

Effects of testosterone on left ventricular systolic function in rats with chronic heart failure

LIU Jing-hua¹, DENG You-bin^{1*}, YANG Hao-yi¹, BI Xiao-jun¹,
ZHANG Qing-yang¹, CHANG Qing¹, LI Chun-lei¹, ZHOU Qiang²

(1. Department of Medical Ultrasound, 2. Department of Cardiology, Tongji Hospital, Tongji Medical College, Huazhong University of Science and Technology, Wuhan 430030, China)

[Abstract] **Objective** To study the left ventricular systolic function in rats with chronic heart failure before and after administration. **Methods** Twelve control rats, 20 rats with chronic heart failure, 20 orchietomy rats admitted with adriamycin and 20 orchietomy (ORX+AR) rats admitted with adriamycin and testosterone (ORX+AR+T) were involved in the study. The left ventricular diameter (LV), the left ventricular end-diastolic volume (EDV), fractional shortening (FS) were measured through M-mode echocardiography. The longitudinal systolic velocity (Vs) of the two points at the mitral annulus (posteroseptal and lateral wall) was measured by QTVI. **Results** The LV and EDV of AR and AR+ORX groups were higher than those of the control group ($P<0.05$). The FS and Vs were significantly different between ORX+AR rats and ORX+AR+T rats ($P<0.05$). **Conclusion** Testosterone could improve left ventricular systolic function in rats with CHF which testosterone was decreased. QTVI is a new method to assess cardiac function in rats.

[Key words] Testosterone; Quantitative tissue velocity imaging; Ventricular function, left; Animals, laboratory

超声心动图观察雄激素替代治疗改善慢性心力衰竭雄性大鼠左室收缩功能

刘静华¹, 邓又斌^{1*}, 杨好意¹, 毕小军¹, 张清阳¹, 常青¹, 黎春雷¹, 周强²

(1. 华中科技大学同济医学院附属同济医院超声影像科, 2. 心内科, 湖北 武汉 430030)

[摘要] **目的** 自身对照研究雄激素替代治疗前后大鼠的心功能状况。**方法** 二维超声结合定量组织速度成像(QT-VI)技术检测四种不同处理(对照组、阿霉素组、睾丸切除+阿霉素组和睾丸切除+阿霉素+雄激素组)大鼠的心脏, 测量常用心功能参数, 脱机分析后室间隔和左室侧壁二尖瓣环处的速度曲线, 记录收缩期峰值速度 Vs。**结果** 睾丸切除+阿霉素+雄激素组左室短轴缩短率和二尖瓣环平均峰值速度比睾丸切除+阿霉素组增高, 差异有显著性意义。**结论** 雄激素补充治疗能够改善激素水平低下的充血性心力衰竭大鼠的左室收缩功能。定量组织速度成像是评价大鼠心血管疾病模型心功能的一个新方法。

[关键词] 睾酮; 定量组织速度成像; 心室功能, 左; 动物, 实验

[中图分类号] Q95-33; R540.45 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1003-3289(2005)02-0173-03

目前慢性心力衰竭的治疗取得了很大进展, 但死亡率仍然很高。已有的研究报告显示, 心衰病人雄激素水平较低^[1]。男性冠心病患者服用睾酮能缓解心绞痛症状, 即刻改善运动诱发的心肌缺血^[2]。为研究雄激素对男性慢性心力衰竭患者心脏的作用。本实验通过切除大鼠睾丸造成雄激素水平降

低, 再注射阿霉素制备大鼠慢性心功能不全模型, 应用传统超声心动图结合新近发展的定量组织速度成像技术评价雄激素替代治疗前后大鼠的心功能状况, 同时探讨定量组织速度成像技术在小动物实验研究中的应用价值。

1 材料和方法

1.1 实验动物 雄性 SD 大鼠 72 只(华中科技大学同济医学院实验动物中心提供), 体重(230±20) g, 随机分为对照组(Control) $n=12$ 、阿霉素组(AR) $n=20$ 、睾丸切除+阿霉素组(ORX+AR) $n=20$ 、睾丸切除+阿霉素+雄激素组(ORX+AR+T) $n=20$ 。

