

辛伐他汀对老年小鼠心肌缺血再灌注时氧化应激及细胞凋亡的影响[△]

廖小龙*,王首红,王中华,郭伟新,温剑艺,覃铁和[#](广东省人民医院/广东省医学科学院广东省老年医学研究所重症医学科,广州 510080)

中图分类号 R965;R972 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)19-2626-04

DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.19.11

摘要 目的:研究辛伐他汀对老年小鼠心肌缺血再灌注(IR)时氧化应激及细胞凋亡的影响。方法:取老年小鼠随机分为假手术组(磷酸盐缓冲液)、模型组(磷酸盐缓冲液)和辛伐他汀低、中、高剂量组(2.5、5、20 mg/kg),每组14只。各组小鼠于造模前ip相应药物7 d,每天1次。除假手术组外其余各组小鼠复制IR模型。检测各组小鼠心肌梗死面积比例、心肌细胞凋亡率、心肌组织中凋亡基因Caspase-3活性、Bax和Bcl-2蛋白表达、蛋白激酶B(Akt)磷酸化水平、血清中丙二醛(MDA)含量及超氧化物歧化酶(SOD)活性。结果:与假手术组比较,模型组小鼠心肌梗死面积比例、心肌细胞凋亡率、Caspase-3活性、Bax蛋白表达和MDA含量均增加,Bcl-2蛋白表达、Akt磷酸化水平和SOD活性均降低($P<0.01$);与模型组比较,辛伐他汀高剂量组小鼠心肌梗死面积比例、心肌细胞凋亡率、Caspase-3活性、Bax蛋白表达、MDA含量均降低,Bcl-2蛋白表达、Akt磷酸化水平、SOD活性均升高($P<0.01$);辛伐他汀低、中剂量组小鼠上述指标差异均无统计学意义($P>0.05$)。结论:辛伐他汀能显著减轻老年小鼠心肌IR损伤,其机制可能与抑制心肌细胞凋亡和氧化应激产物生成有关。

关键词 辛伐他汀;心肌缺血再灌注;氧化应激;心肌细胞凋亡;老年小鼠

Effects of Simvastatin on Oxidative Stress and Cell Apoptosis in Aged Mice with Myocardial Ischemia-reperfusion

LIAO Xiaolong, WANG Shouhong, WANG Zhonghua, GUO Weixin, WEN Jianyi, QIN Tiehe (ICU, Guangdong Geriatrics Institute Guangdong General Hospital/Guangdong Academy of Medical Sciences, Guangzhou 510080, China)

ABSTRACT OBJECTIVE: To study the effects of simvastatin on oxidative stress and cell apoptosis in aged mice with myocardial ischemia-reperfusion (IR). METHODS: Aged mice were randomly divided into sham operation group (phosphate buffer solution), model group (phosphate buffer solution) and simvastatin low-dose, medium-dose and high-dose groups (2.5, 5 and 20 mg/kg) with 14 mice in each group. Those groups were given relevant medicine intraperitoneally before modeling for 7 d, once a day. IR model was induced in those groups except for sham operation group. The area ratio of myocardial infarction, myocardial cell apoptosis rate, activity of myocardial tissue apoptosis gene Caspase-3, the protein expression of Bax and Bcl-2, Akt phosphorylation, serum content of MDA and activity of SOD were all detected. RESULTS: Compared with sham operation group, the area ratio of myocardial infarction, myocardial cell apoptosis rate, Caspase-3 activity, the protein expression of Bax and MDA content were all increased in model group, while the protein expression of Bcl-2, Akt phosphorylation and SOD activity were decreased ($P<0.01$). Compared with model group, the area ratio of myocardial infarction, myocardial apoptosis rate, Caspase-3 activity, the protein expression of Bax and MDA content were all decreased in simvastatin high-dose group, while the protein expression of Bcl-2, Akt phosphorylation and SOD activity were increased ($P<0.01$). There was no statistical significance in above indexes in simvastatin low-dose and medium-dose groups ($P>0.05$). CONCLUSIONS: Simvastatin can relieve myocardial IR injury in aged mice, and the mechanism of which may be associated with inhibiting myocardial cell apoptosis and the generation of oxidative stress.

