

莲房原花青素对极低频电磁场致免疫功能损伤的预防作用

张海晖, 程燕翔, 罗孝平, 何远清, 李长征, 曲文娟, 段玉清
(江苏大学食品与生物工程学院, 江苏镇江 212013)

摘要: 为了探讨莲房原花青素 (LSPCs) 对极低频电磁场 (ELF-EMF) 致小鼠免疫功能损伤的影响, 通过半体外法研究 LSPCs 对脾脏淋巴细胞增殖、NK 细胞活性以及血浆和肝脏中细胞因子 IL-4 和 INF- γ 的影响, 初步确定其免疫调节活性。MTT 法检测 T、B 淋巴细胞增殖、乳酸脱氢酶法检测 NK 细胞活性、ELISA 试剂盒检测 IL-4 和 INF- γ 浓度。结果表明: 与正常组相比, ELF-EMF 辐照后胸腺和脾脏指数显著降低 ($p < 0.05$, $p < 0.01$), 脾脏 T、B 淋巴细胞增殖率和 NK 细胞活性显著降低 ($p < 0.01$), IL-4 和 INF- γ 浓度明显降低; 而经 LSPCs 预处理后, 与 ELF-EMF 组相比上述指标均有所改善, 其中 90 mg/kg LSPCs 组, 显著提高了胸腺和脾脏指数 ($p < 0.05$, $p < 0.01$), 能显著地刺激了 T、B 淋巴细胞的增殖、提高了 NK 细胞活性 ($p < 0.01$), 并且促进了血浆和肝脏分泌 IL-4 和 INF- γ 。由此显示 LSPCs 可以有效地预防 ELF-EMF 致小鼠免疫功能损伤, 调节免疫活性。

关键词: LSPCs; ELF-EMF; T、B 淋巴细胞; NK 细胞; IL-4; INF- γ

文章编号: 1673-9078(2016)07-1-5

DOI: 10.13982/j.mfst.1673-9078.2016.7.001

Preventive Effects of Lotus Seed Pod Procyanidins on Extremely Low Frequency Electromagnetic Exposure-induced Immune Function Injury

ZHANG Hai-hui, CHENG Yan-xiang, LUO Xiao-ping, HE Yuan-qing, LI Chang-zheng, QU Wen-juan,
DUAN Yu-qing

(School of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang 212013, China)

Abstract: To explore the effects of lotus seed pod procyanidins (LSPCs) on extremely low frequency electromagnetic field (ELF-EMF) exposure-induced immune function injury in male mice, a semi-*in vitro* method was used to study the effect of LSPCs on splenic lymphocyte proliferation, natural killer (NK) cell activity, interleukin 4 (IL-4), and interferon gamma (IFN- γ) in the plasma and liver. In addition, the immunomodulatory activity of LSPCs was preliminarily determined. The proliferation of T and B lymphocytes was measured by a [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide] tetrazolium (MTT) reduction assay. NK cell activity was determined by a lactate dehydrogenase (LDH) release assay, and the concentrations of IL-4 and IFN- γ in plasma and liver were measured by an enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) kit. Our experiments indicated that after ELF-EMF radiation, the spleen and thymus indices were significantly decreased ($p < 0.05$, $p < 0.01$, respectively) compared to those of the control. MTT and LDH release assays showed that the proliferation of T and B lymphocytes and NK-cell activity decreased significantly in the ELF-EMF group ($p < 0.01$). The concentration of IL-4 and IFN- γ decreased significantly in the plasma and liver. However, pretreatment with LSPCs improved the above indicators compared to those of the ELF-EMF group. Especially for the ELF-EMF+LSPCs90 group, the spleen and thymus indices increased significantly ($p < 0.05$, $p < 0.01$, respectively), the proliferation of T and B lymphocytes was significantly stimulated, and NK cell activity and secretion of IL-4 and IFN- γ in the plasma and liver were promoted. In conclusion, LSPCs can effectively prevent the ELF-EMF-induced immune injury and regulate immune activity.

