

• 基础研究 •

雄激素对高盐所致左室肥厚的影响及坎地沙坦的干预作用

谈世进, 胡剑平

【摘要】 目的 探讨高盐饮食对大鼠心脏损伤过程中雄激素所发挥的作用及机制, 以及 I 型血管紧张素 II 受体(AT1R)拮抗剂的干预作用。方法 将 Wistar 大鼠 40 只随机分为假手术组(Sham)、去势组(Cas)、睾酮补充组(Tes)和坎地沙坦干预组(Cand), 每组 10 只。各组均以 8%NaCl 高盐颗粒饲料喂食; Sham 组施以假手术, Cas、Tes 及 Cand 组均施以去势手术。Tes 及 Cand 组予以十一酸睾酮 4 mg/(kg·2week)肌注, Cand 组同时予以坎地沙坦 3 mg/(kg·d)胃灌, 持续 8 周。分别在实验前、实验 4 周、8 周后测定尾动脉血压; 8 周后称左心室重量(LVW), 计算左室/体重指数(LVI), 观察心肌病理改变, 放射免疫法测定血清睾酮浓度。结果 高盐喂养 8 周后, 较基础血压比, Sham 和 Tes 组明显升高(均 $P < 0.01$); Cand 组或 Cas 组与 Sham 组比较, 明显降低(均 $P < 0.01$)。Cand 或 Cas 组 LVW 和 LVI 与 Sham 组比较均明显降低(均 $P < 0.01$); 与 Sham 组心肌病理改变比较, Cand 或 Cas 组心肌形态完整清晰。结论 雄激素参与了高盐喂食导致的血压升高以及心肌肥厚; 在高盐喂食大鼠, AT1R 拮抗剂干预能有效降低雄激素所诱导的血压升高和心肌肥厚。

【关键词】 高盐; 雄激素; 肥大, 左心室; 血管紧张素 II 受体拮抗剂

【中图分类号】 R335

【文献标识码】 A

【文章编号】 1671-5403(2010)04-04

Roles of androgen in high-salt diet induced left ventricular hypertrophy and interventional effect of candesartan

TAN Shijin, Hu Jianping

Department of Gerontology, Affiliated Sixth People's Hospital, Shanghai Jiaotong University, Shanghai 200233, China

【Abstract】 Objective To demonstrate the roles of androgen in the heart injury of high-salt fed male rats, and to explore the interventional effect of angiotensin II receptor type 1(AT1R) antagonist. Methods Forty Wistar rats were randomly assigned to sham-operation (Sham) group, castration (Cas) group, testosterone (Tes) supplement group, and candesartan (Cand) intervention group, with 10 in each group. All animals fed high-salt diet (8% NaCl) for 8 weeks. Animals in Sham group received sham operation, while those in Cas, Tes and Cand groups received surgical castration. Intramuscular injection of testosterone 4 mg/(kg·2week) was performed in Tes and Cand groups, and intragastric administration of candesartan 3 mg/(kg·d) in Cand group. The blood pressure of tail artery was measured at baseline, 4 and 8 weeks after experiment respectively. At 8 weeks after experiment, the left ventricular weight (LVW), and left ventricle/body mass index (LVI) were determined; pathological changes in myocardium were observed; and serum testosterone concentration was measured by RIA. Results After 8 weeks of high-salt diet feeding, compared with the basic level, the blood pressure increased significantly in Sham and Tes groups ($P < 0.01$); compared with Sham group, it decreased significantly in Cand or Cas group ($P < 0.01$). LVW and LVI in Cand or Cas group decreased significantly compared with Sham group ($P < 0.01$). Compared with Sham group, the morphological features of myocardium in Can or Cas group remained and intact and clear. Conclusion Androgen plays a role in high-salt-induced left ventricular hypertrophy and blood pressure elevation. AT1R antagonist can exert some interventional effects.

