

自主神经功能在兔动脉粥样硬化中的作用 及蜂王浆的干预

黄俊杰[#], 刘军平[#], 陈民利, 朱科燕, 陈诚, 吕涛, 潘永明^{*}

(浙江中医药大学动物实验研究中心, 杭州 310053)

【摘要】 目的 探讨自主神经在兔动脉粥样硬化(AS)中的作用及蜂王浆干预效果。**方法** 取雄性日本大耳白兔 18 只,随机分为正常对照(NC)组、高脂高糖饮食(HFHS)组、蜂王浆治疗(RJ)组,每组 6 只。采用高脂高糖饮食 12 周诱发 AS 模型,同时 RJ 组每次口服 200 mg/kg 蜂王浆,2 次/日。造模结束后,取血测定血脂[总胆固醇(TC)、三酰甘油(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)和高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)]、超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)和一氧化氮(NO)水平;并测量心电图和血压,分别测量心率变异性(HRV)和心血管压力反射敏感性(BRS)反应;取血管进行 HE 病理观察和苏丹 IV 染色评估 AS 程度。**结果** 与 NC 组比,HFHS 组血脂升高($P < 0.05$),主动脉有明显的脂质沉积和 AS 斑块($P < 0.05$, $P < 0.01$),血浆 SOD 活性和 NO 水平下降且 MDA 含量升高($P < 0.05$, $P < 0.01$),心功能降低的同时伴有 HRV 和 BRS 值降低($P < 0.05$, $P < 0.01$);与 HFHS 组比,蜂王浆治疗组能明显改善上述指标。**结论** 高脂高糖饮食能导致兔心脏自主神经功能紊乱,并促进 AS 发生,蜂王浆干预后能调整自主神经功能,延缓 AS 病变。

【关键词】 自主神经功能;动脉粥样硬化;高脂高糖;兔;蜂王浆

【中图分类号】 Q95-33 **【文献标识码】** A **【文章编号】** 1005-4847(2018) 04-0467-07

Doi:10.3969/j.issn.1005-4847.2018.04.010

Role of autonomic nervous function in and the effect of royal jelly intervention on rabbit atherosclerosis

HUANG Junjie[#], LIU Junping[#], CHEN Minli, ZHU Keyan, CHEN Cheng, LYU Tao, PAN Yongming^{*}

(Laboratory Animal Research Center/Comparative Medical Research Institute, Zhejiang Chinese Medical University, Hangzhou 310053, China)

Corresponding author: PAN Yongming. E-mail: pym918@126.com

【Abstract】 Objective To investigate the role of autonomic nervous function and the effect of royal jelly intervention on rabbit models of atherosclerosis (AS). **Methods** Eighteen healthy 3-4-month old male Japanese white rabbits were randomly divided into normal control (NC) group, high-fat high-sugar diet (HFHS) group and royal jelly intervention (RJ) group, 6 rabbits in each group. The rabbits received high-fat and high-sugar diet for 12 weeks to induce atherosclerosis model. At the same time, the RJ group was orally given 200 mg/kg royal jelly daily, twice a day, for consecutive 12 weeks. The plasma levels of total cholesterol (TC), triglyceride (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C) and high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), superoxide dismutase (SOD), malondialdehyde (MDA) and nitric oxide (NO) were detected. The electrocardiogram and blood pressure were monitored, and the heart rate variability (HRV) and baroreflex sensitivity (BRS) were analyzed. The pathological changes in the abdominal aorta tissues were

【基金项目】浙江省科技厅公益性项目(No. 2016C37141)。

Funded by Public Projects of Zhejiang Province Science and Technology Department (No. 2016C37141).