Key words: lotus seed pod procyanidins; extremely low frequency electromagnetic field; T, B lymphocytes; natural killer cell; interleukin 4; interferon gamma

收稿日期: 2015-09-07

基金项目: 国家自然科学基金 (31201456, 31371734); 江苏省自然科学基金 (BK2012287); 江苏省“六大人才高峰” (SWYY-022); 江苏省“青蓝工程”; 江苏高校优势学科建设工程项目

作者简介: 张海晖 (1975-), 男, 副教授, 主要从事食品活性成分提取分离及功能评价研究

通讯作者: 段玉清 (1973-), 女, 教授, 博士生导师, 主要从事药食同源植物活性成分提取分离新技术及功能活性评价研究

极低频电磁场 (extremely low frequency electromagnetic fields, ELF-EMF) 是指由电力设施、传输线或各种家用电器产生的、频谱在 0~300 Hz 的电磁波发出的电磁场^[1-2]。随着电磁技术的高速发展和生活水平的提高, 其相关产品给我们带来诸多方便的同时, 也会产生潜在的辐射污染和危害。ELF-EMF 虽然频率低、剂量小, 但其生物学效应具有累积和放大的作用, 可导致细胞、组织、器官以及生物体功能损伤。众多流行病和动物实验研究表明, 长期暴露在 ELF-EMF 下, 可造成中枢神经系统、心血管系统、免疫系统和生殖系统等功能障碍。

众所周知, 免疫系统是维持机体生理功能衡定的必要保障。近些年的研究表明, 在特定环境下 ELF-EMF 可以对机体的免疫功能产生一定的影响。Frahm 等用 50 Hz、1 mT 的 ELF-EMF 辐照巨噬细胞后, 结果随着磁通密度的增大对免疫细胞自由基的增加具有促进作用^[3]。此外, 该团队还报道了巨噬细胞经过短时间的 ELF-EMF 辐照后, 胞内的网格蛋白和蛋白激酶 B 活性都有短暂下降现象^[4]。Gobba 等报道, 外周血中 NK 细胞活性与其在 ELF-EMF 暴露程度呈负相关性^[5]。

目前国内外对 ELF-EMF 的研究仍集中在健康风险的评估, 但缺少评估后防护措施的研究报道。ELF-EMF 对人类健康尤其免疫系统将构成极大的威胁, 为了提高国民整体健康水平, 必须采取多渠道的措施。其中在日常饮食中添加活性物质来强化饮食, 作为预防 ELF-EMF 所致的危害是一种行之有效的办法, 但目前恰恰缺少此方面的研究。

莲房原花青素 (Lotus Seedpod Procyanidins, LSPCs) 是本课题从睡莲科植物莲的成熟花托中分离的一种聚多酚类混合物, 包含单体、二聚体和四聚体, 其中二聚体的含量最大, 儿茶素和表儿茶素是其基本单位^[6]。本课题组业已证实, LSPCs 在体内外均具有很强的清除自由基和抗氧化活性, 并对损伤极强的电离辐射有显著的防护作用, 对 ELF-EMF 小鼠造成神经系统和生殖系统损伤均有预防作用^[7-8], 但其对 ELF-EMF 导致的免疫功能损伤是否具有预防和调节作用目前尚未报道。基于此, 本实验以 ELF-EMF 致免疫损伤的小鼠为动物模型, 研究 LSPCs 对外周免疫器官、淋巴细胞增殖、NK 细胞活性以及免疫相关细胞因子 IL-4 和 INF- γ 的影响, 来探讨 ELF-EMF 对机体免疫系统的影响及其 LSPCs 的预防作用。本研究可为预防 ELF-EMF 对免疫功能损伤提供有价值的信息。

1 材料与方

1.1 实验材料

实验动物和细胞: 雄性 ICR 小鼠, 体重 (20 \pm 2) g, (动物生产许可证号: SCXK-(苏)2013-0011) 由江苏大学实验动物中心提供。YAC-1 细胞购于南京凯基生物科技发展有限公司。

莲房原花青素: 莲蓬收集于洪湖瞿家湾种植区(湖北, 中国), 品种名称为武植 2 号。按照我们课题组自己的实验方法提取, 浓缩制备莲房原花青素^[9], 莲房原花青素纯度 >95%。

二甲基亚砜购于碧云天生物工程公司。RPMI-1640 培养基、胎牛血清、四甲基偶氮唑蓝 (MTT)、脂多糖 (LPS)、刀豆球蛋白 A (ConA) 等购于 Sigma 公司。RPMI-1640 培养基购于 Gibco 公司。

