

线粒体氧化应激与天然抗氧化剂研究进展

李兴太, 纪莹

(大连民族学院生命科学学院, 辽宁 大连 116600)

摘要: 活性氧主要来源于线粒体呼吸, 是一柄“双刃剑”, 其在生理浓度时广泛参与细胞的信号转导和生命过程, 过量时又能引起线粒体氧化应激, 从而导致衰老及相关疾病的发生。如何保持细胞内的氧化与抗氧化平衡(氧化还原平衡), 既不过度氧化损伤, 也不过度抗氧化而影响正常的信号转导, 这对健康极为重要。因此, 细胞氧化还原调控与衰老机制不再是简单的“衰老的自由基学说”, 也不再是简单的抗氧化延缓衰老。抗氧化剂是身体健康所必需的, 富含抗氧化剂的膳食有助于心血管疾病、神经退行性疾病、癌症等重大疾病发病率的降低。本文从线粒体氧化应激、抗氧化剂的必要性和来源、抗氧化防御系统、氧化还原平衡与抗氧化悖论、天然抗氧化剂等方面阐述氧化与抗氧化平衡对健康的重要性, 为促进健康并延缓衰老提供新的思路。

关键词: 线粒体; 氧化应激; 抗氧化剂; 活性氧; 氧化还原平衡

Recent Advances in Mitochondrial Oxidative Stress and Natural Antioxidants

LI Xingtai, JI Ying

(College of Life Science, Dalian Nationalities University, Dalian 116600, China)

Abstract: Reactive oxygen species (ROS), mainly from mitochondrial respiration, is a “two-edged sword”. On one hand, they are widely involved in cellular signal transduction and life processes at physiological concentrations; on the other hand, they can cause mitochondrial oxidative stress when overdose used, resulting in aging and related diseases. How to maintain the balance of oxidation and antioxidant (redox balance), neither excessive oxidative damage, nor excessive antioxidant affect the normal redox-dependent signal transduction, is extremely important for health. Therefore, the relationship between cellular redox regulation and aging mechanism is no longer the simple “free radical theory of aging”, nor the simple anti-aging with antioxidant. Antioxidants are necessary for good health, and an antioxidant-rich diet may help reduce the incidence of cardiovascular diseases, neurodegenerative diseases, cancer and other major diseases. This review describes the importance of oxidation and antioxidant balance for health from the perspectives of mitochondrial oxidative stress, the necessity and sources of antioxidants, antioxidant defense systems, redox balance and antioxidant paradox, natural antioxidants, etc. New ideas for promoting health and anti-aging are provided.

Key words: mitochondria; oxidative stress; antioxidant; reactive oxygen species; redox balance

中图分类号: Q505

文献标志码: A

文章编号: 1002-6630(2015)07-0268-10

doi:10.7506/spkx1002-6630-201507048

在过去的几十年里, 由于认识到氧自由基对心血管疾病、神经退行性疾病、衰老和癌症等过程的影响, 人们对食品和膳食抗氧化活性的研究兴趣越来越浓, 抗氧化已成为我国功能食品27项保健功能之一。近年来已报道了很多关于抗氧化剂对人类健康的贡献。但最佳摄入量及这些微量营养素抗氧化作用的机制仍未见报道。抗氧化剂是身体健康所必需的, 富含抗氧化剂的膳食有助于心血管疾病、神经退行性疾病等慢性疾病发病率的降低。特别是癌症的发展或生长可被抗氧化剂抑制。抗氧

化剂可延缓或阻止自由基对某一底物的氧化^[1], 能阻断氧化的自由基链反应且能从酚羟基提供氢, 从而形成稳定的终产物而不启动或延伸脂质进一步氧化^[2]。由于事关人类生活和健康, 抗氧化剂的保健作用受到普遍认可, 对抗氧化剂的需求也就越来越大。高剂量活性氧(reactive oxygen species, ROS)是有害的, 表现为病理生理作用, 而在低剂量时其对正常的生理活动则是有益的^[3-4]。在生命系统中外源性抗氧化剂对维持氧化与抗氧化之间这种微妙的平衡中发挥了关键作用^[5-6]。氧化与抗氧化平

收稿日期: 2014-06-04

基金项目: 大连市科技计划项目(2013E15SF131); 中央高校基本科研业务费专项资金项目(DC12010210);

大连民族学院人才引进科研项目(20116126)

作者简介: 李兴太(1966—), 男, 副教授, 博士后, 研究方向为功能食品及中药线粒体生化药理。E-mail: xlti@dlnu.edu.cn

衡是维持健康的生物系统的关键^[5,7]。本文从线粒体氧化应激、抗氧化防御系统、氧化还原平衡与抗氧化悖论、天然抗氧化剂等方面阐述氧化与抗氧化平衡对健康的重要性,为促进健康、延缓衰老提供新理念。

1 线粒体氧化应激

1.1 线粒体的主要功能及功能障碍

线粒体,一种将物质代谢、能量代谢和遗传变异三大基本生命活动形式融于一体的半自主性细胞器,承担细胞能量(腺苷三磷酸(adenosine triphosphate, ATP))生成、ROS的主要来源及细胞凋亡的主开关等多种重要功能,是整个细胞乃至生命体进行各项生命功能活动的枢纽和核心。此外,该多功能的细胞器还参与细胞信号传导^[8]。线粒体这些生理功能主要是通过调整能量代谢和ROS的生成实现的,线粒体通过操纵生物能学、氧化还原平衡、通透性转换(mitochondrial permeability transition, MPT)等因素而调控细胞的生与死^[9-10]。

线粒体功能障碍会破坏细胞、组织和器官的功能,进而引起癌症、重症肌无力、肥胖、中风、心血管疾病(高血压、冠心病、心衰、糖尿病及动脉粥样硬化等)、年龄相关性疾病、神经退行性疾病(帕金森症、老年痴呆症、抑郁症等)等多种疾病和衰老的发生,而这些疾病正是现今威胁人类生命的重大疾病,所以,线粒体已成为治疗疾病的一个新靶点^[11-12],而线粒体 Ca^{2+} 、ATP、ROS代谢紊乱及细胞凋亡是所有这些疾病的共同病理机制^[13]。通过外在的干预调节这些内在途径可以改善或危及健康寿命^[14]。这些寿命调节干预措施的一个共同点似乎是由其对细胞能量代谢和应激反应的能力来决定^[10]。线粒体又是高度动态的细胞器,在细胞内环境稳定中发挥核心作用^[15]。

1.2 线粒体活性氧(mitochondrial reactive oxygen species, mROS)的生成及其双刃效应

机体内95%以上的ROS源于细胞内氧被消耗的主要部位——线粒体(消耗机体所摄入氧的90%)。正是在此,还原性底物提供电子以形成电化学梯度,从而最终导致细胞的能量货币ATP的生成,这是通过线粒体内膜上一系列蛋白复合体的氧化反应进行的。电子从这些复合体漏出导致氧的单电子还原形成超氧阴离子自由基($\text{O}_2^{\cdot-}$)——大部分ROS的前体。歧化超氧化物生成 H_2O_2 ,随后通过Haber-Weiss反应 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 与 H_2O_2 相互作用或Fenton反应裂解 H_2O_2 形成羟自由基($\cdot\text{OH}$)^[16]。

线粒体呼吸是机体内ROS的主要来源,耗氧的约0.2%通常在静息状态转化成 $\text{O}_2^{\cdot-}$ ^[17]。除非充分解毒,超氧化物导致线粒体氧化应激且可能有助于线粒体功能的下降,该过程与多种病理学相关。当这些氧化还原载体带