【作者简介】黄俊杰(1990—),男,助理实验师,研究方向:实验动物与比较医学。E-mail: 306999492@qq.com

刘军平(1989—),男,助理工程师,研究方向:实验动物与比较医学。E-mail: liujp89day@126.com [#]共同第一作者

【通信作者】潘永明(1979—),男,副研究员,研究方向:实验动物与比较医学。E-mail: pym918@126.com

observed using H&E and Sudan IV staining, respectively. **Results** Compared with the NC group, the levels of serum lipids in the HFHSD group were significantly increased ($P < 0.05$). The lipid deposition and atherosclerotic plaque sizes in the abdominal aorta were significantly increased ($P < 0.05$). The plasma SOD and NO levels were decreased and the MDA content was increased ($P < 0.05$, $P < 0.01$). The reduction of cardiac function was accompanied by a decrease of HRV and BRS values ($P < 0.05$, $P < 0.01$). Compared with the HFHSD group, RJ significantly improved the above indicators. **Conclusions** High fat and high sugar diet can lead to cardiac autonomic nervous dysfunction and to further form atherosclerosis in rabbits. Royal jelly intervention can regulate cardiac autonomic nervous function and delay the development of atherosclerotic lesions.

[Key words] Autonomic nervous function; atherosclerosis; high fat and high sugar diet; rabbit; royal jelly

Conflict of interest statement: We declare that we have no conflict of interest statement.

随着社会发展和进步,人类生活方式和饮食结构的改变,以及社会竞争和工作压力的陡增,使得冠心病、猝死、脑卒中等心脑血管疾病的发病率呈逐年上升,并伴有年轻化的趋势,已严重威胁人类的生命健康安全。动脉粥样硬化(atherosclerosis, AS)是心脑血管疾病的病理基础。近来发现,自主神经系统(autonomic nervous system, ANS)紊乱与 AS 有关,主要表现为过度激活交感神经系统和副交感神经张力降低为特点^[1],同时自主神经还影响血管结构的完整性和内皮功能、炎症及血压,进而影响 AS^[2]。此外,ANS 的障碍可使心脏压力反射控制能力受损,诱发心律失常或猝死^[3-4]。因此,干预 ANS 并促其恢复平衡,有望成为治疗 AS 的新途径。

目前评估自主神经功能的方法主要包括心率变异性(heart rate variability, HRV)和心血管压力反射敏感性(baroreflex sensitivity, BRS)两种,其中 HRV 指逐次心搏间期变异的方法,能定量评估心脏自主神经活性的客观无创性检测指标,可反映交感神经和迷走神经活性的变化^[5];而 BRS 是指血压变化所致反射性心率变化的敏感程度,主要反映迷走神经调节的变化^[6]。目前功能性健康食品在人类心脑血管疾病预防中已表现出较大的优越性,而受到消费者的青睐。蜂王浆(royal jelly, RJ)是天然的功能性健康食品,是由 5 ~ 15 日龄工蜂头部营养腺(舌腺和颞腺)分泌出来的一种特殊乳浆状物质,并是蜂王及 3 日龄内幼虫的专用食物。大量的研究显示 RJ 具有广泛的药理作用,如抗衰老、抗自由基、降脂、抗炎和降血压等^[7-8]。而动物模型是研究人类疾病病理机制和治疗的主要研究手段之一,关于 ANS 在兔 AS 中作用以及 RJ 是否具有调控 ANS 的作用,目前均还不清楚。因此,本研究采用高脂高糖饮食建立兔 AS 模型,并基于 HRV 和 BRS 分析技术观察自主神经在兔 AS 中的作用及蜂王浆干预

效果。

1 材料与方法

1.1 材料

1.1.1 实验动物

普通级雄性成年日本大耳白兔,18 只,体重为 1.8 ~ 2.0 kg,3 ~ 4 月龄,购自新昌县大市聚镇欣健兔场【SCXK(浙)2015-0004】,饲养于浙江中医药大学动物实验研究中心普通级实验室【SYXK(浙)2013-0184】,室温 20 ~ 22℃,相对湿度 40% ~ 60%,12 h/12 h 明暗交替。所有操作均符合浙江中医药大学实验动物管理与伦理委员会要求(伦理批准号:ZSLL-2016-114)。