1.2 仪器与设备

Multiskan Spectrum 型全波长酶标仪 (美国热电公司), TE200 倒置荧光显微镜 (日本尼康公司), 极低频电磁场发生器 (实验室自制), Lz-630H 数字特斯拉计 (中国联众科技有限公司), SW-CJ-IC 型净化工作台 (苏州净化设备厂), Anke TDL80-2B 离心机 (上海安亭科学仪器厂), Thermo 3111 CO₂ 培养箱 (美国 Thermo 公司)。

1.3 方法

1.3.1 辐射装置

实验采用 ELF-EMF 发生器, 该仪器由两个圆形亥姆霍兹 (Helmholtz) 线圈和调压器构成, 线圈外径为 36 cm, 内径 32 cm, 匝数为 500。两线圈通以同方向 50 Hz 的交流电, 中心区域可产生交变电磁场。经特斯拉计测量, 该电磁场均匀度良好。对实验小鼠进行辐射时, 将盛放小鼠的通风良好的透明有机玻璃盒置于两圆形线圈之间, 通过调节电压控制磁场强度 (8 mT)。

1.3.2 实验动物分组与辐射

LSPCs 溶于生理盐水中, 每日剂量为 30、60 和 90 mg/kg。小鼠在 ELF-EMF 辐射前 15 d, 每天连续灌胃 LSPCs, 直到辐射实验结束。将 50 只小鼠随机分为 5 组: 第一组为正常组; 第二组是极低频电磁场辐射组只灌胃生理盐水, 没有 LSPCs (ELF-EMF); 第三组是 ELF-EMF 辐射加 LSPCs 30 mg/kg (ELF-EMF + LSPCs 30); 第四组是 ELF-EMF 辐射加 LSPCs 60 mg/kg (ELF-EMF + LSPCs 60); 第五组是 ELF-EMF 辐射加 LSPCs 90 mg/kg (ELF-EMF + LSPCs 90)。每组 10 只小鼠, 辐射条件是 50 Hz, 8 mT, 连续 28 d, 4 h/d。

正常对照组给予相同条件的伪辐照,并灌胃等量生理盐水。

1.3.3 脾脏指数的测定

连续 30 d 的 ELF-EMF 辐照结束后,脱颈椎处死小鼠,快速取出脾脏和胸腺,用生理盐水冲洗,吸干表面生理盐水,称重量,并计算脾脏和胸腺与体重的比值,以 mg/10g 体重表示。

1.3.4 脾淋巴细胞准备

颈椎脱臼处死小鼠后,无菌取脾,置于盛有适量无菌 PBS 液 (pH 7.4) 的小平皿中,用镊子轻轻将脾撕碎,经 200 目筛网过滤,制成单细胞悬液,用 PBS 液洗 3 次,每次离心 10 min (1000 r/min),然后将细胞悬浮于 2.0 mL 的 RPMI-1640 完全培养液中,用台盼兰染色计数活细胞数 (应在 95% 以上),用 RPMI-1640 完全培养液调整到实验所需细胞浓度。

1.3.5 对 T、B 淋巴细胞增殖的影响

1.3.5.1 T 淋巴细胞增殖

用 RPMI-1640 完全培养液调整细胞浓度为 2×10^6 个/mL,将脾细胞接种于 96 孔培养板中,每孔加入细胞悬液 100 μ L,每份样品设 3 个复孔,每孔加入 100 μ L ConA (10 μ g/mL),同时设对照孔 (不加 ConA)。

1.3.5.2 B 淋巴细胞增殖

方法同上,将 ConA 更换成脂多糖 (LPS, 5 μ g/mL)。接种好后,将培养板置于 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养箱中培养 72 h,培养结束前 4 h,每孔加入 20 μ L MTT 液,继续培养 4 h。培养结束后,吸去上清,每孔加入 100 μ L DMSO,充分振荡,于 570 nm 波长处测定吸光度。

1.3.6 对 NK 细胞活性的影响

以 YAC-1 细胞作为靶细胞,试验前 24 h 将靶细胞传代培养,应用前以 PBS 液洗 3 次,1000 r/min 离心 5 min,去上清,用 RPMI-1640 培养液重悬后计数,并用 0.5% 台盼蓝染色检测活性,活性细胞应 >95%,用 RPMI-1640 完全培养液调整细胞浓度为 1×10^5 个/mL,备用。将 1.3.4 准备的脾细胞用 RPMI-1640 完全培养液调整细胞浓度为 5×10^6 个/mL。取靶细胞和效应细胞各 100 μ L (效靶 50:1),加入 96 孔培养板中。靶细胞自然释放孔加靶细胞和培养液各 100 μ L,靶细胞最大释放孔加靶细胞和 1% NP40 各 100 μ L,上述各项均设三个复孔,于 37 $^{\circ}$ C、5% CO_2 培养箱中培养 4 h,然后将培养板离心 (1500 r/min) 5 min,每孔吸取上清 100 μ L 置 96 孔培养板中,同时加入乳酸脱氢酶 (LDH) 基质液 3 min,每孔加入 1.0 mol/L 的 HCl 30 μ L,在酶标仪 490 nm 处测定光密度值 (OD)。