KEYWORDS Simvastatin; Myocardial ischemia-reperfusion; Oxidative stress; Myocardial cell apoptosis; Aged mice

辛伐他汀属于他汀类药物,是一种3-羟-3-甲基戊二酰辅酶A(HMG-CoA)还原酶抑制剂,是目前临床上应用最广泛的一线降脂药物^[1]。已证实辛伐他汀除了具有降脂作用外,还具有其他如抗炎、抗氧化、改善血管内皮功能等非降脂依赖作用^[2]。并且辛伐他汀也广泛应用于心血管疾病的治疗,基础研究也表明辛伐他汀预处理能显著预防大鼠心肌缺血再灌注(IR)损伤^[3-4]。心肌IR损伤常见于冠状动脉旁路移植术及冠状

支架植入术中,是患者围术期死亡率增加的常见原因。以往对IR损伤的研究主要集中在年轻或成年动物模型上,却忽略了现实社会中老年人才是冠心病、心肌梗死等心血管疾病的主要发病人群^[5-6]。因此,本研究拟构建老年小鼠心肌IR模型,目的在于观察其心肌梗死面积比例、心肌细胞凋亡、氧化应激水平及辛伐他汀对IR损伤的保护作用。

1 材料

1.1 仪器

Gel doc 100凝胶成像系统(美国Bio-Rad公司);FACSCalibur流式细胞仪(美国BD公司);双垂直电泳仪、转印电泳仪(北京六一仪器厂);Infinite F50酶标仪(瑞士Tecan公司)。

1.2 药品与试剂

[△] 基金项目:广东省人民医院院内博士启动项目(No.2014b003)

* 医师,博士。研究方向:心肌缺血损伤。电话:020-83827812-71311。E-mail:liaoxiaolong223@163.com

[#] 通信作者:主任医师。研究方向:危重症。电话:020-83827812-71311

辛伐他汀片(杭州默沙东制药有限公司,批号:J20130068,规格:20 mg/片);兔抗小鼠凋亡基因 Bax、Bcl-2 单克隆抗体(美国 Epitomics 公司,批号:1017-1、1063-1);小鼠抗甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)单克隆抗体、半胱氨酸天冬氨酸蛋白酶 3(Caspase-3)检测试剂盒、末端脱氧核糖核苷酸转移酶介导的 dUTP 缺口末端标记测定法(TUNEL 法)检测试剂盒、二喹啉甲酸(BCA)蛋白定量试剂盒、辣根过氧化物酶(HRP)标记山羊抗兔和山羊抗小鼠免疫球蛋白 G(IgG)(H+L)(碧云天生物技术研究所,批号:AG019、C1206、C1089、P0012、A0208、A0216);丙二醛(MDA)、超氧化物歧化酶(SOD)(南京建成生物工程研究所);兔抗蛋白激酶 B(Akt)抗体(美国 Cell Signaling Technology 公司);2,3,5-氯化三苯基四氮唑(TTC,美国 Sigma 公司,批号:20140311,纯度:0.4%)。

1.3 动物

20 月龄 C57BL/6 小鼠,清洁级,♂,体质量(25.5±2.34)g,购自中山大学东校区动物实验中心,许可证号:SCXK(粤)2011-0029。室内温度控制在(23±2)℃,小鼠自由饮食和饮水。

2 方法

2.1 老年小鼠 IR 模型的复制

参考文献[7-8]中方法复制老年小鼠心肌 IR 模型:ip 0.1% 戊巴比妥麻醉小鼠后固定于解剖台,开胸,暴露心脏,并利用 10 号带针显微缝合线假性结扎左冠状动脉前降支 30 min 后,松开缝合线,再灌注 120 min,复制心肌 IR 模型。假手术组只穿线不结扎。结扎成功标志:结扎后心肌颜色变白,且心电图 II 导联或 aVR 导联 ST 段即刻抬高或倒置。再灌注 120 min 后,右心室取血,并处死小鼠,取心肌组织,置于-80℃冰箱保存待测。

2.2 分组与给药^[9]

取小鼠,随机分为假手术组、模型组和辛伐他汀低、中、高剂量组(2.5、5、20 mg/kg),每组 14 只。辛伐他汀的低、中、高剂量根据成人临床常用剂量换算成小鼠等效剂量的 10、40、160 倍,造模前 ip 相应药物 7 d,每天 1 次;假手术组和模型组小鼠 ip 等体积的磷酸盐缓冲液(PBS)。