【Key words】 high-salt; androgen; left ventricular hypertrophy; angiotensin II receptor antagonist

雄激素作为男性性激素在其生殖之外的功能 研究得到日益重视。研究发现雄激素受体存在于

心肌、血管平滑肌等组织^[1],广泛参与了多种心血管疾病的发生发展,是男性心血管疾病高于绝经前同龄女性的重要原因。近来有研究显示雄激素在左室肥厚等靶器官损伤过程中有明显作用,且与激活肾素-血管紧张素系统(renin-angiotensin system, RAS)有关^[1,2]。高盐饮食作为一种常见的环境影响因素,不仅能升高血压,更重要的是其作为一种独立的危险因子造成靶器官的损伤,其中对心脏损伤主要包括左室肥厚的产生,长期可导致心脏功能的失代偿,可能与循环或局部RAS有关^[3,4]。雄激素是否通过RAS的调节对高盐饮食所致的左室肥厚有协同促进作用,目前尚缺乏相关研究。本实验旨在研究高盐喂食导致的心室肥厚过程中,雄激素所起到的作用,并观察Ⅰ型血管紧张素Ⅱ受体(angiotension Ⅱ receptor type 1, AT1R)拮抗剂的干预效果。

1 材料与方法

1.1 实验动物 清洁级雄性 Wistar 大鼠 40 只,体重(200±10)g,由中科院动物实验中心提供。

1.2 主要试剂 睾酮放免试剂盒(北京北方生物技术有限公司);十一酸睾酮注射液(250 mg/2 ml,浙江仙居制药股份有限公司);坎地沙坦(8 mg,天津武田制药)。

1.3 主要仪器 GC-1200 型 γ 放射免疫计数器(中国科技大学中佳光电仪器公司),RBP-1 型尾动脉血压计(北京中日友好临床研究所),AB104-N 型 1/万电子天平(Metter-Toledo 上海公司),自动平衡式离心机(北京医用离心机厂)。

1.4 实验方法

1.4.1 实验模型与分组 将 40 只雄性 Wistar 大鼠随机分为 4 组:假手术组(Sham)、去势组(Cas)、睾酮补充组(Tes)、坎地沙坦干预组(Cand),每组 10 只。全部适应性饲养 2 周后开始实验。在氯胺酮 2 mg/kg 剂量腹腔注射麻醉下,后 3 组大鼠碘酊、乙醇消毒阴囊皮肤,纵隔正中切开一纵行切口,剪开鞘膜后,分别将双侧睾丸与附睾分离并且切除睾丸,然后把附睾放回阴囊,缝合切口;Sham 组找出双侧睾丸与附睾分离但不切除,然后放回阴囊。

1.4.2 动物饲养与给药 各组均以 8% NaCl 颗粒饲料饲喂,每只大鼠等量喂食,自由饮用自来水;Tes 组、Cand 组分别给予十一酸睾酮 4 mg/(kg·2 week)玉米油稀释后肌肉注射,其他组等量玉米油肌注。Cand 组同时给予坎地沙坦片 3 mg/(kg·d)蒸馏水混匀灌胃,其他组等量蒸馏水灌胃。

1.4.3 大鼠血压测定 实验前、高盐饲料喂养 4 和

8 周后,用尾动脉压法监测各组动物清醒状态下的血压,连续测定 3 次,取平均值。

1.4.4 取血样及睾酮测定 高盐饲料饲喂 8 周后取材。用氯胺酮腹腔注射麻醉后,剖开胸腔,暴露心脏并取血,分别注入相关试管内,离心,分离血清,取上清分装, -80℃ 冰箱冻存备用;将待测血清样本常温下复融,采用碘标记的放免测定法测定血清睾酮浓度,严格按照试剂盒说明操作。

1.4.5 左室质量及左室/体重指数测定 取出心脏在碎冰上操作。去除心房、大血管及右室游离壁,将左心室及室间隔准确称量作为左室重量,计算其与体重之比,即左室/体重指数。