1.3.7 对 IL-4 和 INF- γ 含量的影响

按照 IL-4 和 INF- γ ELISA 试剂盒使用说明书检测血清和肝脏的 IL-4 和 INF- γ 含量。

1.4 统计学分析

实验数据均以 $\bar{x} \pm s$ 表示,采用 SPSS 16.0 统计软件进行统计学分析,组间数据 $p < 0.05$ 认为差异有统计学意义。

2 结果与讨论

2.1 LSPCs 对小鼠脾脏指数和胸腺指数的影响

从表 1 可见,与正常组相比,ELF-EMF 组的小鼠的胸腺指数和脾脏指数分别降低了 29.67% 和 19.02%,都有显著性差异 (分别为 $p < 0.05$, $p < 0.01$)。说明 ELF-EMF 对机体免疫器官造成一定的损伤。不同剂量 LSPCs 预防组与 ELF-EMF 组相比,各脏器指数均表现不同程度的恢复升高。特别是当给予 90 mg/kg 的 LSPCs 时,与 ELF-EMF 组相比,胸腺指数和脾脏指数显著升高 (分别为 $p < 0.05$, $p < 0.01$)。

表 1 LSPCs 对小鼠脏器指数的影响 ($\bar{x} \pm s$)

Table 1 Effect of LSPCs on organ index in mice

组别	胸腺指数/(mg/10 g)	脾脏指数/(mg/10 g)
正常对照组	12.20 \pm 0.92	32.18 \pm 2.01
ELF-EMF	8.58 \pm 1.65*	26.05 \pm 1.43**
ELF-EMF+LSPCs30	9.63 \pm 2.89	29.00 \pm 1.53
ELF-EMF+LSPCs60	11.84 \pm 1.07	30.84 \pm 2.28#
ELF-EMF+LSPCs90	13.09 \pm 0.43#	32.91 \pm 2.26###

注:###与正常对照组相比有极显著性差异($p < 0.01$);*与 ELF-EMF 组相比有显著性差异($p < 0.05$);**与 ELF-EMF 组相比有极显著性差异($P < 0.01$)。下同。

2.2 LSPCs 对小鼠脾脏 T、B 淋巴细胞增殖的影响

ELF-EMF 对脾细胞增殖及 LSPCs 的影响结果见表 2,由表 2 所示,当经过 ELF-EMF 辐照后,与正常对照组相比,脾细胞的增殖能力显著降低 ($P < 0.01$)。当给予 LSPCs 后其淋巴细胞增殖能力得以提高,且呈现剂量依赖关系。与 ELF-EMF 组相比,ELF-EMF+LSPCs30 组 T、B 淋巴细胞的增殖率分别提高了 6.00%, 6.30%。尤其是 ELF-EMF+LSPCs90 组,T、B 淋巴细胞增殖率分别提高了 16.87%, 11.49%,差异极显著 ($p < 0.01$)。

表 2 LSPCs 对小鼠脾脏 T、B 淋巴细胞增殖的影响

Table 2 Effect of LSPCs on the proliferation of mouse B- and T-lymphocytes in the spleen

组别	脾脏	
	T淋巴细胞增殖率/%	B淋巴细胞增殖率/%
正常	30.19±3.66	26.36±5.00
ELF-EMF	13.35±2.05**	14.52±4.13**
ELF-EMF+LSPCs30	19.47±3.17#	20.82±4.53#
ELF-EMF+LSPCs60	27.46±4.97###	25.97±2.44###
ELF-EMF+LSPCs90	30.22±6.76###	26.01±2.54###

