降低的趋势,但无显著差异 (P > 0.05)。

讨 论

动物实验和临床研究发现慢性心力衰竭时,体内雄激素水平明显下降。但目前尚不明确这种雄激素水平的降低究竟是心衰时真正的激素缺乏还是一种病理生理适应。本研究发现,心力衰竭雄性大鼠体内雄激素水平明显下降,且血浆 T 水平与左室 FS% 值呈明显的正相关,补充 T 至正常水平明显改善去势的雄性心力衰竭大鼠的心功能。然而生理量雄激素对于心功能的保护作用机制并不清楚。

人们早已发现在恶病质的重症患者,例如严重烧伤、慢性肾功能衰竭以及 AIDS 等,体内雄激素水平明显降低。与此相类似,心力衰竭综合征晚期突出地表现为消瘦、乏力等消耗性疾病状态(心脏性恶病质),提示心衰与其它的恶病质疾患具有相类似的病理生理机制。而其中最引人注目的机制即是神经内分泌、细胞因子系统的异常激活^[3]。

神经内分泌以及细胞因子系统的激活是慢性心力衰竭恶性进展的重要病理生理机制。在细胞因子中最重要的是 TNF-α,它可通过负性肌力作用、诱导心室重构、促发心肌细胞凋亡、介导心衰恶病质^[4]等多种途径参与心衰的发生和发展。本研究首次发现,在去势的慢性心力衰竭雄性大鼠,生理量雄激素替代治疗显著降低了血浆 TNF-α 水平,从而对心力衰竭产生有益的治疗作用。雄激素的这种拮抗细胞因子的作用很可能与雄激素的免疫抑制特性有关。大量的研

究已经证实,雄激素具有天然的免疫抑制作用。D'Agostino 等^[5]在小鼠的巨噬细胞 J774 细胞系研究发现,T 通过抑制 TNF-α 和 NO,并诱导 IL-10(体内重要的负性调节细胞因子)的合成而发挥抗炎作用。特别重要的是,生理剂量的睾酮,即诱导巨噬细胞自发性的释放 IL-10。研究发现雄激素的免疫调节作用的机制可能是多方面的,其中包括抑制核转录因子 NF-κB^[6],降低细胞因子 mRNA 的半衰期等。雄激素的免疫调节作用及其在心力衰竭中的地位值得进一步深入研究。

本实验一并探讨了雄激素对内皮素的影响。结果发现生理量的睾酮对血浆 ET-1 水平并无明显影响。在心力衰竭的进展过程中,心肌的代偿表现为 ANP 分泌的增加,而晚期心衰心肌细胞严重受损表现为 ANP 分泌的降低^[7]。本研究结果显示生理量 T 替代治疗可部分对抗 ANP 的降低,可能反映了生理量 T 对于扩心病慢性心力衰竭雄性大鼠的心脏保护作用,其保存了更多的心肌及其功能贮备。在本研究室已经完成的实验显示生理量 T 减少扩心病慢性心力衰竭雄性大鼠心肌细胞凋亡。

[参 考 文 献]

- [1] 周强,刘静华,柯俊,等. 雄激素对慢性心力衰竭雄性大鼠心脏功能的影响[J]. 中国现代医学杂志, 2005, 15(14):2104-2106
- [2] Malkin CJ, Pugh PJ, West JN, et al. Testosterone therapy in men with moderate severity heart failure: a double-blind randomized placebo controlled trial[J]. Eur Heart J, 2006, 27(1):57-64.
- [3] 陈焕芹,谭洪勇,刘向群,等. 老年心力衰竭患者血清炎症因子的变化[J]. 中国病理生理杂志, 2006, 22(10):1979-1982.
- [4] Anker SD, Ponikowski PP, Clark AL, et al. Cytokines and neurohormones relating to body composition alterations in the wasting syndrome of chronic heart failure[J]. Eur Heart J, 1999, 20(9):683-693.
- [5] D'Agostino P, Milano S, Barbera C, et al. Sex hormones modulate inflammatory mediators produced by macrophages[J]. Ann N Y Acad Sci, 1999, 876(2):426-429.
- [6] Hong CY, Park JH, Ahn RS, et al. Molecular mechanism of suppression of testicular steroidogenesis by proinflammatory cytokine tumor necrosis factor alpha[J]. Mol Cell Biol, 2004, 24(7):2593-2604.
- [7] van den Berg MP, Tjeerdsma G, Jan de Kam P, et al. Longstanding atrial fibrillation causes depletion of atrial natriuretic peptide in patients with advanced congestive heart failure[J]. Eur J Heart Fail, 2002, 4(3):255-262.