1.2 动物模型制备 雄性大鼠睾丸切除术(Orchiectomy,

[作者简介] 刘静华(1969—), 女, 吉林人, 在读博士(导师: 邓又斌)。研究方向: 心血管疾病超声诊断。

[通讯作者] 邓又斌, 华中科技大学同济医学院附属同济医院超声影像科, 430030。E-mail: youdeng@public.wh.hb.cn

[收稿日期] 2004-11-04 **[修回日期]** 2004-12-27

ORX)及雄激素替代治疗:在20%乌拉坦和6%水合氯醛1:1按0.5 ml/100 g 体重腹腔注射麻醉下,于大鼠阴囊行纵形切口,丝线结扎主要血管,摘除双侧的睾丸。术后两天起给予丙酸睾酮1.75 mg/kg 皮下注射,每两天一次。慢性心功能不全模型制备:腹腔注射盐酸阿霉素(AR)(深圳万乐药业公司),每次剂量为2.5 mg/kg 体重,每五天一次,累积剂量达15 mg/kg,最后一次用药后观察三周,即成慢性心功能不全模型。对照组和阿霉素组施行假手术,对照组予等量生理盐水腹腔注射。

1.3 超声检查 所有大鼠均于实验前及实验结束时做超声心动图检查。大鼠用20%乌拉坦和6%水合氯醛1:1按0.5 ml/100 g 体重腹腔内注射麻醉后,剪毛,仰卧位固定,连接心电图。使用GE公司的Vivid 7 心脏超声诊断仪,探头选用10S,图像深度调至2.0~4.0 cm,频率为11.4 MHz,尽量减小扇扫角度。先进行常用二维切面超声心动图检查,通过M型超声获得左室壁厚度、左室内径、左室舒张末容积和左室短轴缩短率(FS);再记录心尖四腔切面的定量组织速度成像图像,脱机分析后间隔和左室侧壁所对应的二尖瓣瓣环处的收缩期峰值速度(Vs)。

1.4 血浆睾酮水平的测定 实验结束时处死大鼠,取腔静脉血乙二胺四乙酸二钾(EDTA-K₂)抗凝,离心分离血浆,采用双抗体放射免疫法测血浆睾酮浓度。标记化合物为¹²⁵I-T,用γ-计数器测定沉淀部分的放射强度(睾酮放射免疫试剂盒购自北京东雅医学生物工程有限公司)。先用双管法以睾酮标准物浓度及其计数率绘制标准曲线,然后根据标准曲线双管法测量各标本睾酮浓度。

1.5 统计学处理 利用SPSS 10.0 统计分析软件进行分析,各项计量数据以表示,同组处理前后均数比较采用配对t 检验,不同组别间的均数比较采用ANOVA 检验,死亡率的比较采用χ² 检验,以P<0.05 为差异有显著性意义。

2 结果

2.1 实验结束时各组大鼠基本情况(表1) 阿霉素组和睾丸切除+阿霉素组大鼠血浆睾酮水平下降非常明显,与对照组相比差异有显著性,睾丸切除+阿霉素+雄激素组大鼠血浆睾酮浓度略高于对照组,差异无显著性。阿霉素组和睾丸切除+阿霉素组大鼠出现中毒症状,表现为精神差,活动少,进食减少,皮毛松软,个别出现脱毛及体重减轻,睾丸切除+阿霉素+雄激素组大鼠与对照组大鼠一般情况均较好。阿霉素组、睾丸切除+阿霉素组和睾丸切除+阿霉素+雄激素组的死亡率分别为35%、42%和30%,三组间差异没有显著性意

义,与正常组相比,差异均有显著性意义。

表1 实验结束时各组大鼠基本情况

指标	Control	AR	ORX+AR	ORX+AR+T
生存例数	12	13	12	14
实验前体重(g)	220±20	240±15	230±18	230±10
实验结束体重(g)	350±25 *	304±38 *	291±40 *	297±46 *
血浆睾酮(ng/dl)	536.6±228	175.5±86▲	1.5±1.3▲	596.6±249

Control,对照组;AR,阿霉素组;ORX+AR,睾丸切除+阿霉素组;ORX+AR+T,睾丸切除+阿霉素+雄激素组,▲与对照组比较 P<0.05, * 实验前后自身比较 P<0.05

2.2 超声检测结果(图1,表2) 实验前大鼠各参数各组间差异无显著性。随着鼠龄的增加,对照组大鼠左室壁厚度有一定程度的增加,但统计学上无显著意义;左室内径、左室舒张末容积和二尖瓣环平均峰值速度明显增加,差异有显著性;FS 实验前后无显著性差异。阿霉素组和睾丸切除+阿霉素组左室内径和左室舒张末容积增加、FS 减低,实验前后差异均有显著性,与对照组相比差异也有显著性,二尖瓣环平均峰值速度略减低,实验前后差异无显著性,两组间各参数差异无显著性;睾丸切除+阿霉素+雄激素组大鼠实验前后 FS 无显著性改变,左室内径和左室舒张末容积增大,二尖瓣环平均峰值速度增加,与实验前比较差异均有显著性,与睾丸切除+阿霉素组比较,左室内径和左室舒张末容积无显著性差异,FS 和二尖瓣环平均峰值速度增高,差异有显著性。雄激素补充治疗不能抑制心腔增大,却使心功能明显改善。