2.3 观察指标

2.3.1 心肌梗死面积的测量 再灌注后迅速取下心脏,PBS 洗净,后注入 1% TTC,37℃染色 15 min。正常心肌染成红色,缺血心肌染成白色。拍照后经 Image J 图像分析,并计算得到心肌梗死面积比例(即心肌梗死面积占左心室的百分数)。

2.3.2 心肌细胞凋亡率的检测 严格按照 TUNEL 法检测试剂盒检测各组小鼠心肌细胞凋亡情况。正常心肌细胞核染成蓝色,凋亡心肌细胞核染成黄色或棕黄色。在光学显微镜下每张切片随机选取 5 个视野,记录视野内细胞数和凋亡细胞数,计算细胞凋亡率(AI):AI(%)=凋亡细胞数/细胞总数×100%。

2.3.3 心肌组织中 Caspase-3 活性的检测 取适量心肌组织搅碎成匀浆,4℃下 5 000 r/min(离心半径 15 cm)离心 10 min,加入裂解液,冰上裂解 30 min,1 000 r/min(离心半径为 7.5 cm)离心 10 min,吸取上清,即可获得总蛋白。按 Caspase-3 检测试剂盒说明书进行操作,检测各组小鼠心肌组织中 Caspase-3 活性(以光密度计)。

2.3.4 心肌组织中 Bax、Bcl-2 蛋白表达及 Akt 磷酸化水平的检测 采用 Western blot 法检测各组小鼠心肌组织中 Bax、Bcl-2 蛋白表达情况及 Akt 磷酸化水平。取适量心肌组织搅碎成匀浆,按“2.3.3”项下方法获得总蛋白。根据 BCA 试剂盒说明书对蛋白浓度进行测定。蛋白上样,进行十二烷基硫酸钠凝胶电泳 2~3 h,湿法转膜,加入一抗(Bax、Bcl-2、Akt、GAPDH,稀

释比例:1:100),4℃孵育过夜,三羟甲基氨基甲烷盐酸盐溶液(TBST)漂洗 2 次,每次 5 min;加入二抗[HRP 标记山羊抗兔和山羊抗小鼠 IgG(H+L),稀释比例:1:500],室温孵育 1~2 h, TBST 漂洗 2 次,每次 5 min;滴加增强化学发光(ECL)曝光液,在凝胶成像系统中曝光。用“Quantity One”软件对各抗体条带灰度值进行统计。以 Bax、Bcl-2 与 GAPDH 的比值表示 Bax、Bcl-2 蛋白表达量,以 p-Akt 及 Akt 的比值表示 Akt 磷酸化水平。

2.3.5 血清中 MDA 含量及 SOD 活性的检测 取各组小鼠血清,按试剂盒说明书操作检测其中 MDA 含量、SOD 活性。

2.4 统计学方法

数据通过 SPSS 17.0 进行统计分析。计量资料以 $\bar{x} \pm s$ 表示,用单因素方差分析或 *t* 检验进行比较;计数资料用 χ^2 检验进行比较。检验标准 $\alpha=0.05$, $P<0.05$ 表示差异有统计学意义。

3 结果

3.1 心肌梗死面积比例及心肌细胞凋亡率的比较

与假手术组比较,模型组小鼠心肌梗死面积比例和心肌细胞凋亡率明显增加($P<0.01$);与模型组比较,辛伐他汀高剂量组小鼠心肌梗死面积比例和心肌细胞凋亡率明显降低($P<0.01$),而辛伐他汀低、中剂量组上述指标差异无统计学意义($P>0.05$)。各组小鼠心肌梗死面积显微镜图见图 1,心肌梗死面积比例和心肌细胞凋亡率测定结果见表 1。