1.1.2 实验药物与主要试剂和仪器

蜂王浆,由浙江大学动物科学学院提供。总胆固醇(TC)、甘油三酯(TG)、低密度脂蛋白胆固醇(LDL-C)、高密度脂蛋白胆固醇(HDL-C)试剂盒,购自上海申能德赛诊断技术有限公司;超氧化物歧化酶(SOD)、丙二醛(MDA)和一氧化氮(NO)试剂盒,购自南京建成生物工程研究所;苯肾上腺素(PE),购自上海禾丰制药有限公司;硝普钠(SNP),购自浙江佐力药业股份有限公司。MedLab-U 生物信号采集处理系统(MedLab-U/8C,南京美易科技有限公司,中国),连续光谱酶标仪(Thermo Varioskan Flash, Thermo Fisher 公司,芬兰),全自动生化分析仪(7020,日立,日本),徕卡病理切片仪(RM2245,徕卡公司,美国),全自动病理扫描切片仪(Nanozoomer S210,滨松公司,日本)。

1.2 方法

1.2.1 兔 AS 模型的建立

适应性饲养 2 周后,随机分成 3 组,即正常对照组(normal control group, NC group)、高脂高糖饮食组(high fat/high sugar diet group, HFHSD group)和

蜂王浆组 (royal jelly group, RJ group), 每组 6 只。NC 组饲喂普通饲料; HFHSD 组饲喂高脂高糖饲料 (饲料配方为: 0.25% 胆固醇, 10% 起酥油, 30% 蔗糖, 59.75% 基础饲料)。根据研究^[10]表明成年人每日进食 6 g 蜂王浆, 4 周即可以有效降低血脂, 按体表面积换算, 每日给予兔 400 mg/kg 蜂王浆, 故 RJ 组饲喂高脂高糖饲料同时每次给予 200 mg/kg 蜂王浆, 一日两次, 连续造模 12 周。

1.2.2 血脂、SOD 活性、MDA 含量和 NO 水平的测定

造模 12 周后, 所有兔禁食不禁水 12 h, 然后取耳中动脉肝素抗凝血 4 mL, 3000 r/min 离心 15 min, 分离血浆, 在全自动生化分析仪上测定血脂水平, 包括 TC、TG、LDL-C、HDL-C 水平, 并计算动脉粥样硬化指数 LDL-C/HDL-C 比值。同时, 按试剂盒说明书在连续光谱酶标仪上测定血浆 SOD 活性、MDA 含量和 NO 水平的变化。

1.2.3 心电图检测及心率变异性 (HRV) 分析

造模 12 周后, 各组兔胸部剃毛并贴上心电电极片, 连接心电电极, 穿上自制遥测马甲, 用 EMKA 无创生理信号遥测系统, 检测自由清醒活动状态下 II 导联心电图, 连续监测 2 h, 并按文献^[9]方法进行 HRV 时域分析 [包括 RR 间期、RR 间期的标准差 (SDNN)、相邻 RR 间期差值均方根 (RMSSD)] 和频域功率谱分析 [包括总功率 (TP)、极低频功率 (VLF)、低频功率 (LF)、高频功率 (HF)], 然后进行标准化计算 LF 和 HF [LFnu 或 HFnu = LF 或 HF / (TP-VLF)] 以及 LF/HF 比值。

1.2.4 血流动力学参数的测定和心血管压力反射敏感性 (baroreflex sensitivity, BRS) 分析

造模 12 周后, 各组兔耳缘静脉注射 3% 戊巴比妥钠溶液 30 mg/kg 麻醉, 待麻醉稳定后, 呈仰卧位固定, 颈部剃毛消毒, 行颈部正中切口, 仔细分离右侧颈总动脉、右侧股动脉, 分别行颈总动脉和股动脉内插管, 管内充满 50 U/mL 肝素钠生理盐水溶液, 将各动脉插管分别与压力换能器连接, 并用 MedLab-U/8C 生物信号采集处理系统记录曲线变化, 其中右侧颈总动脉插管插入到左心室内, 记录心室内压曲线, 观察左室收缩压 (LVSP)、左室舒张末期压 (LVEDP)、左室内压最大上升速率 (LV + dp/dtmax) 和左室内压最大下降速率 (LV-dp/

dtmax) 指标的变化; 右侧股动脉插管记录血压曲线, 观察 RR 间期、收缩压 (SBP) 的变化。待手术结束后, 稳定 15 min 后开始记录上述指标的变化。