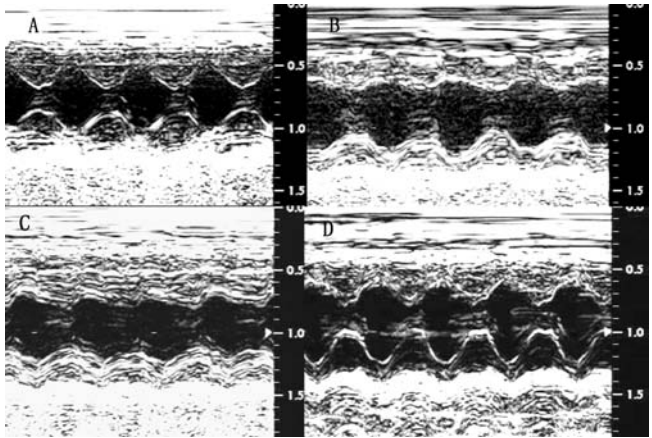


图1 各组大鼠左室M型超声 A.对照组:FS=62.9%;B.阿霉素组:FS=43.4%;C.睾丸切除+阿霉素组:FS=32.2%;D.睾丸切除+阿霉素+雄激素组:FS=64.5%

表2 实验各组大鼠超声参数比较表

分组	n	IVS(mm)		PW(mm)		LV(mm)		EDV(ml)		FS(%)		MV _s (cm/s)	
		pre	post	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post	pre	post
Control	12	1.3±0.1	1.5±0.1	1.4±0.1	1.6±0.2	4.8±0.6	5.5±0.5 *	0.38±0.12	0.45±0.11 *	59.9±2.4	62.8±1.9	2.78±0.81	3.30±0.96 *
AR	13	1.4±0.1	1.5±0.1	1.4±0.2	1.6±0.2	4.8±0.5	6.4±0.4*#	0.37±0.15	0.62±0.10*#	59.5±2.9	53.9±3.5*#	2.77±0.84	2.68±0.82 #
ORX+AR	12	1.4±0.1	1.5±0.2	1.4±0.2	1.6±0.1	4.8±0.5	6.5±0.5*#	0.38±0.13	0.65±0.13*#	60.3±2.2	50.4±11.7*#▲	2.86±0.85	2.52±0.90#▲
ORX+AR+T	14	1.4±0.1	1.5±0.1	1.4±0.1	1.7±0.2	5.0±0.6	6.2±0.7 *	0.37±0.12	0.58±0.18 *	60.2±2.0	60.3±7.2	2.88±0.84	3.44±0.88 *

n:样本量,IVS:室间隔厚度,PW:左室后壁厚度,LV:左心室舒张末内径,EDV:左心室舒张末容积,FS左室短轴缩短率,MVs:后间隔和左室侧壁二尖瓣环水平平均峰值速度。pre:处理前,post:实验结束时。* 与自身第一次比较 P<0.05, # 与对照组比较 P<0.05, ▲与 ORS+AR+T 组比较 P<0.05

3 讨论

心血管系统疾病的性别差异问题早为人们所关注。Marsh 等^[3]在离体心肌细胞发现功能性雄激素受体,提示雄激素调控心肌细胞的功能。雄激素在心血管疾病中的角色,既往多认为是负性作用,这主要是由雌激素的保护作用推论而来;再者滥用雄激素的运动员时有报道出现心脏病。但目前有报道^[2]雄激素的正面作用,提示雄激素并不总是导致负面效应,至少对雄性个体是如此。同时,我们发现,雌激素的心脏保护作用也多是在雌性个体中获得。因此我们大胆假设:雌激素对雌性个体心脏功能有保护作用,而雄激素对雄性个体心脏功能具有保护作用。大量动物模型及临床研究证实慢性心力衰竭时,体内雄激素水平明显下降。虽然原因尚不清楚,但雄激素水平的下降却可能对心功能产生负面作用。有报道^[4]雄性大鼠睾丸切除后心功能下降,而雄激素补充治疗明显改善于心功能。关于雄激素对于慢性心功能不全时的心功能的影响尚未见报道。