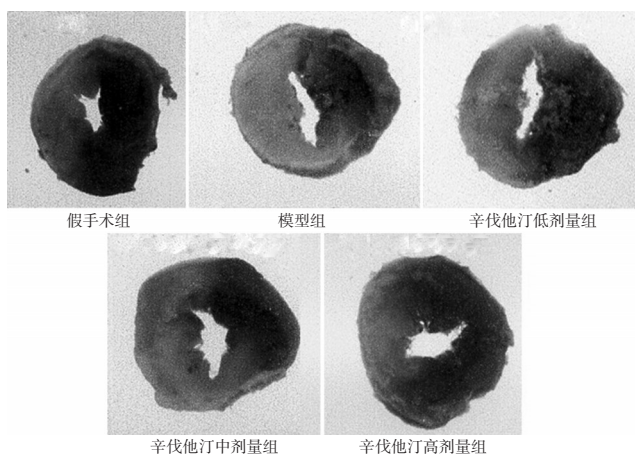


图 1 各组小鼠心肌梗死面积显微镜图

Fig 1 Microscopes of myocardial infarct area of mice in each group

表 1 各组小鼠心肌梗死面积比例、心肌细胞凋亡率测定结果($\bar{x} \pm s, n=14$)

Tab 1 Determination results of myocardial infarct area ratio and myocardial cell apoptosis rate of mice in each group($\bar{x} \pm s, n=14$)

组别	心肌梗死面积比例, %	心肌细胞凋亡率, %
假手术组	0	0.38±0.02
模型组	40.86±4.37*	45.21±4.33*
辛伐他汀低剂量组	39.51±3.29	40.41±0.78
辛伐他汀中剂量组	38.66±2.94	38.52±0.86
辛伐他汀高剂量组	30.64±1.30 [#]	9.63±0.90 [#]

注:与假手术组比较,* $P<0.01$;与模型组比较,[#] $P<0.01$

Note: vs. sham operation group,* $P<0.01$; vs. model group,[#] $P<0.01$

3.2 心肌组织中 Caspase-3 活性、Bax 和 Bcl-2 蛋白表达量及 Akt 磷酸化水平比较

与假手术组比较,模型组小鼠心肌组织中 Caspase-3 活性、Bax 蛋白表达量明显升高,Bcl-2 蛋白表达量和 Akt 磷酸化水平明显降低($P<0.01$);与模型组比较,辛伐他汀高剂量组小鼠心

肌组织中 Caspase-3 活性、Bax 蛋白表达量明显降低, Bcl-2 蛋白表达量和 Akt 磷酸化水平明显升高 ($P < 0.01$), 而辛伐他汀低、中剂量组上述指标差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。各组小鼠心肌细胞中 Caspase-3 活性、Bax 和 Bcl-2 蛋白表达量及 Akt 磷酸化水平测定结果见表 2。

表 2 各组小鼠心肌细胞中 Caspase-3 活性、Bax 和 Bcl-2 蛋白表达量及 Akt 磷酸化水平测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 14$)

Tab 2 Determination results of the activity of Caspase-3, protein expression of Bax and Bcl-2 and the phosphorylation of Akt in myocardial cells of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 14$)

组别	Caspase-3 活性(OD)	Bax/DAPDH	Bcl-2/DAPDH	p-Akt/Akt
假手术组	1.46 ± 0.20	0.27 ± 0.03	1.01 ± 0.10	1.02 ± 0.10
模型组	5.56 ± 0.43*	0.88 ± 0.09*	0.26 ± 0.03*	0.26 ± 0.03*
辛伐他汀低剂量组	5.18 ± 0.32	0.79 ± 0.08	0.30 ± 0.04	0.28 ± 0.03
辛伐他汀中剂量组	5.01 ± 0.29	0.75 ± 0.08	0.31 ± 0.04	0.29 ± 0.04
辛伐他汀高剂量组	2.49 ± 0.25 [#]	0.39 ± 0.04 [#]	0.49 ± 0.05 [#]	0.59 ± 0.06 [#]

注:与假手术组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.01$

Note: vs. sham operation group,* $P < 0.01$; vs. model group,[#] $P < 0.01$

3.3 血清中 MDA 含量、SOD 活性比较

与假手术组比较,模型组小鼠血清中 MDA 含量明显增加,SOD 活性明显降低 ($P < 0.01$);与模型组比较,辛伐他汀高剂量组小鼠血清中 MDA 含量明显减少,SOD 活性明显升高 ($P < 0.01$),而辛伐他汀低、中剂量组上述指标差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。各组小鼠血清中 MDA 含量和 SOD 活性测定结果见表 3。