1.4.6 心肌组织形态 用恒温冰冻切片机将心肌组织切成 10 μ m 薄片,HE 染色;在高倍镜下观察心肌形态改变。

1.5 统计学处理 实验结果计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,多组间比较采用单因素方差分析,方差齐性用 SNK 检验,方差不齐用 t 检验。所有实验结果用 SPSS13.0 版统计软件处理。

2 结果

2.1 各组大鼠血清睾酮浓度变化 Cas 组与 Sham 组比较,血清睾酮浓度明显降低[(0.05±0.01) vs (0.25±0.02); $P < 0.01$];而 Tes 组(0.24±0.06)和 Cand 组(0.26±0.04)与 Sham 组比较,差异无统计学差异。

2.2 各组大鼠尾动脉血压的比较 各组基础血压值无差异,经 4、8 周高盐喂食后,Sham 与 Tes 组较基础血压明显升高($P < 0.01$);与 Sham 组比较,Cas 和 Cand 组血压下降($P < 0.05$);但 Cand 组下降幅度较 Cas 组小(表 1)。

表 2 各组大鼠尾动脉血压的比较(mmHg, $\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	基础	4 周	8 周
假手术组	117±6	134±7*	134±4*
去势组	117±5	122±7*	124±6*
睾酮补充组	118±8	132±5*	135±3*
坎地沙坦干预组	117±6	130±4*	129±3*

注:与假手术组比较, * $P < 0.05$;与基础血压比较, * $P < 0.01$

2.3 各组左室质量和左室/体重指数 与 Sham 组比较,Cas 组左室质量和左室/体重指数明显降低($P < 0.01$),Tes 组与 Sham 组无差异,Cand 组类似于 Cas 组,左室质量和左室/体重指数明显降低($P < 0.01$;表 2)。

表2 各组左室质量和左室(mg)/体重(g)指数比较 ($\bar{x} \pm s$, $n=10$)

组别	左室质量(mg)	左室/体重指数
假手术组	855±31	2.84±0.22
去势组	708±39*	1.98±0.24*
睾酮补充组	867±28	2.87±0.20
坎地沙坦干预组	721±26*	2.11±0.23*

注:与假手术组比较,* $P<0.01$

2.4 各组心肌形态学改变 心肌纵切面,Sham或Tes组存在不同程度的心肌细胞不均匀肥大和空泡变形,细胞核异形,心肌细胞排列紊乱,肌质纤维溶解断裂;Cas或Cand组细胞形态基本正常,心肌细胞排列较整齐,未见明显纤维溶解(图1)。

3 讨论

高盐饮食是一个重要的心血管环境影响因素。研究证实,高盐饮食作为一个独立的危险因素,能够造成靶器官的损伤,这种作用不完全依赖于血压的改变^[5]。本研究中假手术或补充睾酮大鼠较去势大鼠的血压明显升高,左室质量、左室/体重指数有明显增加,并且病理提示心肌细胞肥大变性,证实了高盐对雄性大鼠的心肌损伤作用。