心血管压力反射敏感性 (baroreflex sensitivity, BRS) 测定, 采用兔耳缘静脉注射苯肾上腺素或硝普钠升高或降低血压, 引起反射性 RR 间期的变化, 以 RR 间期变化值与收缩压 (SBP) 变化值的比值代表 BRS 值。根据预实验结果选定静脉注射 PE 5 μ g/kg 升高血压, 引起反射性心动过缓, 反映压力反射对升压的敏感性; 注射后待血压恢复到基础水平时, 耳缘静脉注射 SNP 5 μ g/kg 降低血压, 反射性引起心动过速, 反映压力反射对血压降低的敏感性。

1.2.5 病理组织学观察

(1) 主动脉粥样斑块面积分析

将实验兔安乐死后, 仔细分离主动脉根部至腹主动脉末端的血管, 清除血管周边附属脂肪组织, 在中性甲醛中固定 24 h, 然后水洗, 纵向剖开血管, 经 70% 乙醇 2 min, 苏丹 IV (苏丹 IV 5 g + 70% 乙醇 500 mL + 丙醇 500 mL) 染色 15 min, 数码拍照, 用 Image J 软件分析动脉粥样硬化面积。

(2) 主动脉血管 HE 染色

取主动脉弓远端血管环 5 mm, 放入中性甲醛中固定 24 h 以上, 梯度乙醇脱水、石蜡包埋、连续切片, 厚度为 6 μ m, 行 HE 染色, 用全自动病理扫描切片仪扫描切片, 用 Image Pro Plus 6.0 软件测量血管内中膜的厚度。

1.3 统计学方法

所有数据均用平均数 $\pm$ 标准差 ($\bar{x} \pm s$) 表示, 应用 Graphpad Prism 6.0 统计软件包进行统计处理, 采用单因素方差分析和 Tukey's 多重比较检验, $P < 0.05$ 表示差异有统计学意义。

2 结果

2.1 各组体重和血脂水平的变化

造模 12 周后, 各组兔的体重差异均无显著性 ($P > 0.05$), 但与正常对照组比, 高脂高糖饮食组兔血浆 TC、TG、LDL-C、HDL-C 水平以及 LDL-C/HDL-C 比值均显著升高 ($P < 0.05$); 与高脂高糖饮食组比较, 蜂王浆组能明显降低 TC、TG、LDL-C 水平以及 LDL-C/HDL-C 比值 ($P < 0.05$, $P < 0.01$) (表 1)。