电荷越多且电子转移的位能(线粒体膜电位)较高时,则电子转移到氧产生超氧化物的可能性就越大;相反,当可用电子减少且转移位能降低,ROS的生成就会减少。已知通过电子漏至分子氧生成ROS的线粒体酶包括电子传递链(electron transport chain, ETC)复合体I、II和III^[18-21]、三羧酸(tricarboxylic acid, TCA)循环酶顺乌头酸酶和 α -酮戊二酸脱氢酶^[22]、丙酮酸脱氢酶和甘油-3-磷酸脱氢酶^[23]、二氢乳酸脱氢酶、单胺氧化酶A和B^[24]及细胞色素 b_5 还原酶^[25]。

从历史上看,mROS被认为只引起细胞损伤及生理功能障碍。ROS及其氧化损伤与多种疾病,包括神经退行性疾病、糖尿病、癌症和过早衰老相关。然而,在过去的20多年,广泛的研究显示,mROS对健康的细胞功能至关重要^[26]。 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 等ROS也可产生有益的效应,其通过作为(氧化还原)信号参与细胞调节,且其有害作用主要是由于信号传导受损的结果,而不是由于直接损伤敏感的靶标。ROS也可作为促存活信号增加寿命^[27]。体内产生的ROS,在不同的细胞信号传导通路中发挥重要作用。与慢性疾病(如癌症)有关的绝大多数危险因素,如应激、烟草、环境污染物、辐射、病毒感染、膳食和细菌感染,均通过ROS的产生与细胞发生相互作用^[28]。

ROS是细胞信号传导途径的组成部分,ROS又可激活各种转录因子(例如,活化B细胞的核因子 κ -轻链增强子(nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells, NF- κ B)、激活蛋白-1、缺氧诱导因子-1 α 及信号转导子与转录激活子3(signal transducer and activator of transcription 3, STAT3)),导致调控炎症、细胞转化、肿瘤细胞存活、肿瘤细胞增殖与侵袭、血管生成和转移的蛋白的表达。矛盾的是,ROS还控制各种肿瘤抑制基因(*p53*、*Rb*和*PTEN*基因)的表达,抑制肿瘤的进展,大多数化疗和放疗药是通过增加肿瘤细胞ROS应激而起作用。类似地, γ 辐射和各种化疗剂用于治疗癌症,是通过ROS的产生介导其效应。有趣的是,ROS也参与源自水果、蔬菜、香料和传统医学使用的其他天然产物的营养保健品的化学预防和抗肿瘤作用,ROS是一把双刃剑。由于ROS的双重作用,既有基于助氧化剂,又有基于抗氧化剂的抗癌药物已经开发出来^[28-29]。

1.3 氧化应激

在正常细胞中,存在适当的助氧化-抗氧化平衡,但是,当ROS的生成增强或抗氧化剂的水平降低时这种平衡可以转向助氧化,这种状态称为氧化应激。Sies^[30]引入了氧化应激的概念,即助氧化-抗氧化平衡的破坏,氧化应激代表ROS的生成和表现与生物系统解毒活性中间产物或修复损伤的能力之间的不平衡;氧化应激是指过量的ROS或氧化剂超过细胞有效的抗氧化应答能力而导致的失衡;氧化应激是有害的,因为其会导致细胞生物大

分子损伤与突变及生长抑制等,且参与各种疾病如动脉粥样硬化、糖尿病、癌症、神经退行性疾病和衰老等^[27]的发生。氧化应激基本上是由两种主要机制引起的:由抗氧化酶的突变、毒素或天然抗氧化剂的摄入减少所致的抗氧化剂的浓度降低;在慢性炎症时活化吞噬细胞产生的活性氧、氮或碳为基础的活性物质数量的增加^[31]。

ROS和活性氮(reactive nitrogen species, RNS)如超氧化物、 H_2O_2 、单线态氧($^1\text{O}_2$)和氮自由基等,由于各种内源或外源因素将产生于人体内。越来越多的证据表明,ROS,如过氧自由基($\text{ROO}\cdot$)、 $\text{HO}\cdot$ 、 $\text{O}_2^-\cdot$ 和 $^1\text{O}_2$,都参与衰老和多种疾病,如癌症、阿尔茨海默氏病和帕金森氏症的病理生理学^[32-33]。ROS和其他自由基是需氧生命正常细胞代谢的副产品。ROS也通过紫外线、X射线和 γ 射线在照射过程中产生,是金属催化反应的产物;还在大气污染物中存在,嗜中性粒细胞和巨噬细胞在炎症过程中同样会产生,又是线粒体催化的电子传递反应和其他机制的副产物^[34]。ROS可以促进活细胞中的脂类、蛋白质、核酸和多不饱和脂肪酸的氧化损伤。众所周知,自由基或ROS对许多慢性疾病的发展,如衰老过程、心脏疾病和癌症发挥着重要的作用^[35]。在过去的几年中,发现ROS和RNS的形成参与了食品的氧化变质,以及一些人类疾病,如动脉粥样硬化、糖尿病、慢性炎症、神经退行性疾病和某些类型的癌症的发病机制^[36-37]。寻找有效的方法以减少或抑制自由基在体内的产生,对健康具有重要意义。氧化应激被定义为ROS的产生和抗氧化防御之间的失衡。由于助氧化-抗氧化反应平衡状态的破坏,ROS过量引起氧化应激,抑制细胞脂质、蛋白质、DNA和RNA的正常功能^[38]。衰老的自由基理论已经扩展到线粒体氧化应激理论,线粒体因其在生物能学、氧化剂生成和细胞死亡的调控中起关键作用而在衰老的发展过程中发挥核心作用^[20]。

1.4 线粒体低毒兴奋效应

近些年发现,虽然抗氧化酶的过量表达和抗氧化剂的膳食补充在减轻年龄相关性生理功能障碍,及延长平均寿命方面有一定程度的成功,但其并不能延长最大寿命。临床研究表明,抗氧化干预对癌症、糖尿病、心血管疾病和整体死亡率没有健康益处或产生不利的影响。在某些情况下,例如在酵母生长或线虫发育活跃阶段,在应答多种环境应激,包括高压氧和ROS生成增加(可成为信号分子)时,增强应激抵抗,表现出寿命延长^[39-40]。这些结果表明,适度的ROS产生促进长寿是通过诱导固有适应性反应对抗氧化应激;这种机制可能是总应激抵抗的发展及寿命延长所必须的。对低剂量毒物有利的应答称为低毒兴奋效应(hormesis)。而对mROS的适应性有益应答称为线粒体低毒兴奋效应(mitohormesis),其已成为衰老和长寿通路中一个新的重要组成部分^[41-43]。

鉴于外源性抗氧化干预对线粒体生物发生和内源性抗氧化防御影响矛盾的报道,一个新的研究领域聚焦于表征应答低水平应激时适应性细胞保护应答的分子机制——低毒兴奋效应,这是一个双相剂量效应,非致命性应激物在低浓度下产生阳性或刺激效应,而高浓度产生抑制性或毒性效应^[20,44-45],线粒体结构和功能的改变可损伤氧化磷酸化,这反过来又减少能量产生、改变细胞的氧化还原状态、增加ROS的产生,如何使氧化磷酸化蛋白表达的变化转化为延长寿命?越来越多的证据表明,线粒体低毒兴奋效应是一个贡献者,使衰老的线粒体理论指向一个新的方向。基于低毒兴奋效应的寿命延长作用,线粒体低毒兴奋效应理论认为,葡萄糖限制条件下mROS的产生可增强抗应激能力,从而延长寿命^[46-47]。

2 抗氧化剂的概念与必要性

越来越多的关注转向于发现一些天然抗氧化剂化合物,其可以从草药中分离,并有效地清除自由基。最近,抗氧化剂对这些有害的氧化诱导反应的保护作用受到较多关注,尤其是在生物、医疗、营养和农业化学领域^[48]。氧化剂和还原剂是化学术语,在生物环境中,其通常分别被称为“助氧化剂与抗氧化剂”。助氧化剂,是指对各种生物靶如核酸、脂类和蛋白质,可诱导其氧化损伤的物质。而抗氧化剂,可以有效地还原助氧化剂,并生成无毒性或低毒性产物的物质。

