

自由基与衰老

主编 陈 瑗 周 玫



人民卫生出版社

主编
陈瑗
周玫

自由基与衰老

编者 陈 瑗 周 玫
刘尚喜 单越新

人民卫生出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

自由基与衰老/陈瑗等主编. —北京:
人民卫生出版社, 2004. 7
ISBN 7-117-06248-7

I. 自… II. 陈… III. ①游离基—研究②衰老—
研究 IV. ①Q5②Q419

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2004) 第 062554 号

自由基与衰老

主 编: 陈瑗 周玫
出版发行: 人民卫生出版社 (中继线 67616688)
地 址: (100078) 北京市丰台区方庄芳群园 3 区 3 号楼
网 址: <http://www.pmph.com>
E - mail: pmph@pmph.com
印 刷: 北京市安泰印刷厂
经 销: 新华书店
开 本: 787×1092 1/16 印张: 17
字 数: 374 千字
版 次: 2004 年 8 月第 1 版 2004 年 8 月第 1 版 第 1 次印刷
标准书号: ISBN 7-117-06248-7/R·6249
定 价: 36.00 元

著作权所有, 请勿擅自用本书制作各类出版物, 违者必究

(凡属质量问题请与本社发行部联系退换)

内容提要

全书共 13 章约 41 万字，包括有关的自由基基础知识（第一、二章）；哺乳动物的衰老和寿命假说（第三章）；机体抗氧化防御能力和活性氧生成速率与物种寿限（第四章）；衰老的自由基-线粒体理论和衰老线粒体的 DNA 氧化损伤和突变（第五、六章）；降低能量代谢延长物种平均寿命和最高寿限（第七章）；抗氧化酶及抗氧化修复酶基因过表达与寿限（第八章）；机体随龄氧化损伤（第九、十章）；抗氧化剂的抗衰老作用（第十一章）；氧化应激与信号传导以及转录调节与衰老（第十二、十三章）。全书以最近的资料和最新的观点从不同的侧面较全面地说明了衰老是由自由基引起的，较好地反映了衰老的自由基理论研究的最新进展以及该理论的系统性和可接受性。本书可供医学、药学和生命科学等有关学科研究机构的研究人员，高等院校有关专业的广大师生，包括硕士和博士生，以及医院医生参考。

前言

几个世纪以来衰老一直是科学家感兴趣的课题，科学家对衰老过程的兴趣不断增加，特别是近 20 年来老年人群在总人口中所占的百分数明显增加。早年有学者把生命定义为抵抗死亡力量的总和，近年有学者提出，衰老是伴随着年龄增加（简称随龄）机体发生的进行性改变的积累。

已有很多理论被提出来解释衰老过程，在众多的理论中，较为主要和公认的并得到广泛研究的是衰老的程序性理论（programmed theory of aging）和衰老的自由基理论（free radical theory of aging）。有些理论可能是次要的，或本身就是主要理论的一部分，有些理论只是基于一些现象提出来的，不是衰老过程的关键。

衰老的自由基理论是 1965 年由 Harman D 提出的。它是基于这样的前提，即所有生物的衰老和死亡是由一个受遗传因素和环境因素影响的、专门的共同过程负责。该理论认为衰老是由自由基反应引起的，它参与与环境、疾病和遗传控制的衰老过程有关的衰老性改变。自由基对细胞大分子 DNA、脂类和蛋白质的损伤研究以及降低能量代谢的实验和转基因动物的资料支持氧化损伤是衰老过程的直接原因。

随着自由基生物学的发展和分子生物学技术的应用，有关衰老的自由基理论的研究在过去的 10 年间取得了很多人信服的进展，并因此吸引着众多不同领域的科学家，特别是近年来的研究无论在广度和深度上都给人以深刻的印象，文献之多，涉及学科之广，大有应接不暇之势。据估计有关衰老自由基理论的文献每年呈指数性增加。有的科学家甚至提出该领域的研究已进入“成熟期”。

鉴于以上形势，为了使广大的教学和科研工作者更好地了解这一领域的新进展和新成果，我们以“自由基医学”（陈瑗，周玫主编，人民军医出版社，1991）一书中自由基与衰老一章为基础，综合最近的文献及其最新的观点对其扩充编写成本书。全书共有 13 章，包括有关的自由基基础知识（第一、二章）；哺乳动物的衰老和寿命假说（第三章）；机体抗氧化防御能力和活性氧生成速率与物种寿限（第四章）；衰老的自由基-线粒体理论和衰老线粒体的 DNA 氧化损伤和突变（第五、六章）；降低能量代谢延长物种平均寿命和最高寿限（第七章）；抗氧化酶及抗氧化修复酶基因过表达与寿限（第八章）；机体随龄氧化损伤（第九、十章）；抗氧化剂的抗衰老作用（第十一章）；氧化应激与信号传导以及转录调节与衰老（第十二、十三章）。全书从不同的侧面较全面地说明衰老是由自由基引起的。