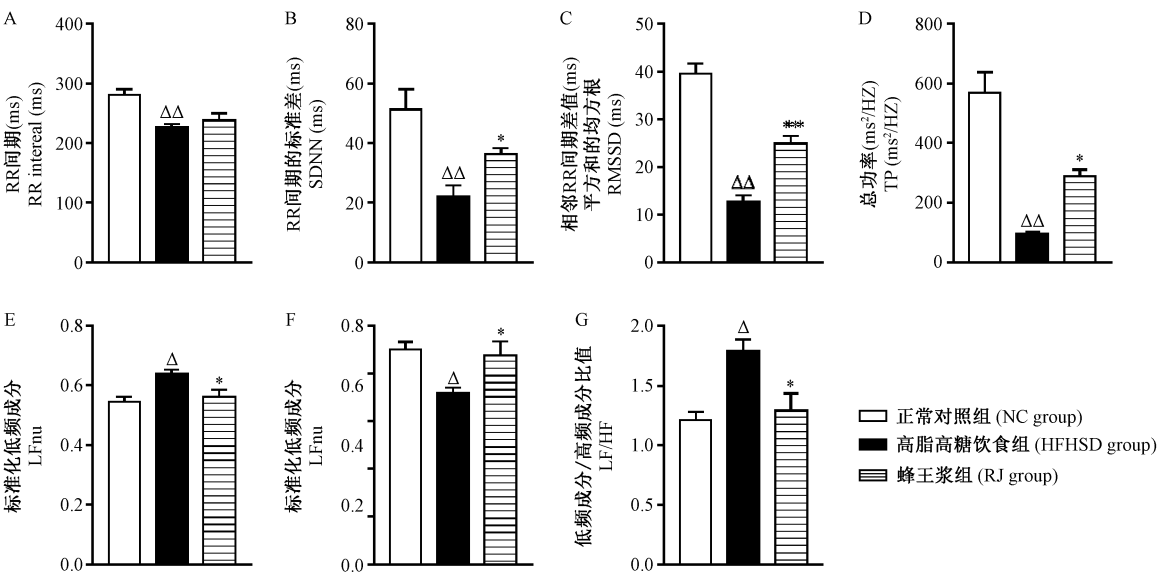


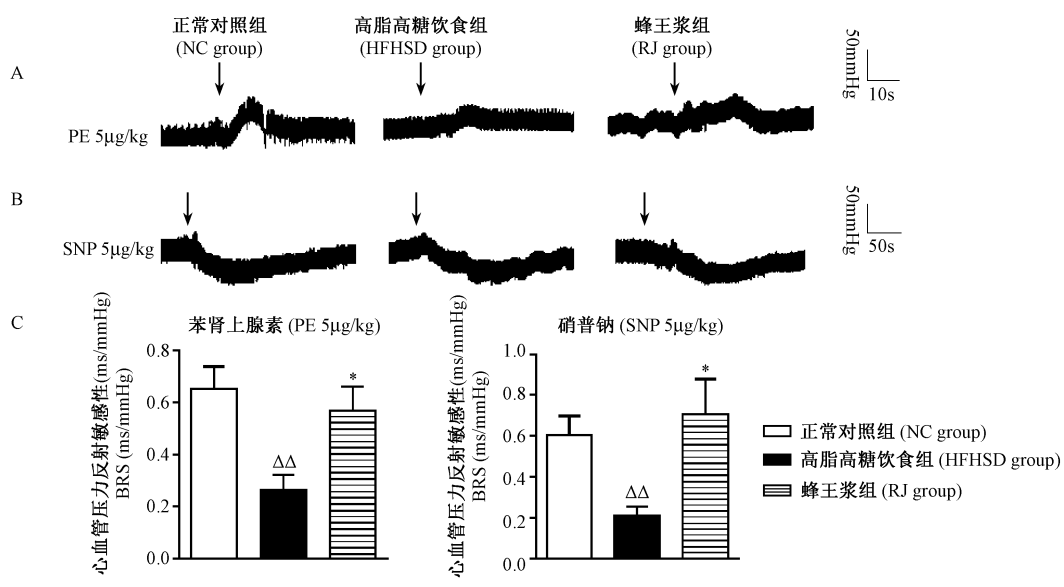
图 3 各组心率变异性参数的变化($\bar{x} \pm s, n = 4$)
Figure 3 Changes of HRV parameters in the rabbits($\bar{x} \pm s, n = 4$)

PE 或 SNP 诱导的心血管压力反射敏感性 BRS 值 ($P < 0.05$)(图 4)。

2.6 各组主动脉病理组织学评估

苏丹 IV 染色显示,NC 组无明显的红色脂质沉积和 AS 斑块,高糖高脂饮食组有明显的红色脂质沉积和 AS 斑块,与 NC 组比较差异有显著性 ($P < 0.01$);与高糖高脂饮食组比,蜂王浆组能明显减少

脂质沉积和 AS 斑块($P < 0.01$)(图 5 A 和图 5B)。另外,HE 染色显示,NC 组主动脉内膜结构完成且薄,高糖高脂饮食组主动脉内膜增生明显,并有大量的炎性细胞浸润,AS 斑块明显向管腔内凸出,可见大量的泡沫细胞,中内膜结构模糊;而蜂王浆组能明显减少炎性细胞浸润和泡沫细胞等病理改变(图 5C)。定量分析显示,与 NC 组比,高糖高脂饮