抗氧化剂的最佳定义由Halliwell等^[49]所提出,是指与可氧化的底物(DNA、蛋白质、脂肪或糖类)相比,在低浓度时可显著延迟或防止ROS引起该底物氧化损伤的物质。这种保护可能是基于不同的作用机制,如抑制ROS或RNS的产生和对其清除的能力、还原力、金属螯合能力、 $^1\text{O}_2$ 猝灭活性及 H_2O_2 分解活性。抗氧化剂作为一种防御性的因子,可对抗体内自由基的效应,不仅能消除ROS,还能调节细胞的氧化还原状态,使氧化还原信号转导成为可能。其通过抑制起始和延伸步骤,导致反应终止并延缓氧化过程^[50],抑制疾病恶化的氧化机制^[51]。

3 抗氧化防御系统

在体外,线粒体可将所摄入氧的1%~5%转换成 $\text{O}_2^-\cdot$ ^[52],考虑到该数值是在较高(非生理)浓度的氧存在下测得的,在体内, $\text{O}_2^-\cdot$ 生成速率则可能会相对较低^[33]。但是,机体不依赖于ROS生成的绝对量,并进化了几个抗氧化保护系统,以对抗这些氧化剂的生成^[53]。

3.1 机体的抗氧化防御系统

人体的抗氧化防御系统,包括内源性(酶和非酶)抗氧化剂,如超氧化物歧化酶(superoxide dismutase,

SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)及谷胱甘肽过氧化物酶(glutathione peroxidase, GSH-Px)(将 H_2O_2 转化为水)等,和主要来源于膳食的外源性抗氧化剂,如亲水性的自由基清除剂(VC和谷胱甘肽(glutathione, GSH)),与亲脂性的自由基清除剂,即生育酚、类黄酮、类胡萝卜素和辅酶Q(均直接清除 $O_2^{\cdot-}$ 和 $\cdot OH$ 及 1O_2)^[5,54]。内源性和外源性抗氧化剂共同(如协同)作用,以保持或重新建立氧化还原平衡,如VE的再生过程是通过GSH或VC防止脂质过氧化(lipid peroxidation, LPO),LPO通过使受体、酶和离子通道失活可影响膜流动性或损伤膜蛋白,甚至破坏膜的完整性,最终导致细胞死亡^[55]。儿茶素通过清除膜表面附近的亲水性自由基而阻止VE的消耗,VE作为氢供体清除脂质过氧自由基($LOO\cdot$)从而阻止自由基链反应(链断裂抗氧化剂)^[56]。GSH和其他低分子质量抗氧化剂,在保持足够的GSH-Px底物水平及保持VE和VC的还原态方面发挥了重要作用^[57]。

许多健康组织(如美国卫生部等)建议,应该摄取富含天然抗氧化剂的全食物,其包含营养素(如维生素)和植物化学物质(如多酚)。事实上,人类是不能够从头合成这些抗氧化成分,而植物性食物,如苹果、李子、香蕉、西红柿、土豆、洋葱、西兰花等是这些抗氧化剂成分的天然来源^[5,54,58]。抗氧化剂除了天然存在于食品外,强化、补充分离得到的抗氧化成分及摄入合成抗氧化剂,也是抗氧化剂的来源,如丁基羟基茴香醚(butylated hydroxyanisole, BHA)、二丁基羟基甲苯(butylated hydroxytoluene, BHT)、叔丁基对苯二酚(tert-butylhydroquinone, TBHQ)、丙基、辛基与十二烷基没食子酸(最初用于保护和保持营养品质及延长加工食品的保质期)^[59]。

3.2 线粒体抗氧化防御系统与ROS的清除

线粒体亦具有酶和非酶抗氧化防御系统。该系统的非酶成分,包括亲水性和亲脂性的自由基清除剂,例如,细胞色素c、 α -生育酚、 α -硫辛酸、VC、还原型辅酶 Q_{10} 和GSH。酶系统包括锰SOD(MnSOD)^[60]、CAT、GSH-Px、磷脂氢过氧化物谷胱甘肽过氧化物酶(还原磷脂、脂蛋白和胆固醇酯上的氢过氧化物基团)^[61],以及参与氧化形式的小抗氧化分子还原的酶,如谷胱甘肽还原酶;负责保护蛋白质巯基的酶,如硫氧还蛋白还原酶;或谷氧还蛋白还原酶和过氧化还原酶^[62]。GSH由谷胱甘肽还原酶及还原型硫氧还蛋白2还原,还原酶的再生均依赖于烟酰胺腺嘌呤二核苷酸磷酸(nicotinamide adenine dinucleotide phosphate reduced, NADPH)。这些酶其相应的基因突变与特发性心肌病、神经系统疾病、糖代谢障碍及癌症相关^[63-65]。在结构和功能完整的线粒体中,抗氧化防御能力能够平衡ROS的生成,限制净ROS的利用度。降低的抗氧化防御能力是增加的净ROS生成和氧化应激的先决条件^[66]。

近年来,对抗氧化剂的摄入及其在降低慢性疾病,如癫痫、癌症、冠心病(coronary heart disease, CHD)、中风、糖尿病和关节炎发病率中的作用给予了极大的关注。提出抗氧化化合物的保护作用部分原因是由于抗氧化营养素(如VC和类胡萝卜素)抑制LPO和氧化细胞损伤^[67-68]。膳食补充乙酰基肉碱和硫辛酸及富含类黄酮的植物提取物可预防年龄相关性小鼠生理功能下降,并解释为是由于线粒体氧化损伤的保护或修复^[69]。

线粒体氧化功能障碍,被许多常见的微量营养素缺乏所加速。一个主要的机制是抑制了线粒体血红素生物合成途径,从而导致血红素a缺陷。通过这一机制,矿物质,如铁、锌和几种维生素缺乏(如生物素或泛酸),可促进线粒体氧化功能障碍。Ames等^[70]提出,微量营养素的最佳摄入量,可以调整代谢,并以较小的代价明显增进健康,特别适于穷人、老人和肥胖者。膳食中加入低分子质量的抗氧化剂,如2-巯基乙胺^[71]和2-乙基-6-甲基-3-羟基吡啶^[72],能够实现13%~29%的平均寿命延长。其他物质,如N-乙酰半胱氨酸^[73]、泛醌^[74]和褪黑素^[75],可改善衰老线粒体功能,其效应被解释为抗氧化作用。

过度表达抗氧化酶及其他线粒体调节酶的转基因动物寿命的增加促进了对衰老机制的理解。Schriner等^[76]报道称,过度表达人心脏线粒体CAT的转基因小鼠已增加了平均和最大寿命。该种转基因小鼠减少了年龄依赖性动脉粥样硬化,并增加了基因组的稳定性,如氧化应激标记物及心脏和肌肉线粒体DNA(mtDNA)缺失的减少所示。氧化损伤被减少, H_2O_2 的生成和 H_2O_2 -诱导的顺乌头酸酶的失活被减轻,且线粒体的缺失减少了。这些结果支持线粒体的氧化应激及损伤是健康和寿命的决定因素的概念^[76]。从单一基因的上调所导致较大的寿命延长,提示上调相对较少的长寿基因,有可能会对寿命的戏剧性增加^[77]。因此,线粒体 $O_2^{\cdot-}$ 和 H_2O_2 的稳态浓度降低能够诱导生存期的延长^[69]。