表 3 各组小鼠血清中 MDA 含量和 SOD 活性测定结果 ($\bar{x} \pm s, n = 14$)

Tab 3 Determination results of serum content of MDA and activity of SOD of mice in each group ($\bar{x} \pm s, n = 14$)

组别	MDA,mmol/mg	SOD,U/mg
假手术组	54.87 ± 0.19	8.12 ± 0.82
模型组	104.23 ± 10.17*	2.46 ± 0.25*
辛伐他汀低剂量组	92.58 ± 7.39	2.83 ± 0.89
辛伐他汀中剂量组	89.73 ± 7.07	3.01 ± 0.75
辛伐他汀高剂量组	62.96 ± 6.54 [#]	7.83 ± 0.79 [#]

注:与假手术组比较,* $P < 0.01$;与模型组比较,[#] $P < 0.01$

Note: vs. sham operation group,* $P < 0.01$; vs. model group,[#] $P < 0.01$

4 讨论

心肌细胞凋亡受基因严密调控,其中 Bcl-2 家族在细胞凋亡过程中起着关键作用,是研究最为广泛的细胞凋亡蛋白家族。Bcl-2 是最主要的抗凋亡蛋白,可以通过与促凋亡蛋白 Bax 形成异源二聚体作用于线粒体外膜,影响线粒体释放 Caspase 进而影响细胞凋亡。Caspase 则是细胞凋亡的参与者,其中的凋亡执行因子 Caspase-3 处在 Caspase 级联反应的中下游,是细胞凋亡过程中的主要效应因子和凋亡途径的汇聚点。已有报道在 IR 中心肌细胞的凋亡伴随着 Caspase-3 活性显著上升、Bax 表达量的提高、Bcl-2 表达量的降低,当扭转此变化后,能一定程度减轻心肌细胞凋亡程度、改善心肌 IR 损伤^[10-11]。本研究结果表明,辛伐他汀(20 mg/kg)处理后,能显著降低 IR 老年小鼠心肌组织 Bax 表达及 Caspase-3 活性,提高 Bcl-2 表达,与车忠应等^[3]的观点一致。本研究中辛伐他汀 2.5、5 mg/kg 剂量对小鼠心肌组织中如上蛋白水平的表达以及 Caspase-3 活性也有不同程度的影响,但其与模型组比较的差异无统计学意义 ($P > 0.05$)。

心肌 IR 引起的心肌细胞凋亡受多种信号通路调控,PI3K/Akt 信号就是其中一种,具有抗凋亡通路之称^[12-13]。PI3K 被激活后,可招募并激活 Akt,活化的 Akt 通过一系列反应作用于靶

分子 Bax、Bcl-2、Caspase-3,从而影响心肌细胞的增殖、凋亡及黏附等生物学行为^[14-15]。本研究结果表明,与假手术组比较,模型组老年小鼠 Akt 磷酸化水平降低;而辛伐他汀(20 mg/kg)处理后,Akt 磷酸化水平显著升高,说明一定剂量的辛伐他汀能通过激活 Akt 信号通路从而抑制老年小鼠心肌 IR 时细胞凋亡及相对凋亡蛋白的表达。

本研究中参考相关文献,采用 MDA 和 SOD 检测试剂盒分别检测各组老年小鼠血清中的氧化应激水平指标。结果表明,IR 老年小鼠血清中 MDA 含量显著提高、SOD 活性降低,而辛伐他汀 20 mg/kg 剂量可使老年小鼠血清中 MDA 含量显著减少、SOD 活性显著升高。氧化应激损伤主要表现为脂质过氧化产生了多种醛类物质,如 MDA。MDA 是脂质过氧化的标志物,其含量高能反映细胞遭受氧化损伤的严重程度。SOD 是内源性自由基清除酶,是一类抗氧化酶物质,能及时清除自由基,其活力高低能够反映机体清除自由基的能力。这说明辛伐他汀通过抑制 IR 氧化应激反应,从而减轻老年小鼠 IR 氧化应激损伤。辛伐他汀 2.5、5 mg/kg 剂量组与模型组比较,MDA 和 SOD 指标水平的差异无统计学意义 ($P > 0.05$),推测可能与剂量偏小有关系。