2.3 LSPCs 对小鼠脾脏 NK 细胞活性的影响

LSPCs 对小鼠脾脏 NK 细胞活性的影响结果见表 3。由表 3 可见，与正常组相比较，ELF-EMF 组小鼠的 NK 细胞活性降低了 14.19%，差异极显著 ($p < 0.01$)，而给予 LSPCs 后，30~90 mg/kg LSPCs 3 个剂量组的 NK 细胞活性明显高于 ELF-EMF 组，均有统计学差异 (分别为 $p < 0.05$ 、 $p < 0.01$ 、 $p < 0.01$)。且与 ELF-EMF 组相比，ELF-EMF+LSPCs60 组中 NK 细胞活性升高了 13.82%，几乎达到了正常组的水平，表明 LSPCs 对 ELF-EMF 导致的脾脏 NK 细胞活性下降具有显著的预防作用。

表 3 LSPCs 对小鼠脾脏自然杀伤细胞活性的影响

Table 3 Effect of LSPCs on the activity of splenic natural killer cells in mice

组别	NK 细胞活性/%
正常组	33.90±4.60
ELF-EMF	19.71±4.95**
ELF-EMF+LSPCs30	28.66±6.94#
ELF-EMF+LSPCs60	33.53±4.91###
ELF-EMF+LSPCs90	35.67±4.89###

2.4 LSPCs 对小鼠血浆和肝脏中 IL-4 和 INF- γ 含量的影响

IL-4 能促进 B 细胞活化、增殖和分化，产生特异性抗体。而 INF- γ 是活化的 T 淋巴细胞分泌的一种细胞因子，在机体的免疫反应中具有重要的调节作用。

LSPCs 对血浆中 IL-4 和 INF- γ 含量的影响结果见图 1 所示。可图可见，与正常组相比，ELF-EMF 组血浆中 IL-4 和 INF- γ 水平显著性下降 (分别为 $p < 0.01$ 和 $p < 0.05$)，分别下降了 32.47 $\mu\text{g/L}$ 、4.78 $\mu\text{g/L}$ 。30-90 mg/kg LSPCs 3 个剂量组与 ELF-EMF 组相比，IL-4 的浓度都有一定程度上的升高，其中 ELF-EMF+

LSPCs90 组具有显著性差异 ($p < 0.05$)；且与 ELF-EMF 组相比，ELF-EMF+LSPCs90 组的 INF- γ 浓度显著性升高 ($p < 0.05$)，最接近正常组中 INF- γ 水平。

LSPCs 对肝脏中 IL-4 和 INF- γ 含量的影响结果见图 2 所示。ELF-EMF 组与正常组相比，肝脏中 IL-4 含量降低显著 ($p < 0.05$)。预先给予不同剂量 LSPCs 后，肝脏中 IL-4 含量均有不同程度的升高，其中，ELF-EMF+LSPCs60 和 ELF-EMF+LSPCs90 组与辐照组相比均具有显著差异 (分别为 $p < 0.05$)，且接近正常组水平。肝脏中 INF- γ 的含量经 ELF-EMF 辐照后有所下降，但未达到显著性水平 ($p > 0.05$ ，与正常组相比)，经 LSPCs 预处理处理后，与 ELF-EMF 组相比，ELF-EMF+LSPCs90 组 INF- γ 的含量明显升高，差异极显著 ($p < 0.01$)，说明 LSPCs 对 ELF-EMF 导致的肝脏中 IL-4 和 INF- γ 分泌下降具有一定的预防或改善作用。