VC可以通过促进葡萄糖转运子进入线粒体,并抗氧化损伤以保护线粒体。VC参与许多生物过程,是胶原蛋白、单胺、氨基酸、肽类激素和肉碱的合成步骤中一些酶的辅因子^[78-79]及在多层次抗氧化防御中起重要作用。其可以直接代谢ROS,使 α -生育酚(VE)维持还原形式,并介导电子传递过程中依赖于VC的过氧化物酶^[79-80]。因凋亡性细胞死亡引起的组织致病性功能障碍,是氧化应激一个重要的后果,使用抗氧化剂如VC可以使之降低^[81]。

4 氧化还原平衡与抗氧化悖论

由于mROS的双刃效应,ROS形成和消除(由抗氧化酶和抗氧化剂)之间必须保持平衡。这意味着,过量的ROS造成机体损伤。然而,完全消除ROS会抑制机体应

答外部应激因素（以适应性应激应答的形式）反应的能力^[44]。ROS相关疾病可以是由缺乏ROS（如慢性肉芽肿病、某些自身免疫性疾病等）或ROS过剩（如心血管疾病和神经退行性疾病等）引起。对于ROS过剩引起的疾病，在临床研究中补充抗氧化剂已被证明基本无效，很可能是因为其作用太晚、太小及特异性太差^[82]。因mROS的双重功能（促进细胞损伤与促进细胞适应）使得它可能难以成为治疗靶点。换言之，通过抗氧化剂抑制mROS对细胞功能不具有可预测的结果，因为mROS的作用因不同的环境条件而改变^[26]。因此，术语“氧化还原调控”似乎更好地描述氧化还原状态及其后果。ROS与抗氧化保护系统必须协调作用，达到氧化还原平衡状态^[83]，笔者认为，这颇类似于中医学几千年前就提出的阴阳平衡理论（阴平阳秘，精神乃治），在此，还原（抗氧化）属阴、氧化属阳。

氧化与抗氧化平衡是健康的关键。生理条件下，人体的抗氧化防御系统可以清除过剩的ROS，包括 O_2^- 、 $\cdot OH$ 、 $RO\cdot$ 和 $ROO\cdot$ 。然而，离开在生物体的许多抗氧化机制中发挥了至关重要作用的外源性还原性物质，如VC、VE、类胡萝卜素和多酚化合物，我们的内源性抗氧化防御系统则是不充分的。因此，对外源性抗氧化剂有持续需求，以防止氧化应激的发生。然而，分离得到的抗氧化剂化合物在使用剂量较高时可能是有毒的，因为这种高浓度时的助氧化作用或其与生理条件下存在的最佳细胞功能需要的有益浓度的ROS反应的可能性。本文探讨膳食源最丰富的抗氧化剂化合物，特别是多酚类，VC、VE和类胡萝卜素的双刃效应。强调指出，生理剂量的抗氧化剂通常是安全的，并表现出对健康有益的影响。

已确认许多食品和饮料，包括水果、蔬菜、茶、咖啡和可可对人体健康的有益影响源于其抗氧化活性。所有需氧生物均具有抗氧化防御系统，包括抗氧化酶和抗氧化成分，可清除或修复受损的分子。保护细胞对抗氧化应激是由抗氧化酶交互网与化学抗氧化剂共同完成^[84]。此外，酶在一些食品中的应用，已被作为新型天然抗氧化剂来评价，其可以被有益地用来除去ROS并降低脂质氢过氧化物。抗氧化化合物能清除自由基、延缓LPO反应过程（这是食品和药品在加工和储存过程中变质的主要原因之一）以增加保质期^[85]。抗氧化剂可以保护人体免受自由基和ROS的影响，其延缓许多慢性疾病及LPO的进展。抗氧化剂往往添加到食品中，以防止氧化的自由基链反应，并通过抑制起始和延伸步骤，导致反应终止并延缓氧化过程^[50]。

不加批评地接受一个事实，即生物分子及其降解产物中额外氧原子的存在是氧化的标志，这导致抗氧化剂定义的误导。根据电化学原理抗氧化剂必须具有还原

性，但除了VC和GSH，只有极少数的天然物质具有还原性^[86]。因此，VC不但不能防止氧化应激的后果^[87]，相反却具有有害的效应则并不奇怪^[88]。基于这些事实，提出了抗氧化悖论，即不能证明抗氧化疗法对氧化应激相关疾病，如动脉粥样硬化，表现出显著的效果^[89]。另一证据表明，使用抗氧化剂预防或治疗高血压无效，说明其没有益处^[90]。与此相反，富含水果、蔬菜和粗粮的膳食却可通过减少自由基的应激保护心血管系统并能降低血压^[91]。

5 抗氧化效应

在过去的几年中，抗氧化剂在保护生物体或组织，或非生物系统对抗氧化应激方面的重要性已经越来越明显，其被各种领域，包括生理学、药理学、营养和食品加工方面的研究所支持^[92]。在食品领域，抗氧化剂被定义为能够延迟、减缓或防止酸败，或其他因氧化而致食品香味变质的任何物质。抗氧化剂通过延长诱导期延缓异味的变化，这一时期结束后添加抗氧化剂延迟酸败是无效的。此外，其还可按两种方式抑制或延缓氧化：可以通过清除自由基抗氧化，在这种情况下，该化合物被称为初级抗氧化剂，或通过不涉及直接清除自由基的机制。初级抗氧化剂包括酚类化合物，如 α -生育酚，这些化合物在诱导期被摄入。次级抗氧化剂则通过多种不同机制发挥作用，如金属离子的螯合、ROS的清除、将氢过氧化物转换为非自由基物质、UV辐射的吸收或 O_2 的失活等。通常情况下，次级抗氧化剂只有当第二种微量成分存在时才有抗氧化活性。如多价螯合剂柠檬酸仅在金属离子存在的情况下有效，而还原剂，例如VC，在生育酚或其他初级抗氧化剂存在时才有效^[93]。

抗氧化活性的原理是根据可利用的电子中和任何自由基。另外，抗氧化活性与芳环上不同类型羟基的数量和性质有关。一般认为，作为氢供体及抑制氧化的能力随酚环羟基数的增加而增强。酚类化合物是一大类非常多样化的植物化学物质，广泛分布于植物中，如水果、蔬菜、茶叶、橄榄油、烟草等。表现出抗氧化性能的物质，可用于人类的食物成分，或作为特定的预防药物。因此，抗氧化剂已成为食品保鲜技术和现代医疗保健的重要组成部分，这与具有抗氧化药理活性的植物中酚类化合物，尤其是酚酸和类黄酮的存在有关。

6 天然抗氧化剂

目前比较常用的合成抗氧化剂为酚类化合物，如BHA、BHT、TBHQ和没食子酸丙酯（propyl gallate，PG），这些合成的抗氧化剂最常应用于食品中及药理学

研究。合成抗氧化剂总是被烷基取代,以改善其在脂肪和油中的溶解度。但由于毒性和致癌作用,BHA和BHT已被立法机构限制其使用。因此,可在食品中应用的安全、天然的抗氧化剂引起人们的浓厚兴趣,消费者越来越喜欢天然抗氧化剂,并推动了对天然抗氧化剂来源的探索。

天然抗氧化剂被发现于几乎所有的植物、微生物、真菌、甚至动物组织中。酚类化合物是植物次生代谢产物且天然存在于几乎所有的植物材料,包括植物源食品。人类膳食中含有具有抗氧化活性或基于其结构特性可清除ROS的一系列不同化合物。膳食抗氧化剂最突出的代表有VC、VE、类胡萝卜素和黄酮类化合物。除了VC,这些抗氧化剂中的每一组均由结构不同的化合物组成,例如,到目前为止已经鉴定了600多种类胡萝卜素且其中约50种可能会出现在人类膳食中^[94]。这些化合物被认为是人类和动物膳食不可缺少的部分^[95]。大部分天然抗氧化剂是酚类化合物,并且最重要的天然抗氧化剂类别有生育酚、类黄酮和酚酸。在膳食中,有可能存在这些不同化合物的协同效应且目前尚难以评价。事实上,膳食作用可被认为是成分之间相互作用引起的协同效应,这是个别成分所没有的性质。