综上所述,辛伐他汀能显著减轻老年小鼠心肌 IR 损伤,其可能与抑制心肌细胞凋亡及氧化应激产物生成有关。

参考文献

- [1] 章袁,朱立勤,刘晶,等.辛伐他汀在老年高血脂患者中的群体药理学研究[J].中国药房,2012,23(46):4360.
- [2] 赵兰蒂,杨建彬,王中良.他汀类药物非降脂作用研究新进展[J].中国实用医药,2011,6(36):247.
- [3] 车忠应,陈还珍.辛伐他汀预处理对大鼠心肌缺血再灌注损伤 Bcl-2 和 Bax 表达的影响[J].中国医疗前沿,2011,6(2):26.
- [4] 李倩,武维恒,李东野,等.辛伐他汀在心肌细胞缺血再灌注中的作用及机制[J].中华全科医学,2011,9(11):1668.
- [5] 王梦然,张健,梁艳红,等.缺血后处理对老年大鼠心肌缺血再灌注损伤的保护作用[J].首都医科大学学报,2015,36(1):132.
- [6] 殷忠,高好考,王海昌,等.老年大鼠心肌缺血再灌注损伤的缺血后处理保护[J].心肺血管病杂志,2011,30(1):58.
- [7] Liao XL, Hu XX, Chang FJ, et al. A simple modification results in greater success in the models of coronary artery ligation and myocardial ischemia in mice[J]. *J Cardiovasc Pharmacol*, 2013, 61(5):430.
- [8] 翟宏颖,于林楠.淫羊藿苷对心肌缺血再灌注损伤模型大鼠心肌组织的保护作用[J].中国药房,2015,26(16):2192.
- [9] 王士生,黄进宇,杨竞妍,等.辛伐他汀抑制大鼠心肌缺血再灌注时线粒体通透性转换孔开放的研究[J].中华全科医学,2014,12(1):18.
- [10] Li CM, Shen SW, Wang T, et al. Myocardial ischemic post-conditioning attenuates ischemia reperfusion injury via PTEN/Akt signal pathway[J]. *Int J Clin Exp Med*, 2015, 8(9):15801.
- [11] Guo J, Wang SB, Yuan TY, et al. Coptisine protects rat heart against myocardial ischemia/reperfusion injury by suppressing myocardial apoptosis and inflammation[J]. *Atherosclerosis*, 2013, 231(2):384.
- [12] Rong R, Xijun X. Erythropoietin pretreatment suppresses inflammation by activating the PI3K/Akt signaling pathway in myocardial ischemia-reperfusion injury[J]. *Exp Ther Med*, 2015, 10(2):413.

调经助孕胶囊对着床障碍小鼠胚泡着床位点数和雌、孕激素及其受体的影响^Δ

王瑞杰^{1*}, 李 晖², 孙 红³, 褚玉霞³(1.河南中医药大学第二临床医学院, 郑州 450002; 2.河南省中医院/河南中医药大学第二附属医院生殖医学科, 郑州 450002; 3.河南省中医院/河南中医药大学第二附属医院妇产科, 郑州 450002)

中图分类号 R915 文献标志码 A 文章编号 1001-0408(2016)19-2629-03
DOI 10.6039/j.issn.1001-0408.2016.19.12

摘 要 目的:研究调经助孕胶囊对着床障碍小鼠胚泡着床位点数和雌、孕激素及其受体(ER、PR)的影响。方法:将48只妊娠小鼠随机分为正常对照组(生理盐水)、病理模型组(生理盐水)与调经助孕胶囊组(24 g/kg),每组16只,ig给药,每天1次,连续3 d。第4天上午9:00,除正常对照组小鼠外,剩余小鼠均sc米非司酮溶液0.1 ml复制着床障碍模型。第5天处死小鼠,观察各组小鼠胚泡着床位点数;放射免疫法测定血清雌二醇(E₂)、孕酮(P)水平;免疫组化法测定子宫内膜ER、PR蛋白表达水平。结果:妊娠第5天,病理模型组小鼠胚泡着床位点数显著少于正常对照组,血清E₂、P水平与子宫内膜ER、PR蛋白表达水平均显著低于正常对照组($P<0.05$);调经助孕胶囊组小鼠胚泡着床位点数显著多于病理模型组,血清E₂、P水平与子宫内膜ER、PR水平均显著高于病理模型组($P<0.05$)。结论:调经助孕胶囊可显著提高小鼠血清E₂、P水平和ER、PR水平,增加胚泡着床位点数。
关键词 调经助孕胶囊;着床障碍;胚泡着床位点数;雌二醇;孕酮;雌、孕激素;小鼠