阿霉素是一种广谱抗肿瘤抗生素,具有较强的剂量依赖性心脏毒性,可导致伴有严重充血性心力衰竭的心肌病,能够成功诱导扩张型心肌病动物模型^[5]。本研究阿霉素组左室内径、左室舒张末容积增大,左室短轴缩短率低于对照组,说明阿霉素诱导充血性心力衰竭模型成功。睾丸切除+阿霉素组上述参数与阿霉素组差异无显著性,与对照组间差异有显著性,说明雄激素缺乏使雄性大鼠左室收缩功能进一步下降。睾丸切除+阿霉素+丙酸睾酮组左室短轴缩短率高于睾丸切除+阿霉素组,说明雄激素补充治疗能够抑制阿霉素诱导的雄性大鼠的左室收缩功能下降。Golden 等^[6]的研究发现:睾丸切除大鼠给予雄激素治疗使心肌钙调节蛋白的表达增加从分子水平证明了本研究的结论。

雄激素的作用比较广泛,除了作用于生殖系统及维持第二性征外,还具有调节血脂代谢,调节免疫功能及炎性反应的作用。雄激素抑制阿霉素诱导充血性心力衰竭的作用可能得益于其多方面的作用。Marsh 等^[3]认为雄激素通过激素受体依赖机制刺激心肌细胞的肥大,本研究结果的具体机制尚有待研究。

QTVI 技术是一种超高频帧组织速度显像技术(帧频可达 190 帧/秒以上,时间分辨率可小于 5 ms),可以精确地捕获组织运动速度变化和时相变化,实现了超声系统实时获取心肌各节段运动的全部信息,是一种能定量定位检测心功能的新方法。该技术已成功应用于肥厚型心肌病和心肌梗死患者心功能的研究^[7,8]。QTVI 技术还有相对不受组织回波信号幅度及前方组织声衰减的影响及对心功能评价不依赖于对心内膜的勾划的优点。本实验研究使用的大鼠心脏小,声窗

更小,心率又高(大鼠心率 350 次/分以上),二维超声心动图的图像质量较差,心内膜边界显示欠清,而 QTVI 技术显示出优越性,Gulati 等^[9]认为二尖瓣环运动反映左室整体功能。本研究中睾丸切除+阿霉素+丙酸睾酮组大鼠二尖瓣环收缩期平均峰值速度大于睾丸切除+阿霉素组,差异有显著性意义,与左室短轴缩短率得出相同结论,显示出 QTVI 技术在小动物实验研究中的可行性和准确性。

[参考文献]

[1] Moriyama Y, Yasue H, Yoshimura M, et al. The plasma levels of dehydroepiandrosterone sulfate are decreased in patients with chronic heart failure in proportion to the severity[J]. J Clin Endocrinol Metabol, 2000, 85(5):1834-1840.

[2] Rosano GM, Leonardo F, Pagnotta P, et al. Acute anti-ischemic effect of testosterone in men with coronary artery disease[J]. Circulation, 1999, 99(13):1666-1670.

[3] Marsh JD, Lehmann MH, Ritchie RH, et al. Androgen receptors mediate hypertrophy in cardiac myocytes[J]. Circulation, 1998, 98(3):256-261.

[4] Schaible TF, Malhotra A, Ciambone G, et al. The effects of gonadectomy on left ventricular function and cardiac contractile proteins in male and female rats[J]. Circ Res, 1984, 54(1):38-49.

[5] Schwarz ER, Pollick C, Dow J, et al. A small animal model of non-ischemic cardiomyopathy and its evaluation by transthoracic echocardiography[J]. Cardiovasc Res, 1998, 39(1):216-223.

[6] Golden KL, Marsh JD, Jiang Y. Castration reduces mRNA levels for calcium regulatory proteins in rat heart[J]. Endocrine, 2002, 19(3):339-344.

[7] Liu YN, Deng YB, Li XL, et al. Myocardial velocity gradient in evaluating regional left ventricular systolic function in patients with hypertrophic cardiomyopathy[J]. Chin J Med Imaging Technol, 2004, 20(3):411-413.

刘娅妮, 邓又斌, 李秀兰, 等. 心肌速度梯度对肥厚型心肌病左室局部收缩功能的研究[J]. 中国医学影像技术, 2004, 20(3):411-413.

[8] Liu HY, Deng YB, Chang Q, et al. Analysis of myocardial velocity gradient in patients with myocardial infarction by quantitative tissue velocity imaging[J]. Chin J Med Imaging Technol, 2003, 19(12):1650-1652.

刘红云, 邓又斌, 常青, 等. 定量组织速度成像对心肌梗死患者心肌速度梯度的研究[J]. 中国医学影像技术, 2003, 19(12):1650-1652.

[9] Gulati VK, Katz WE. Mitral annular descent velocity by tissue Doppler echocardiography as an index of globe left ventricular function[J]. Am J Cardiol, 1996, 77(11):979-984.