在体外研究中强调了植物性食物成分的细胞保护活性,如多酚类物质及其混合物对抗氧化应激诱导的细胞死亡有预防作用^[96-97]。虽然公认植物化学成分的抗氧化活性^[5-6],但在一定条件下其也可表现助氧化活性,如高剂量或金属离子存在时^[98]。助氧化或抗氧化活性与其浓度密切相关。在这方面,最近采用细胞模型的研究强调指出,已知作为抗氧化剂的几种多酚物质具有助氧化活性,如槲皮素、儿茶素(包括表儿茶素与表没食子儿茶素-3-没食子酸酯(epigallocatechin-3-gallate, EGCG))和没食子酸^[99-100]。例如,已经证实,高剂量的槲皮素(50 $\mu\text{mol/L}$)可以在离体线粒体和培养的细胞中增强 $\text{O}_2^{\cdot-}$ 的生成^[99]。在另一项研究中,观察到低剂量(0.1~20 $\mu\text{mol/L}$)槲皮素具有抗氧化活性,而浓度较高(>50 $\mu\text{mol/L}$)时却降低细胞总抗氧化能力、细胞存活率和活力、巯基含量、SOD、CAT及谷胱甘肽S-转移酶(glutathione S-transferase, GST)活性^[100]。也已证明,低浓度(10~25 $\mu\text{mol/L}$)的黄酮类化合物(如槲皮素和漆黄素)保护大鼠H4IIE细胞对抗 H_2O_2 诱导的细胞毒性、DNA断裂和细胞凋亡,而高浓度(50~250 $\mu\text{mol/L}$)则引起细胞毒性、DNA损伤和细胞凋亡^[98]。因为高浓度的黄酮类化合物可以通过自氧化(如杨梅酮和六羟黄酮)或氧化还原循环(如槲皮素)产生ROS^[101]。

酚类抗氧化剂在清除自由基时,可形成活性较低的酚氧自由基,由于芳环周围未成对电子的离域作用而使之稳定。然而,即使这些自由基是相对稳定的,却也可以表现助氧化活性,诱导细胞损伤^[102]。公认多酚(或富

含抗氧化剂的水果和蔬菜)对抗癌症发展的化学预防机制之一是抑制癌变的第一步——起始,其发生于DNA氧化损伤引起突变之后^[103]。另一个可能的抗癌机制是单一膳食多酚的助氧化活性及促使线粒体功能障碍从而使细胞凋亡^[102]。

事实上,已证明经常食用水果和蔬菜的人群死亡率较低,可能是由于植物性食物可对抗癌症或心血管疾病等与氧化应激相关的慢性疾病的发展^[104]。然而,一些特定的食品,如苹果和洋葱对肺癌和冠心病有保护作用。流行病学专家推测,苹果和洋葱对肺癌的有益影响,可归因于少数甚至个别的物质,如动物实验研究中槲皮素对致癌物质表现出强大的化学预防活性^[105]。然而,越来越多的证据显示,植物性食物的健康益处可能不会归因于某一个特定的化合物,而是归因于整个水果和蔬菜,即其中的植物化学物质和营养物质复杂的协同作用^[103,106]。且在许多人体补充单一物质实验中未观察到其健康益处,甚至提出抗氧化成分,在一定条件下可能是有毒的,例如高剂量或缺乏协同化合物时^[7]。

个别抗氧化剂缺少有益的活性,甚至有毒,可能由于剂量差异所致^[107-108]。由于对剂量的依赖突出了复杂混合物的重要特性,如全食物含有维生素、矿物质等必需成分、膳食纤维和许多非营养植物化学物质,包括黄酮类、酚酸类、几种类胡萝卜素等。一些研究表明,单独补充VC、VE或 β -胡萝卜素没有任何有益效应^[107]。如给30名健康人每天补充500 mg高剂量的VC,引起淋巴细胞DNA的氧化损伤增加,表明高剂量的助氧化作用^[108]。另外,通过补充VE和VC未能减少吸烟者DNA的氧化损伤^[109]。与此相反,一些食用富含VC的水果和蔬菜的健康志愿者,DNA氧化损伤的水平却下降了。有人提出,在生理条件下,VC的抗氧化性能超过其助氧化活性^[109]。人体实验和体外研究表明,氧化应激导致VC和VE快速耗竭^[110]。反之,VE的缺乏引起转基因小鼠氧化应激紊乱^[111]。因此VC与VE之间的协同作用对预防LPO很重要^[3]。

除了抗氧化剂的活性在体内受不同浓度影响外,氧化代谢物的双刃效应也有据可查。细胞的氧化还原状态及其波动决定其功能。在低剂量时,ROS对多种生理功能起关键作用,如细胞信号传导、基因表达、免疫反应的调节及促进抗氧化防御机制^[3,112]。例如,已经证实至少有40多种基因在哺乳动物细胞中被 H_2O_2 激活^[113]。因氧化还原平衡对健康尤为重要,所以,尽管高剂量的抗氧化剂可作为助氧化剂,其也与最佳细胞功能所需的生理浓度ROS相互作用,破坏氧化还原平衡,导致细胞功能障碍。

7 结 语

线粒体是细胞生物能学的必要调节器,以应答环境

刺激(如激素、营养成分与氧张力)的变化。适应性的抗氧化系统对维持细胞临界氧化还原的平衡至关重要,因为线粒体可适应于ROS通量的变化,且其在细胞适应过程中起核心作用:在应答多种刺激时调节代谢、生物能学和ROS效应,以促进细胞生长和存活或死亡。氧化还原信号可快速适应于各种环境刺激,依赖于氧化还原的过程影响细胞的大部分功能,如分化、增殖和凋亡。线粒体是这些过程的中心,因为线粒体既生成ROS以驱动氧化还原敏感事件,又应答ROS介导的细胞氧化还原状态的变化^[114]。线粒体氧化还原平衡的破坏参与线粒体疾病、癌症、神经退行性疾病和心血管疾病的发病机制^[115]。因此,保护线粒体对健康长寿具有重要意义^[116]。

氧化与抗氧化平衡是健康的关键所在。在细胞氧化还原态,双刃剑效应不仅涉及ROS,还有抗氧化剂。生理剂量的外源性抗氧化剂可以保持或重新建立氧化还原平衡。然而,高剂量的外源性抗氧化剂可能会破坏氧化还原平衡。服用抗氧化化合物的人类流行病学研究和实验,与食用天然食品(如水果、蔬菜、粮食等)的对比中发现,植物化学物质和营养成分对健康有益。植物性食物中的物质可能比补充单一的、高剂量的化合物更安全和健康。植物性食物的有益活性可能源于两个主要因素:1)一般在天然食物基质中的营养和非营养物质浓度都较低;2)植物化学成分和营养物质的复杂混合物是共同作用或协同作用的。从研究中观察到矛盾的结果,可能是由于补充时一般未考虑这两个因素。

参考文献:

- [1] HALLIWELL B, AESCHBACH R, LOLIGER J, et al. The characterization of antioxidants[J]. Food and Chemical Toxicology, 1995, 33(7): 601-617.
- [2] AMAROWICZ R, PEGG R B, RAHIMI-MOGHADDAM P, et al. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies[J]. Food Chemistry, 2004, 84(4): 551-562.
- [3] VALKO M, LEIBFRITZ D, MONCOL J, et al. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease[J]. The International Journal of Biochemistry & Cell Biology, 2007, 39(1): 44-84.
- [4] ELAHI M M, KONG Y X, MATATA B M. Oxidative stress as a mediator of cardiovascular disease[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2009, 2(5): 259-269.
- [5] BOUAYED J. Polyphenols: a potential new strategy for the prevention and treatment of anxiety and depression[J]. Current Nutrition & Food Science, 2010, 6(1): 13-18.
- [6] PANDEY K B, RIZVI S I. Plant polyphenols as dietary anti-oxidants in human health and disease[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2009, 2(5): 270-278.
- [7] BOUAYED J, BOHN T. Exogenous antioxidants: double-edged swords in cellular redox state health beneficial effects at physiologic doses versus deleterious effects at high doses[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2010, 3(4): 228-237.
- [8] VASCONSUELO A, MILANESI L, BOLAND R. Actions of 17 β -estradiol and testosterone in the mitochondria and their implications in aging[J]. Ageing Research Reviews, 2013, 12(4): 907-917.
- [9] FERNADES M A S, MARQUES R J F, VICENTE J A F, et al. Sildenafil citrate concentrations not affecting oxidative phosphorylation depress H₂O₂ generation by rat heart mitochondria[J]. Molecular and Cellular Biochemistry, 2008, 309(1/2): 77-85.
- [10] TORGOVNICK A, SCHIAVI A, MAGLIONI S, et al. Healthy aging: what can we learn from *Caenorhabditis elegans*? Gesundes Altern: Was können wir von *Caenorhabditis elegans* lernen?[J]. Zeitschrift für Gerontologie und Geriatrie, 2013, 46(7): 623-628.
- [11] TATSUTA T, LANGER T. Quality control of mitochondria: protection against neurodegeneration and ageing[J]. The EMBO Journal, 2008, 27(2): 306-314.
- [12] PEREIRA C V, LEBIEDZINSKA M, WIECKOWSKI M R, et al. Regulation and protection of mitochondrial physiology by sirtuins[J]. Mitochondrion, 2012, 12(1): 66-76.
- [13] JENG J Y, LEE W H, TSAI Y H, et al. Functional modulation of mitochondria by eicosapentaenoic acid provides protection against ceramide toxicity to C6 glioma cells[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2009, 57(24): 11455-11462.
- [14] LIONAKI E, MARKAKI M, TAVERNARAKIS N. Autophagy and ageing: insights from invertebrate model organisms[J]. Ageing Research Reviews, 2013, 12(1): 413-428.
- [15] SCHIAVI A, VENTURA N. The interplay between mitochondria and autophagy and its role in the aging process[J]. Experimental Gerontology, 2014, 56: 147-153.
- [16] KRIVORUCHKO A, STOREY K B. Forever young: mechanisms of natural anoxia tolerance and potential links to longevity[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2010, 3(3): 186-198.
- [17] ST-PIERRE J, BUCKINGHAM J A, ROEBUCK S J, et al. Topology of superoxide production from different sites in the mitochondrial electron transport chain[J]. Journal of Biological Chemistry, 2002, 277(47): 44784-44790.
- [18] SUN J, TRUMPOWER B L. Superoxide anion generation by the cytochrome bc₁ complex[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2003, 419(2): 198-206.
- [19] ZHANG Li, YU Linda, YU Changan. Generation of superoxide anion by succinate-cytochrome c reductase from bovine heart mitochondria[J]. Journal of Biological Chemistry, 1998, 273(51): 33972-33976.
- [20] SHINMURA K. Effects of caloric restriction on cardiac oxidative stress and mitochondrial bioenergetics: potential role of cardiac sirtuins[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2013, <http://dx.doi.org/10.1155/2013/528935>.
- [21] VENDITTI P, di STEFANO L, di MEO S. Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species[J]. Mitochondrion, 2013, 13(2): 71-82.
- [22] ORRENIUS S, GOGVADZE V, ZHIVOTOVSKY B. Mitochondrial oxidative stress: implications for cell death[J]. Annual Review of Pharmacology and Toxicology, 2007, 47: 143-183.
- [23] MRACEK T, PECINOVA A, VRBACKY M, et al. High efficiency of ROS production by glycerophosphate dehydrogenase in mammalian mitochondria[J]. Archives of Biochemistry and Biophysics, 2009, 481(1): 30-36.
- [24] BORTOLATO M, CHEN K, SHIH J C. Monoamine oxidase inactivation: from pathophysiology to therapeutics[J]. Advanced Drug Delivery Reviews, 2008, 60(13): 1527-1533.
- [25] ADDABBO F, RATLIFF B, PARK H C, et al. The krebs cycle and mitochondrial mass are early victims of endothelial dysfunction:

- proteomic approach[J]. The American Journal of Pathology, 2009, 174(1): 34-43.
- [26] SENA L A, CHANDEL N S. Physiological roles of mitochondrial reactive oxygen species[J]. Molecular Cell, 2012, 48(2): 158-167.
- [27] LIOCHEV S I. Reactive oxygen species and the free radical theory of aging[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2013, 60: 1-4. doi: 10.1016/j.freeradbiomed.2013.02.011.
- [28] GUPTA S C, HEVIA D, PATCHVA S, et al. Upsides and downsides of reactive oxygen species for cancer: the roles of reactive oxygen species in tumorigenesis, prevention, and therapy[J]. Antioxidants & Redox Signaling, 2012, 16(11): 1295-1322.
- [29] RAY P D, HUANG B W, TSUJI Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling[J]. Cellular Signalling, 2012, 24(5): 981-990.
- [30] SIES H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants[J]. Experimental Physiology, 1997, 82(2): 291-295.
- [31] SOMOGYI A, ROSTA K, PUSZTAI P, et al. Antioxidant measurements[J]. Physiological Measurement, 2007, 28(4): R41-R55.
- [32] DAVIES K J A. Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair and replacement systems[J]. IUBMB Life, 2000, 50(4/5): 279-289.
- [33] FINKEL T, HOLBROOK N J. Oxidants, oxidative stress and the biology of ageing[J]. Nature, 2000, 408: 239-247.
- [34] CADENAS E. Biochemistry of oxygen toxicity[J]. Annual Review of Biochemistry, 1989, 58(1): 79-110.
- [35] GÜLÇİN İ, ELIAS R, GEPIREMEN A, et al. Antioxidant activity of lignans from fringe tree (*Chionanthus virginicus* L.)[J]. European Food Research and Technology, 2006, 223(6): 759-767.
- [36] VALKO M, RHODES C J, MONCOLA J, et al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer[J]. Chemico-Biological Interactions, 2006, 160(1): 1-10.
- [37] FRANKEL E N, GERMAN J B. Antioxidants in foods and health: problems and fallacies in the field[J]. Journal of the Science of Food and Agriculture, 2006, 86(13): 1999-2001.
- [38] GÜLÇİN İ, ELMASTAŞ M, ABOUL-ENEIN H Y. Antioxidant activity of clove oil: a powerful antioxidant source[J]. Arabian Journal of Chemistry, 2012, 5(4): 489-499.
- [39] PAN Y, SCHROEDER E A, OCAMPO A, et al. Regulation of yeast chronological lifespan by TORC1 via adaptive mitochondrial ROS signaling[J]. Cell Metabolism, 2011, 13(6): 668-678.
- [40] YANG W, HEKIMI S. A mitochondrial superoxide signal triggers increased longevity in *Caenorhabditis elegans*[J]. PLoS Biology, 2010, 8(12): e1000556. doi: 10.1371/journal.pbio.1000556.
- [41] RISTOW M, ZARSE K. How increased oxidative stress promotes longevity and metabolic health: the concept of mitochondrial hormesis (mitohormesis)[J]. Experimental Gerontology, 2010, 45(6): 410-418.
- [42] RISTOW M, SCHMEISSER S. Extending life span by increasing oxidative stress[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2011, 51(2): 327-336.
- [43] SCHROEDER E A, SHADEL G S. Alternative mitochondrial fuel extends life span[J]. Cell Metabolism, 2012, 15(4): 417-418.
- [44] SCHMEIBER S, RISTOW M, BIRTINGER M. Recent reassessment of the role of reactive oxygen species (ROS)[J]. Ernährungs Umschau International, 2013, 60(9): 162-167.
- [45] OWUSU-ANSAH E, SONG W, PERRIMON N. Muscle mitohormesis promotes longevity via systemic repression of insulin signaling[J]. Cell, 2013, 155(3): 699-712.
- [46] SCHULZ T J, ZARSE K, VOIGT A, et al. Glucose restriction extends *Caenorhabditis elegans* life span by inducing mitochondrial respiration and increasing oxidative stress[J]. Cell Metabolism, 2007, 6(4): 280-293.
- [47] PAN Y. Mitochondria, reactive oxygen species, and chronological aging: a message from yeast[J]. Experimental Gerontology, 2011, 46(11): 847-852.
- [48] MAGALHAES L M, SEGUNDO M A, REIS S, et al. Methodological aspects about *in vitro* evaluation of antioxidant properties[J]. Analytica Chimica Acta, 2008, 613(1): 1-19.
- [49] HALLIWELL B, MURCIA M A, CHIRICO S, et al. Free radicals and antioxidants in food and *in vivo*: what they do and how they work[J]. Critical Reviews in Food Science & Nutrition, 1995, 35(1/2): 7-20.
- [50] GÜLÇİN İ. Antioxidant and antiradical activities of *L*-carnitine[J]. Life Sciences, 2006, 78(8): 803-811.
- [51] GÜLÇİN İ. Antioxidant properties of resveratrol: a structure-activity insight[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies, 2010, 11(1): 210-218.
- [52] LEEUWENBURGH C, HEINECKE J W. Oxidative stress and antioxidants in exercise[J]. Current Medicinal Chemistry, 2001, 8(7): 829-838.
- [53] FIGUEIREDO P A, MOTA M P, APPELL H J, et al. The role of mitochondria in aging of skeletal muscle[J]. Biogerontology, 2008, 9(2): 67-84.
- [54] BIEHLER E, BOHN T. Methods for assessing aspects of carotenoid bioavailability[J]. Current Nutrition & Food Science, 2010, 6(1): 44-69.
- [55] BOUAYED J, RAMMAL H, SOULIMANI R. Oxidative stress and anxiety: Relationship and cellular pathways[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2009, 2(2): 63-67.
- [56] RICE-EVANS C A, MILLER N J, PAGANGA G. Structure-antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids[J]. Free Radical Biology and Medicine, 1996, 20(7): 933-956.
- [57] MEISTER A, ANDERSON M E. Glutathione[J]. Annual Review of Biochemistry, 1983, 52(1): 711-760.
- [58] MANACH C, SCALBERT A, MORAND C, et al. Polyphenols: food sources and bioavailability[J]. The American Journal of Clinical Nutrition, 2004, 79(5): 727-747.
- [59] MOURE A, CRUZ J M, FRANCO D, et al. Natural antioxidants from residual sources[J]. Food Chemistry, 2001, 72(2): 145-171.
- [60] FRIDOVICH I. Superoxide anion radical ($O_2^{\cdot-}$), superoxide dismutases, and related matters[J]. Journal of Biological Chemistry, 1997, 272(30): 18515-18517.
- [61] PUSHPA-REKHA T R, BURDSALL A L, OLEKSA L M, et al. Rat phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase. cDNA cloning and identification of multiple transcription and translation start sites[J]. Journal of Biological Chemistry, 1995, 270(45): 26993-26999.
- [62] MAHER P. Redox control of neural function: background, mechanisms, and significance[J]. Antioxidants & Redox Signaling, 2006, 8(11/12): 1941-1970.
- [63] TURNBULL J, LOHI H, KEARNEY J A, et al. Sacred disease secrets revealed: the genetics of human epilepsy[J]. Human Molecular Genetics, 2005, 14(17): 2491-2500.
- [64] TOYE A A, LIPPIAT J D, PROKS P, et al. A genetic and physiological study of impaired glucose homeostasis control in C57BL/6J mice[J]. Diabetologia, 2005, 48(4): 675-686.
- [65] PARSONS D W, JONES S, ZHANG X, et al. An integrated genomic analysis of human glioblastoma multiforme[J]. Science, 2008, 321: 1807-1812.
- [66] ADDABBO F, MONTAGNANI M, GOLIGORSKY M S. Mitochondria and reactive oxygen species[J]. Hypertension, 2009, 53(6): 885-892.
- [67] XAVIER S M L, BARBOSA C O, BARROS D O, et al. Vitamin C antioxidant in hippocampus of adult Wistar rats after seizures and