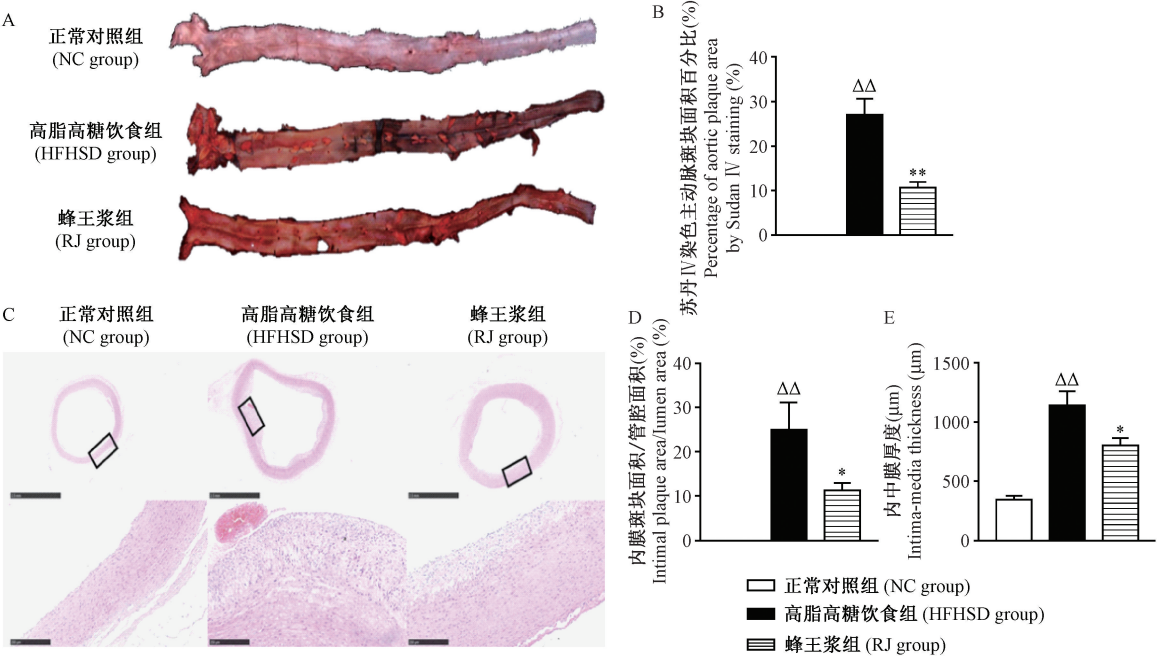
注:A:PE 诱导各组血压反应曲线代表图,B:SNP 诱导各组血压反应曲线代表图,C:PE 和 SNP 诱导心血管压力反射敏感性(BRS)值的变化。

图 4 各组 BRS 的变化($\bar{x} \pm s, n = 6$)

Note. A. Blood pressure response curve of each group induced by 5 μg/kg PE. B. Blood pressure response curve of each group induced by 5 μg/kg SNP. C. Changes of baroreflex sensitivity (BRS) value induced by PE or SNP.

Figure 4 Changes of baroreflex sensitivity (BRS) in the rabbits($\bar{x} \pm s, n = 6$)

食组内膜斑块面积/管腔面积和内中膜厚度明显增加($P < 0.01$)(图 5D);与高糖高脂饮食组比,蜂王浆组能明显降低内膜斑块面积/管腔面积和内中膜厚度($P < 0.05$)(图 5E)。



注:A:各组主动脉苏丹IV染色代表图,B:主动脉斑块面积百分比,C:各组主动脉血管HE病理组织代表图(×1.25)及其黑色方框内的放大图(×10),D:内膜斑块面积/管腔面积,E:各组内中膜厚度。

图5 各组主动脉病理组织学评估($\bar{x} \pm s, n = 5 \sim 6$)

Note. A. The representative images of aorta by Sudan IV staining of each group. B. The percentage of aortic plaque area by Sudan IV staining. C. Representative histopathological image of aortic rings by H&E staining (×1.25) and the enlarged view in the black square frame (×10). D. Intimal plaque area/lumen area. E. Intima-media thickness.