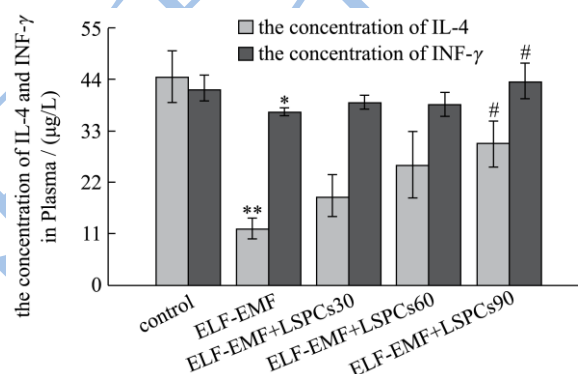


图 1 LSPCs 对小鼠血浆中 IL-4 和 INF- γ 含量的影响

Fig.1 Effect of LSPCs on IFN- γ and IL-4 concentrations in the plasma of mice

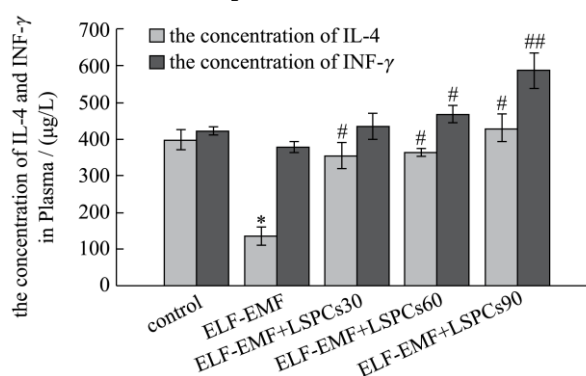


图 2 LSPCs 对小鼠肝脏中 IL-4 和 INF- γ 含量的影响

Fig.2 Effect of LSPCs on IFN- γ and IL-4 concentrations in the liver of mice

2.5 讨论

ELF-EMF 所导致的机体免疫功能降低是辐射损伤的主要表现形式之一。由于免疫系统相当于一个网络系统，一旦受到损伤，将会引发机体整个系统的功

能紊乱,极有可能会增加感染死亡的危险性。而多酚类物质已被证实,具有防癌抗癌、预防心血管疾病、抗菌消炎、防辐射等多种生物活性^[10-11]。天然活性物质 LSPCs 属于多酚类物质,研究 LSPCs 对 ELF-EMF 致免疫损伤的防护或改善作用,可以为探索开发更加低毒高效、防治兼备的辐射防护剂提供科学依据。

胸腺和脾脏分别是 T 细胞分化发育、B 细胞成熟的免疫器官,同时也是 T、B 淋巴细胞发生免疫应答的部位。对电离辐射极为敏感。本研究的结果显示,ELF-EMF 可使小鼠的胸腺指数和脾脏指数显著降低(分别为 $p < 0.05$, $p < 0.01$),LSPCs 剂量组特别是 90 mg/kg LSPCs 剂量组可明显改善这些变化,使之趋于正常。说明 LSPCs 对 ELF-EMF 致免疫器官损伤有一定的保护作用。

淋巴细胞作为免疫系统的重要组成部分,在机体的免疫应答中起着极为重要的作用,多种疾病状态都可以影响淋巴细胞的功能。ConA 可以使 T 淋巴细胞从 G0 期(静止期)进入 G1 期(DNA 合成前期),从而活化 T 淋巴细胞;LPS 是 B 细胞的丝裂原,直接刺激 B 细胞发生有丝分裂^[12]。NK 细胞是机体抗感染、抗肿瘤的重要免疫细胞,并在免疫调节和适应性反应的建立过程中起着关键作用^[13]。研究 LSPCs 对 ELF-EMF 辐照小鼠 T、B 淋巴细胞和 NK 细胞活性的影响,能从侧面反应其对机体免疫功能的作用方式。试验发现,ELF-EMF 抑制了脾脏 T、B 淋巴细胞的增殖以及 NK 细胞对 YAC-1 的杀伤作用。说明 ELF-EMF 降低了小鼠淋巴细胞的活性。LSPCs 浓度在 90 mg/kg 时极显著促进了小鼠 T、B 淋巴细胞的增殖、提高了 NK 细胞的活性($p < 0.01$,与 ELF-EMF 相比),其中 ELF-EMF+LSPCs 90 剂量组接近正常组水平。说明了辐射损伤的小鼠在经 LSPCs 处理后可以协同 ConA 刺激 T 细胞增殖,或协同 LPS 刺激 B 细胞增殖,并且显著地增强 NK 细胞活性。

IFN- γ 是活化的 T 淋巴细胞分泌的一种细胞因子,在机体的免疫反应中具有重要的调节作用。而 IL-4 能促进 B 细胞活化、增殖和分化,产生特异性抗体。在免疫应答过程中,机体内 IL-4 和 IFN- γ 的分泌是相互制约,相互协作的,共同维持细胞之间的动态平衡,一旦失衡将对机体产生非常不利的影响。实验发现,经过 ELF-EMF 辐照后,血浆和肝脏中 IL-4 和 IFN- γ 都有不同程度的降低,经过 LSPCs 处理后,又恢复了正常水平,且呈现剂量依赖关系。说明了 LSPCs 可提高受照小鼠 IL-4 和 IFN- γ 的分泌量,进而可能促进活化的淋巴细胞的分泌,还可促进 B 细胞的增殖分化,进而调节受照小鼠的免疫功能。