在高盐所诱导的左室肥厚发生过程中,雄激素发挥了重要作用。去势可以降低左室肥厚及心肌损

伤的发生,而重新予以睾酮则这种保护作用消失。Marsh等^[1]报道睾酮可使培养的大鼠心肌细胞产生明显的肥大反应,而预先给予雄激素受体拮抗剂则可以消除这种反应。说明了雄激素通过受体介导心肌肥厚的发生,与本研究结果一致。国内刘静华等^[6]报道雄激素能引起阿奇霉素所致大鼠心衰模型室间隔增厚等左室肥厚现象的发生。国外研究者各种心室肥大的动物模型中,包括运动模型、GC-A KO心肌肥厚小鼠以及 β_e -肾上腺素受体转基因小鼠模型等,都发现雄激素能够促进心肌细胞肥大或纤维的增生,去势或雄激素受体阻断能降低心肌肥厚的发生^[7-9]。本研究从高盐所致心肌肥厚模型再次论证了此观点,在Sham组或Tes组大鼠雄激素存在的前提下,高盐饮食明显地导致血压的升高以及心肌损伤;而在Cas组高盐的这种损伤作用明显减轻。但在高盐饮食等危险因素作用下,雄激素所诱导的心肌肥大是否为一种对危险因子的保护性反应尚不明确。有研究显示雄激素增加心肌心房利尿钠肽表达、降低肌球蛋白重链 α -黑素细胞刺激激素(MSH)/ β -MSH比值,增加间质纤维化,加速了心肌重构的进程,不利于心脏功能的长期预后^[6-9]。但Nahrendorf等^[10]认为雄激素增加肌球蛋白重链 α -MSH含量,提高心肌收缩力,而并不增加胶原纤维Ⅲ等间质成分,长期作用有改善预后的作用。

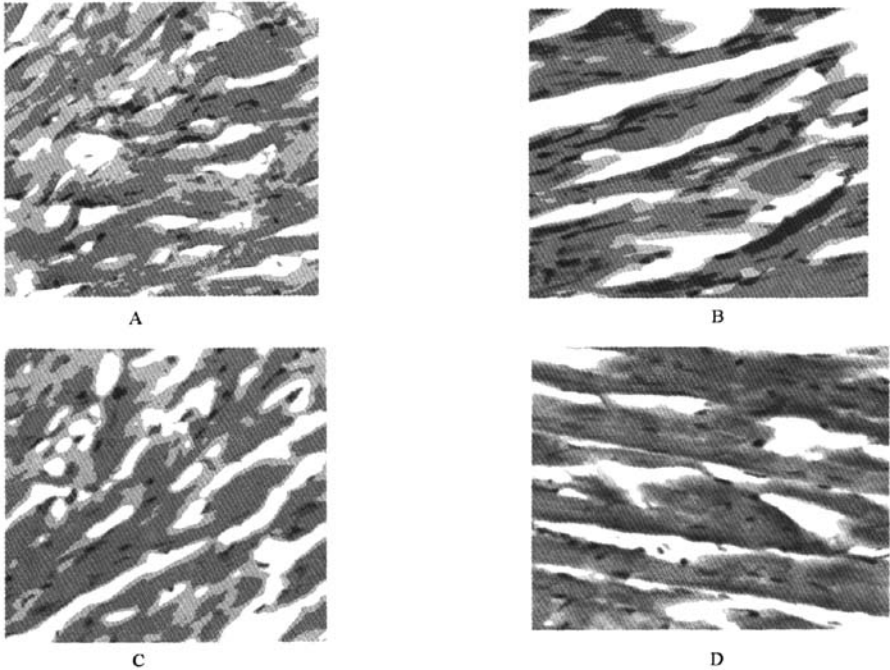


图1 心肌病理学改变
A:假手术组;B:去势组;C:睾酮补充组;D:坎地沙坦干预组

雄激素导致心肌肥厚的一个重要机制是 RAS-AT1R 介导作用。既往研究中发现雄激素可以激活肾素活性,促进血管紧张素 II 生成^[3],这可能是其导致血压升高和靶器官损害的重要原因。Rocha 等^[2]研究显示,雄激素同化类激素使心脏/体重比值增加,增强心肌局部 ACE 表达,促进胶原纤维 III 生成;氯沙坦可以阻断雄激素这种作用。Li 等^[8]在 GC-A KO 心肌肥厚小鼠中敲除 AT1R 基因后,睾酮对心肌细胞肥大及纤维化影响消失。Baltatu 等^[11]对 ren2 转基因小鼠进行研究,发现氟他胺可以降低血压,更重要的是降低血浆肾素浓度和活性,降低心室肥厚的发生。与我们既往研究相一致。本研究中予以坎地沙坦干预后心肌保护作用明显,与去势所达到的效果类似,说明雄激素在高盐情况下所产生的对心肌损伤作用很大一部分由血管紧张素 II-AT1R 介导的。另外一个有趣的现象是,坎地沙坦干预后也有血压的下降,但血压下降程度并没有去势明显,说明雄激素这种对心肌损伤作用并不完全依赖于血压的改变,可能与局部心肌 RAS 激活有关,这仍然有待进一步研究。雄激素导致心肌肥大的机制可能还包括睾酮通过非基因途径增加细胞内 Ca^{2+} 浓度^[12]以及与睾酮代谢相关的单氧化酶细胞色素 P450 等活性增高^[13]等多种机制有关。