Effects of Tiaojing Zhuyun Capsules on the Number of Blastocyst Implantation Sites, Estrogen/Progestogen and Their Receptors in Mice with Implantation Dysfunction

WANG Ruijie¹, LI Hui², SUN Hong³, CHU Yuxia³ (1.Second Clinical Medical College, Henan University of TCM, Zhengzhou 450002, China; 2.Dept. of Reproductive Medicine, Henan Province Hospital of TCM/The Second Affiliated Hospital of Henan University of TCM, Zhengzhou 450002, China; 3.Dept. of Cyneacology and Obstetrics Henan Province Hospital of TCM/The Second Affiliated Hospital of Henan University of TCM, Zhengzhou 450002, China)

ABSTRACT **OBJECTIVE:** To study the effects of Tiaojing zhuyun capsules on the number of blastocyst implantation, estrogen, progestogen and their receptors (ER, PR) in mice with implantation dysfunction. **METHODS:** 48 pregnant mice were randomly divided into normal control group (normal saline), pathological model group (normal saline) and Tiaojing zhuyun capsules group (24 g/kg), with 16 mice in each group. They were given relevant medicine intragastrically, once a day, for consecutive 3 d. On the 4th day, those mice were given mifepristone 0.1 ml subcutaneously to induce implantation dysfunction model except for normal control group. On the 5th day, the mice were sacrificed. The number of blastocyst implantation sites was observed. The serum levels of estradiol (E₂) and progesterone (P) were determined by radioimmunoassay, and the expression of ER and PR protein were determined by immunohistochemistry. **RESULTS:** On the 5th day of pregnancy, the number of embryo implantation sites, serum levels of E₂ and P and the protein expression of ER and PR in pathological model group were significantly lower than in normal control group ($P<0.05$); the number of embryo implantation sites, levels of E₂ and P, the protein expression of ER and PR in Tiaojing zhuyun capsules group were significantly higher than in pathological model group ($P<0.05$). **CONCLUSIONS:** Tiaojing zhuyun capsules can effectively improve the serum levels of E₂ and P, the protein expression of ER and PR, and increase the number of blastocyst implantation sites in mice.

KEYWORDS Tiaojing zhuyun capsules; Implantation dysfunction; Number of blastocyst implantation sites; Estradiol; Progesterone; Estrogen/Progestin; Mice

[13] Nagaoka K, Matoba T, Mao Y, *et al.* A new therapeutic modality for acute myocardial infarction: nanoparticle-mediated delivery of pitavastatin induces cardioprotection from ischemia-reperfusion injury via activation of PI3K/Akt pathway and anti-inflammation in a rat model[J]. *PLoS One*, 2015, 10(7):e132 451.

Δ 基金项目:国家中医药管理局全国名老中医专家传承工作室建设项目;河南省教育厅科学技术研究重点项目(No.13A360579);河南中医学院博士科研基金项目(No.BSJJ2012-21)

* 讲师,博士。研究方向:生殖内分泌、不孕不育。电话:0371-60908726。E-mail:wangruijie021@163.com

[14] Zhou M, Ren H, Han J, *et al.* Protective effects of kaempferol against myocardial ischemia/reperfusion injury in isolated rat heart via antioxidant activity and inhibition of glycogen synthase kinase-3 β [J]. *Oxidative Medicine & Cellular Longevity*, 2015, 481 405(1):1.

[15] Wang Y, Zhang ZZ, Wu Y, *et al.* Quercetin postconditioning attenuates myocardial ischemia/reperfusion injury in rats through the PI3K/Akt pathway[J]. *Braz J Med Biol Res*, 2013, 46(10):861.

(收稿日期:2016-01-15 修回日期:2016-05-16)
(编辑:邹丽娟)