对于本书的出版，我研究所所长侯凡凡教授曾给予大力支持，单越新博士对全书曾认真排版校样，在此一并表示感谢。

在本书撰稿过程中，我们虽力求准确，但由于专业发展的迅速和涉及的领域众多，以及专业和水平所限，书中缺点和错误在所难免，恳请同行专家和读者批评、指正。

陈媛 周玫

于第一军医大学南方医院
全军肾脏病研究所自由基医学研究室
2003年5月22日



目 录

第一章 体内活性氧的生成和抗氧化防御系统	1
第一节 氧自由基和活性氧的生成	2
一、线粒体前氧化系统	2
(一) 线粒体呼吸链	2
(二) 单胺氧化酶	4
二、细胞色素 P450 前氧化系统	4
(一) Cyto P450 的自氧化作用	4
(二) NADPH-Cyto P450 还原酶的酶系统生成反应	5
三、吞噬细胞前氧化系统	5
(一) NADPH 氧化酶	5
(二) MPO-H ₂ O ₂ -卤化物系统	7
(三) ONOOH 生成	7
四、铁离子	8
(一) 催化自氧化作用	8
(二) 催化 Haber-Weiss 反应	9
(三) 与 O ₂ ⁻ · 作用生成高活性复合物	9
(四) 催化 ROOH 均裂	9
第二节 抗氧化防御系统(初级抗氧化防御系统)	10
一、抗氧化酶	10
(一) 超氧化物歧化酶	10
(二) 过氧化氢酶	10
(三) 硒谷胱甘肽过氧化物酶	10
(四) 不含硒谷胱甘肽过氧化物酶和谷胱甘肽硫转移酶	11
(五) 醛酮还原酶	11
二、脂溶性抗氧化剂	12
(一) 维生素 E	12
(二) 类胡萝卜素	14
(三) 辅酶 Q	15
三、水溶性小分子抗氧化剂	15
(一) 抗坏血酸(维生素 C)	15
(二) 谷胱甘肽	18

四、蛋白性抗氧化剂	19
(一) 铜蓝蛋白	19
(二) 清蛋白和清蛋白结合的胆红素	19
(三) 转铁蛋白和乳铁蛋白	20
(四) 金属硫蛋白	20
第二章 自由基对体内生物大分子的损伤及其修复系统	23
第一节 蛋白质的氧化损伤	23
一、蛋白质的氧化作用	23
(一) 蛋白质主链氧化和蛋白质断裂	23
(二) 氨基酸侧链氧化	24
(三) 蛋白质过氧化与自由基位点特异性损伤理论	26
二、脂质过氧化作用及其对膜的损伤和其羰基对蛋白质的修饰	26
(一) 脂质过氧化作用	26
(二) 脂质过氧化作用对细胞膜的损伤	29
(三) 脂质过氧化羰基产物对蛋白质的修饰	29
三、糖基化作用、糖化氧化作用与蛋白质的羰基修饰	32
(一) 糖基化作用、糖基化过程、Maillard 反应及糖化氧化作用	32
(二) 二羰基化合物去氧葡萄糖醛酮形成和进展性糖基化作用终产物	34
(三) 糖化氧化作用也可以发生在游离葡萄糖的自氧化作用	37
(四) 糖化氧化作用与蛋白质氧化和脂质过氧化	38
第二节 活性氧对 DNA 的损伤	39
一、 $\cdot\text{OH}$ 对 DNA 的损伤	39
二、 ONOOH 对 DNA 的损伤	41
三、羰基对 DNA 的损伤	42
(一) 脂质过氧化作用生成的羰基对 DNA 的修饰	42
(二) 糖化氧化作用对 DNA 的修饰	43
第三节 抗氧化修复系统 (二级抗氧化防御系统)	44
一、蛋白质修复和降解	44
(一) 蛋白质修复	44
(二) 蛋白质降解	44
二、DNA 修复系统	47
(一) 回复修复	47
(二) 切除修复	48
(三) 复制后重组修复	50
第三章 哺乳动物的衰老和寿命假说	53
第一节 哺乳动物的最高寿限和衰老速率	53