高盐喂食不仅导致血压的升高,更主要的是其可以致心肌肥厚等靶器官损伤。雄激素参与了男性高盐饮食所致的心室肥厚和血压的升高;可能与激活循环或局部 RAS 有关;AT1R 拮抗剂具有良好的干预作用。

【参考文献】

- [1] Marsh JD, Lehmann MH, Ritchie RH, *et al.* Androgen receptors mediate hypertrophy in cardiac myocytes [J]. *Circulation*, 1998, 98(3): 256-261.
- [2] Rocha FL, Carmo EC, Roque FR, *et al.* Anabolic steroids induce cardiac renin-angiotensin system and impair the beneficial effects of aerobic training in rats [J]. *Am J Physiol Heart Circ Physiol*, 2007, 293(6): 3575-3583.
- [3] 胡剑平, 谈世进, 丁在威. 雄激素在高盐引发高血压中的作用 [J]. *中华高血压杂志*, 2008, 16(11): 991-993.
- [4] 余毅, 吴可贵. 坎地沙坦对盐负荷高血压大鼠肾脏肾素-血管紧张素系统表达的影响 [J]. *中国药理学通报*, 2007, 23(6): 785-790.
- [5] 黄燕, 汪家瑞, 朱文玲, 等. 高盐饮食对大鼠左室肥厚的影响 [J]. *高血压杂志*, 2004, 12(3): 242-246.
- [6] 刘静华, 邓又斌, 杨好意, 等. 超声心动图观察雄激素对慢性心力衰竭大鼠左心室收缩功能的影响 [J]. *中华超声影像学杂志*, 2005, 14(10): 87-90.
- [7] Tagarakis CV, Bloch W, Hartmann G, *et al.* Anabolic steroids impair the exercise induced growth of the cardiac capillary bed [J]. *Int J Sports Med*, 2000, 21(5): 412-418.
- [8] Li Y, Kishimoto I, Saito Y, *et al.* Androgen contributes to gender-related cardiac hypertrophy and fibrosis in mice lacking the gene encoding guanylyl cyclase-A [J]. *Endocrinology*, 2004, 145(2): 951-958.
- [9] Gao XM, Agrotis A, Autelitano DJ, *et al.* Sex hormones and cardiomyopathic phenotype induced by cardiac beta 2-adrenergic receptor overexpression [J]. *Endocrinology*, 2003, 144(9): 4097-4105.
- [10] Nahrenndorf M, Frantz S, Hu K, *et al.* Effect of testosterone on post-myocardial infarction remodeling and function [J]. *Cardiovasc Res*, 2003, 57(2): 370-378.
- [11] Baltatu O, Cayla C, Iliescu R, *et al.* Abolition of end-organ damage by antiandrogen treatment in female hypertensive transgenic rats [J]. *Hypertension*, 2003, 41(3): 830-833.
- [12] Vicencio JM, Ibarra C, Estrada M, *et al.* Testosterone induces an intracellular calcium increase by a non-genomic mechanism in cultured rat cardiac myocytes [J]. *Endocrinology*, 2006, 147(3): 1386-1395.
- [13] Thum T, Borlak J. Testosterone, cytochrome P450, and cardiac hypertrophy [J]. *FASEB J*, 2002, 16(12): 1537-1549.

(收稿日期: 2009-01-04; 修回日期: 2010-05-20)