- status epilepticus induced by pilocarpine[J]. *Neuroscience Letters*, 2007, 420(1): 76-79.
- [68] STEINMETZ K A, POTTER J D. Vegetables, fruit and cancer II. Mechanisms[J]. *Cancer Causes & Control*, 1991, 2(6): 427-442.
- [69] NAVARRO A, BOVERIS A. The mitochondrial energy transduction system and the aging process[J]. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*, 2007, 292(2): C670-C686.
- [70] AMES B N, ATAMNA H, KILLILEA D W. Mineral and vitamin deficiencies can accelerate the mitochondrial decay of aging[J]. *Molecular Aspects of Medicine*, 2005, 26(4): 363-378.
- [71] HARMAN D. Free radical theory of aging: an update[J]. *Annals of the New York: Academy of Sciences*, 2006, 1067(1): 10-21.
- [72] EMANUEL N M. Free radicals and the action of inhibitors of radical processes under pathological states and ageing in living organisms and in man[J]. *Quarterly Reviews of Biophysics*, 1976, 9(2): 283-308.
- [73] NICOLETTI V G, MARINO V M, CUPPARI C, et al. Effect of antioxidant diets on mitochondrial gene expression in rat brain during aging[J]. *Neurochemical Research*, 2005, 30(6/7): 737-752.
- [74] OCHOA J J, QUILES J L, HUERTAS J R, et al. Coenzyme Q₁₀ protects from aging-related oxidative stress and improves mitochondrial function in heart of rats fed a polyunsaturated fatty acid (PUFA)-rich diet[J]. *The Journals of Gerontology Series A: Biological Sciences and Medical Sciences*, 2005, 60(8): 970-975.
- [75] OKATANI Y, WAKATSUKI A, REITER R J. Melatonin protects hepatic mitochondrial respiratory chain activity in senescence-accelerated mice[J]. *Journal of Pineal Research*, 2002, 32(3): 143-148.
- [76] SCHRINER S E, LINFORD N J, MARTIN G M, et al. Extension of murine life span by overexpression of catalase targeted to mitochondria[J]. *Science*, 2005, 308: 1909-1911.
- [77] CUTLER R G. Oxidative stress and aging: catalase is a longevity determinant enzyme[J]. *Rejuvenation Research*, 2005, 8(3): 138-140.
- [78] WILKINSON S R, PRATHALINGAM S R, TAYLOR M C, et al. Vitamin C biosynthesis in trypanosomes: a role for the glycosome[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 2005, 102(33): 11645-11650.
- [79] POWERS S K, JI L L, LEEUWENBURGH C. Exercise training-induced alterations in skeletal muscle antioxidant capacity: a brief review[J]. *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 1999, 31(7): 987-997.
- [80] ZOPPI C C, HOHL R, SILVA F C, et al. Vitamin C and E supplementation effects in professional soccer players under regular training[J]. *Journal of the International Society of Sports Nutrition*, 2006, 3(2): 37-44.
- [81] SANTOSÍ M S, TOMÉ A R, SALDANHA G B, et al. Oxidative stress in the hippocampus during experimental seizures can be ameliorated with the antioxidant ascorbic acid[J]. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2009, 2(4): 214-221.
- [82] BRIEGER K, SCHIAVONE S, MILLER F J, Jr, et al. Reactive oxygen species: from health to disease[J]. *Swiss Medical Weekly*, 2012, 142: w13659. doi: 10.4414/smw.2012.13659.
- [83] ALFADDA A A, SALLAM R M. Reactive oxygen species in health and disease[J]. *Journal of Biomedicine and Biotechnology*, 2012, doi: 10.1155/2012/936486.
- [84] DAVIES K J. Oxidative stress: the paradox of aerobic life[R]. *Biochemical Society Symposia*, 1995, 61: 1-31.
- [85] HALLIWELL B. Antioxidants in human health and disease[J]. *Annual Review of Nutrition*, 1996, 16(1): 33-50.
- [86] RIABCHENKO N I, RIABCHENKO V I, IVANNIK B P, et al. Antioxidant and prooxidant properties of the ascorbic acid, dihydroquercetin and mexidol in the radical reactions induced by the ionizing radiation and chemical reagents[J]. *Radiatsionnaia Biologiya, Radioecologiya/Rossiiskaia Akademiia Nauk*, 2010, 50(2): 186-194.
- [87] STEINHUBL S R. Why have antioxidants failed in clinical trials?[J]. *The American Journal of Cardiology*, 2008, 101(Suppl 10): 14-19.
- [88] SHARMA P, RAGHAVAN S A V, SAINI R, et al. Ascorbate-mediated enhancement of reactive oxygen species generation from polymorphonuclear leukocytes: modulatory effect of nitric oxide[J]. *Journal of Leukocyte Biology*, 2004, 75(6): 1070-1078.
- [89] PATTERSON C, MADAMANCHI N R, RUNGE M S. The oxidative paradox: another piece in the puzzle[J]. *Circulation Research*, 2000, 87(12): 1074-1076.
- [90] TOYOYZ R M, BRIONES A M. Reactive oxygen species and vascular biology: implications in human hypertension[J]. *Hypertension Research*, 2011, 34(1): 5-14.
- [91] DAUCHET L, AMOUYEL P, DALLONGEVILLE J. Fruits, vegetables and coronary heart disease[J]. *Nature Reviews Cardiology*, 2009, 6(9): 599-608.
- [92] MAGALHÃES L M, SANTOS M, SEGUNDO M A, et al. Flow injection based methods for fast screening of antioxidant capacity[J]. *Talanta*, 2009, 77(5): 1559-1566.
- [93] GÜLÇİN İ, OKTAY M, KÖKSAL E, et al. Antioxidant and radical scavenging activities of uric acid[J]. *Asian Journal of Chemistry*, 2008, 20(3): 2079-2090.
- [94] ROCK C L, JACOB R A, BOWEN P E. Update on the biological characteristics of the antioxidant micronutrients: vitamin C, vitamin E, and the carotenoids[J]. *Journal of the American Dietetic Association*, 1996, 96(7): 693-702.
- [95] GÜLÇİN İ. Antioxidant activity of caffeic acid (3,4-dihydroxycinnamic acid)[J]. *Toxicology*, 2006, 217(2): 213-220.
- [96] HEO H J, CHOI S J, CHOI S G, et al. Effects of banana, orange and apple on oxidative stress-induced neurotoxicity in PC12 cells[J]. *Journal of Food Science*, 2008, 73(2): H28-H32.
- [97] ROMIER B, van de WALLE J, DURING A, et al. Modulation of signalling nuclear factor-kappa B activation pathway by polyphenols in human intestinal Caco-2 cells[J]. *British Journal of Nutrition*, 2008, 100(3): 542-551.
- [98] WATJEN W, MICHELS G, STEFFAN B, et al. Low concentrations of flavonoids are protective in rat H4IIE cells whereas high concentrations cause DNA damage and apoptosis[J]. *The Journal of Nutrition*, 2005, 135(3): 525-531.
- [99] de MARCHI U, BIASUTTO L, GARBISA S, et al. Quercetin can act either as an inhibitor or an inducer of the mitochondrial permeability transition pore: a demonstration of the ambivalent redox character of polyphenols[J]. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, 2009, 1787(12): 1425-1432.
- [100] ROBASZKIEWICZ A, BALCERCZYK A, BARTOSZ G. Antioxidative and prooxidative effects of quercetin on A549 cells[J]. *Cell Biology International*, 2007, 31(10): 1245-1250.
- [101] METODIEWA D, JAISWAL A K, CENAS N, et al. Quercetin may act as a cytotoxic pro-oxidant after its metabolic activation to semiquinone and quinoidal product[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 1999, 26(1): 107-116.
- [102] GALATI G, O'BRIEN P J. Potential toxicity of flavonoids and other dietary phenolics: significance for their chemopreventive and anticancer properties[J]. *Free Radical Biology and Medicine*, 2004, 37(3): 287-303.

- [103] LEE K W, LEE H J, LEE C Y. Vitamins, phytochemicals, diets and their implementation in cancer chemoprevention[J]. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 2004, 44(6): 437-452.
- [104] HOZAWA A, JACOBS D R, STEFFES M W, et al. Relationships of circulating carotenoid concentrations with several markers of inflammation, oxidative stress and endothelial dysfunction: the coronary artery risk development in young adults (CARDIA)/young adult longitudinal trends in antioxidants (YALTA) study[J]. *Clinical Chemistry*, 2007, 53(3): 447-455.
- [105] DESCHNER E E, RUPERTO J, WONG G, et al. Quercetin and rutin as inhibitors of azoxymethanol-induced colonic neoplasia[J]. *Carcinogenesis*, 1991, 12(7): 1193-1196.
- [106] LIU Ruihai. Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals[J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 2003, 78(Suppl 3): 517-520.
- [107] HALLIWELL B. Phagocyte-derived reactive species: salvation or suicide?[J]. *Trends in Biochemical Sciences*, 2006, 31(9): 509-515.
- [108] PODMORE I D, GRIFFITHS H R, HERBERT K E, et al. Vitamin C exhibits pro-oxidant properties[J]. *Nature*, 1998, 392: 559.
- [109] PRIEME H, LOFT S, NYSSONEN K, et al. No effect of supplementation with vitamin E, ascorbic acid or coenzyme Q₁₀ on oxidative DNA damage estimated by 8-oxo-7,8-dihydro-2'-deoxy-guanosine excretion in smokers[J]. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 1997, 65(2): 503-507.
- [110] SPLETTSTOESSER W D, SCHUFF-WERNER P. Oxidative stress in phagocytes: "the enemy within"[J]. *Microscopy Research and Technique*, 2002, 57(6): 441-455.
- [111] DESRUMAUX C, RISOLD P Y, SCHROEDER H, et al. Phospholipid transfer protein (PLTP) deficiency reduces brain vitamin E content and increases anxiety in mice[J]. *The FASEB Journal*, 2005, 19(2): 296-297.
- [112] MARTIN K R, BARRETT J C. Reactive oxygen species as double-edged swords in cellular processes: low-dose cellular signalling versus high-dose toxicity[J]. *Human & Experimental Toxicology*, 2002, 21(2): 71-75.
- [113] GRUNE T. Oxidants and antioxidative defense[J]. *Human & Experimental Toxicology*, 2002, 21(2): 61-62.
- [114] HANDY D E, LOSCALZO J. Redox regulation of mitochondrial function[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2012, 16(11): 1323-1367.
- [115] FIGUEIRA T R, BARROS M H, CAMARGO A A, et al. Mitochondria as a source of reactive oxygen and nitrogen species: from molecular mechanisms to human health[J]. *Antioxidants & Redox Signaling*, 2013, 18(16): 2029-2074.
- [116] 李兴泰, 江洁, 匡海学, 等. 红豆越橘果总黄酮保护线粒体及其机制[J]. *食品科学*, 2013, 34(19): 67-72. doi: 10.7506/spkx1002-6630-201319015.