3 结论

3.1 ELF-EMF 辐照后小鼠免疫脏器指数降低,脾脏 T、B 淋巴细胞增殖和 NK 细胞活性受到抑制,血清和肝脏中 IL-4 和 IFN- γ 浓度降低。

3.2 LSPCs 可以刺激促进小鼠脾淋巴细胞的增殖,显著地增强 NK 细胞活性。并且可以有效地刺激 IL-4 和 IFN- γ 的分泌。

3.3 LSPCs 能够调节机体的细胞免疫和体液免疫功能及非特异性免疫功能,对 ELF-EMF 至免疫损伤具有预防作用。

参考文献

- [1] IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, World Health Organization, International Agency for Research on Cancer. Non-ionizing radiation: static and extremely low-frequency (ELF) electric and magnetic fields [M]. World Health Organization, 2002
- [2] World Health Organization. International classification of functioning, disability, and health: children & youth version: ICF-CY [M]. World Health Organization, 2007
- [3] Frahm J, Lantow M, Lupke M, et al. Alteration in cellular functions in mouse macrophages after exposure to 50 Hz magnetic fields [J]. Journal of Cellular Biochemistry, 2006, 99(1): 168-177
- [4] Frahm J, Mattsson M O, Simkó M. Exposure to ELF magnetic fields modulate redox related protein expression in mouse macrophages [J]. Toxicology Letters, 2010, 192(3): 330-336
- [5] Gobba F, Bargellini A, Scaringi M, et al. Extremely low frequency-magnetic fields (ELF-EMF) occupational exposure and natural killer activity in peripheral blood lymphocytes [J]. Science of the Total Environment, 2009, 407(3): 1218-1223
- [6] Ling Z Q, Xie B J, Yang E L. Isolation, characterization, and determination of antioxidative activity of oligomeric procyanidins from the seedpod of Nelumbo nucifera Gaertn [J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53(7): 2441-2445
- [7] 张海晖,武妍,张瑞,等.莲房原花青素对极低频电磁场致海马神经元损伤的预防作用[J].食品科学,2013,13: 229-233
ZHANG Hai-hui, WU Yan, ZHANG Rui, et al. Preventive effect of procyanidins from lotus seedpod on hippocampal neurons injury induced by extremely low frequency electromagnetic field [J]. Food Science, 2013, 13: 229-233

- [8] 张海晖,樊蓉,程燕翔,等.莲房原花青素对极低频电磁场致雄性小鼠生殖损伤的影响[J].现代食品科技,2015,31(6): 13-17
ZHANG Hai-hui, FAN Rong, CHENG Yan-xiang, et al. The effects of lotus seedpod procyanidins on extremely low frequency electromagnetic exposure-induced reproductive injury in male mice [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2015, 31(6): 13-17
- [9] Duan Y, Wang Z, Zhang H, et al. Extremely low frequency electromagnetic field exposure causes cognitive impairment associated with alteration of the glutamate level, MAPK pathway activation and decreased CREB phosphorylation in mice hippocampus: reversal by procyanidins extracted from the lotus seedpod[J]. *Food & function*, 2014, 5(9): 2289-2297
- [10] 王丽,许奇,徐顺,等.茶多酚对微生物生长影响的研究进展[J]. 现代食品科技,2013,29(7):1737-1741
WANG Li, XU Qi, XU Shun, et al. Research progress of tea polyphenols on growth of microorganisms [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2013, 29(7): 1737-1741
- [11] 刘忠义,谭操,刘文平,等.籽瓜皮多酚的体外抗氧化及抗紫外线辐射作用研究[J].现代食品科技,2014,30(8):70-75
LIU Zhong-yi, TAN Cao, LIU Wen-ping, et al. *In vitro* antioxidant activity and resistance to ultraviolet radiation of polyphenol from watermelon rind [J]. *Modern Food Science and Technology*, 2014, 30(8): 70-75
- [12] Samanidou V F, Demetriou C E, Papadoyannis I N. Direct determination of four fluoroquinolones, enoxacin, norfloxacin, ofloxacin, and ciprofloxacin, in pharmaceuticals and blood serum by HPLC [J]. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 2003, 375(5): 623-629
- [13] Ahmed K M, Nantajit D, Fan M, et al. Coactivation of ATM/ERK/NF- κ B in the low-dose radiation-induced radioadaptive response in human skin keratinocytes [J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2009, 46(11): 1543-1550