Figure 5 Histopathological evaluation of aorta in the rabbits($\bar{x} \pm s, n = 5 \sim 6$)

3 讨论

本研究以高脂高糖饮食诱导日本大耳白兔 AS 模型,其主要表现为血脂水平(TC、TG、LDL-C、HDL-C)明显升高,表明存在明显的脂质代谢紊乱,苏丹IV染色主动脉显示具有明显的脂质沉积和AS斑块,同时HE病理染色显示血管内膜增生明显,并有大量的炎性细胞浸润,AS斑块明显向管腔内凸出,可见大量的泡沫细胞,中内膜结构模糊等病理表现,提示AS模型成立。

AS的发生与脂质代谢异常密切相关,其中LDL-C具有明显的致AS作用。本研究结果显示HFHSD组TC、TG、LDL-C水平以及LDL-C/HDL-C比值均明显升高,而给予蜂王浆后能明显降低上述指标,这与Guo等^[10]和Zamami等^[11]等研究结果较为一致,表明蜂王浆能降低TC、LDL-C和TG水平。

ANS紊乱与心肌梗死、冠心病、心力衰竭患者发生心源性猝死密切相关。自主神经能调节血管收缩舒张。同样本研究也发现高脂高糖饮食能明

显降低兔的LVSP、LV+dp/dt_{max}、LV-dp/dt_{max},升高LVEDP,提示高脂高糖饮食引起心脏收缩舒张功能减退,而给予蜂王浆后能明显改善心脏的收缩舒张功能。为进一步证实高脂高糖饮食对兔ANS的影响,本研究分别采用HRV和BRS进行双重评估。HRV可反映ANS对心率的调控作用,其时域指标和频域指标均可反映交感和副交感神经的活动及其平衡调控关系,以及评价由于ANS失衡参与的各种心律失常及其影响疾病预后^[12]。本试验研究结果显示,高脂高糖饮食后兔的RR间期、SDNN、RMSSD、TP、和HFnu指标均明显降低,LFnu和LF/HF指标明显升高,提示高脂高糖饮食能引起日本大耳白兔HRV的降低,同时交感/副交感神经张力平衡发生紊乱,而这与冠心病、高血压、心力衰竭、脑卒中等均伴有HRV降低较为一致^[12]。蜂王浆干预后能明显升高SDNN、RMSSD、TP和HFnu指标,降低LFnu和LF/HF比值,提示蜂王浆能够纠正高脂高糖饮食引起的ANS平衡紊乱。另外,血管压力反射调节(BRS)作为一种负反馈调节是心血管调控

的主要机制之一,反映血压变化所致的心率反射性变化的敏感程度,研究表明 BRS 功能低下与许多心血管疾病有关^[13]。本试验研究表明,高脂高糖饮食后对 PE 和 SNP 所致血压变化程度均明显降低,表明高脂高糖饮食所致脂质代谢异常导致心血管调控能力的降低,发生 ANS 紊乱,主要表现为 HRV 和 BRS 指标的降低,使得迷走神经活性减退,心血管系统应变能力降低,共同促进参与心血管疾病的发生发展过程。但蜂王浆干预后能显著提高 PE 和 SNP 所致 BRS 值,进一步说明了蜂王浆改善自主神经功能的作用。

另外,氧化应激也会导致交感神经活动过度增加,使 ANS 平衡发生紊乱。SOD 活性的变化可间接反映机体清除氧自由基能力,同时 MDA 含量可反映机体脂质过氧化反应的程度。本研究结果显示,高脂高糖饮食能明显引起兔机体血清 SOD 活性下降和 MDA 含量升高,而蜂王浆能明显升高 SOD 活性并降低 MDA 含量的作用。Honda 等^[14]研究表明蜂王浆及其相关物质能延长线虫寿命,提示蜂王浆可能含有延寿因子。动物实验也证实蜂王浆能明显提高 D-半乳糖所致衰老小鼠血清、脑和肝脏组织中的 SOD 和过氧化氢酶(CAT)活性,降低丙二醛(MDA)含量,起到延缓衰老的作用^[15]。这与本研究结果较为一致,表明氧化应激可能参与兔 ANS 的紊乱,而蜂王浆可能通过抗氧化反应,促其恢复 ANS 平衡。

综上所述,高脂高糖饮食能加剧氧化应激和心脏自主神经功能紊乱,促进 AS 发生;蜂王浆干预后能抑制氧化应激反应,调整自主神经功能,延缓 AS 病变。

参 考 文 献(References)

- [1] 张博方,陈静,胡琦,等. 自主神经再平衡与动脉粥样硬化[J]. 医学综述, 2016, 22(13): 2537-2540.
Zhang BF, Chen J, Hu Q, et al. Autonomic nervous rebalancing and atherosclerosis [J]. Med Recapit, 2016, 22(13): 2537-2540.
- [2] 陈铭泰,黄若兰,富文俊,等. 慢性应激动脉粥样硬化动物模型和应激与 AS 的发生研究进展[J]. 现代生物医学进展, 2016, 16(15): 2995-3000.
Chen MT, Huang RL, Fu WJ, et al. Animal models of atherosclerosis and progress of atherosclerosis formation caused by long-term chronic stress [J]. Progr Modern Biomed, 2016, 16(15): 2995-3000.
- [3] Bell DS. "Dead in bed syndrome": a hypothesis [J]. Diabetes Obes Metab, 2006, 8: 261-263.
- [4] Weston PJ, Gill GV. Is undetected autonomic dysfunction responsible for sudden death in type 1 diabetes mellitus? The 'dead in bed' syndrome revisited [J]. Diabet Med, 1999, 16: 626-631.
- [5] Nicoll R, Henein MY. Caloric restriction and its effect on blood pressure, heart rate variability and arterial stiffness and dilatation: A Review of the evidence [J]. Int J Mol Sci, 2018, 19(3): 751.
- [6] Honzíkóv N, Zvvodn E. Baroreflex sensitivity in children and adolescents: physiology, hypertension, obesity, diabetes mellitus [J]. Physiol Res, 2016, 65(6): 879-889.
- [7] Yanagita M, Kojima Y, Mori K, et al. Osteoinductive and anti-inflammatory effect of royal jelly on periodontal ligament cells [J]. Biomed Res, 2011, 32(4): 285-291.
- [8] 张敬,戴秋萍,刘艺敏,等. 蜂王浆冻干粉对小鼠免疫功能的影响[J]. 上海铁道大学学报, 2000, 9: 16-17.
Zhang J, Dai QP, Liu YM, et al. Influences of feeding lyophilized royal jelly on immune status in mice [J]. J Shanghai Tiedao Univ, 2000(9): 16-17.
- [9] 潘永明,陈亮,何欢,等. 体位改变对 Beagle 犬心脏自主神经控制的影响[J]. 中国比较医学杂志, 2012, 22(2): 47-51.
Pan YM, Chen L, He H, et al. Effect of postural changes on autonomic nervous control of heart in beagle dogs [J]. Chin J Comp Med, 2012, 22(2): 47-51.
- [10] Guo H, Saiga A, Sato M, et al. Royal jelly supplementation improves lipoprotein metabolism in humans [J]. Nutr Sci Vitaminol (Tokyo), 2007, 53(4): 345-348.
- [11] Zamami Y, Takatori S, Goda M, et al. Royal jelly ameliorates insulin resistance in fructose-drinking rats [J]. Biol Pharm Bull, 2008, 31(11): 2103-2107.
- [12] van Bilsen M, Patel HC, Bauersachs J, et al. The autonomic nervous system as a therapeutic target in heart failure: a scientific position statement from the Translational Research Committee of the Heart Failure Association of the European Society of Cardiology [J]. Eur J Heart Fail, 2017, 19(11): 1361-1378.
- [13] El-Gowelli HM, Ibrahim KS, El-Yazbi AF, et al. Role of NADPHox/Rho-kinase signaling in the cyclosporine-NSAIDs interactions on blood pressure and baroreflexes in female rats [J]. Life Sci, 2017, 185: 15-22.
- [14] Yoko H, Yasunori F, Hiroe M, et al. Lifespan-extending effects of royal jelly and its related substances on the nematode *Caenorhabditis elegans* [J]. PLoS One, 2011, 6(8): E23527.
- [15] 季文静,张翠平,魏文挺,等. 蜂王浆酶解产物对 D-半乳糖模型小鼠体内抗衰老的作用[J]. 中国食品学报, 2016, 16(01): 18-25.
Ji WJ, Zhang CP, Wei WT, et al. The in vivo antiaging effect of enzymatic hydrolysate from royal jelly in D-galactose induced aging mouse [J]. J Chin Inst Food Sci Technol, 2016, 16(01): 18-25.