一、哺乳动物的最高寿限和平均估计寿命	53
二、哺乳动物的衰老速率	54
第二节 哺乳动物的寿限能和衰老的分化障碍假说	56
一、哺乳动物的寿限能	57
二、衰老的分化障碍学说	58
第三节 哺乳动物的寿命决定因子和寿命基因假说	59
一、寿命决定因子	59
二、寿命基因假说	59
第四章 机体抗氧化防御能力和活性氧生成速率与物种寿限	61
第一节 组织抗氧化酶水平与物种寿限	61
一、超氧化物歧化酶	61
二、过氧化氢酶和硒谷胱甘肽过氧化物酶	61
第二节 组织抗氧化剂含量与物种寿限	64
一、 α -生育酚和类胡萝卜素	64
二、抗坏血酸和还原性谷胱甘肽	65
三、尿酸和铜蓝蛋白	67
第三节 组织生物大分子的氧化损伤与物种寿限	68
一、脂质过氧化	68
二、蛋白质氧化	70
三、糖化氧化作用	71
四、DNA 氧化损伤	72
第四节 组织自氧化作用与物种寿限	73
一、组织自氧化速率	73
二、组织内源性抗氧化酶抗氧化剂水平的可补偿性	75
第五节 细胞活性氧生成速率和膜脂不饱和程度与物种寿限	76
一、基础代谢率和活性氧生成不成比例	76
二、活性氧生成的速率是最重要的寿命决定因子之一	78
三、膜脂不饱和程度也影响着最高寿限	79
第五章 衰老的自由基-线粒体理论	83
第一节 线粒体氧化应激是机体衰老的关键	84
一、线粒体活性氧生成速率与寿限	84
二、衰老机体线粒体活性氧生成增加	86
三、线粒体衰老是一个慢性氧化应激的过程	88
(一) GSH 氧化增加	88
(二) 脂质过氧化作用增强	89
(三) 羰基蛋白形成	89

(四) mtDNA 氧化损伤	89
(五) 抗氧化酶活性改变	89
第二节 衰老线粒体的功能和形态改变	91
一、衰老线粒体的功能障碍	91
(一) 氧化磷酸化	91
(二) 转载体活性	91
(三) 蛋白质合成	92
二、衰老线粒体的形态改变	92
三、线粒体 DNA 和线粒体复制的随龄改变	93
四、线粒体是细胞凋亡的关键介体	94
第六章 衰老线粒体的 DNA 氧化损伤和突变	98
第一节 衰老线粒体 DNA 损伤	99
一、mtDNA 易于氧化损伤的原因	99
二、衰老线粒体 mtDNA 氧化修饰	100
第二节 衰老线粒体 DNA 突变	102
一、线粒体基因组	102
二、线粒体 DNA 突变	103
(一) 点突变	103
(二) DNA 片段的缺失	104
(三) DNA 重排	105
三、线粒体 DNA 突变与衰老	105
第七章 降低能量代谢延长平均寿命和最高寿限	110
第一节 限制能量代谢减少线粒体活性氧生成和随龄膜脂肪酸组成改变	110
一、食物限制减低线粒体活性氧生成	110
二、食物限制减轻随龄膜脂肪酸组成变化	112
第二节 限制能量代谢增强抗氧化防御能力	112
一、食物限制阻断或减轻随龄抗氧化酶活性变化	112
二、食物限制增强氧化蛋白降解和 DNA 修复	114
第三节 限制能量代谢减轻氧化应激	116
一、食物限制减轻随龄脂质过氧化损伤	116
二、食物限制减轻随龄蛋白质氧化	117
三、食物限制减轻随龄 DNA 损伤	120
第四节 限制能量代谢延长寿限	123
一、食物限制增加平均寿命和最高寿限	123
二、减少体力活动、休眠增加平均寿命和最高寿限	124
三、减少体力活动、休眠减低氧化损伤	124



第八章 抗氧化酶及抗氧化修复酶基因过表达与寿限	130
第一节 抗氧化酶基因过表达对果蝇衰老和寿限的影响	130
一、单一抗氧化酶基因过表达对果蝇寿限的影响	130
(一) Cu-Zn SOD 基因过表达延长果蝇平均寿命和最高寿限	130
(二) MnSOD 基因过表达延长果蝇的平均寿命和最高寿限	136
(三) CAT 过表达不能延长果蝇的平均寿命但可增强果蝇对 H_2O_2 的抗性	137
二、SOD 和 CAT 同时共表达对果蝇寿限的影响	140
(一) SOD 和 CAT 同时共表达可以延长果蝇的寿限	140
(二) SOD 和 CAT 同时共表达可以减轻果蝇的随龄的氧化损伤, 增强果蝇对急性氧化应激损伤的抗性	140
第二节 抗氧化修复酶基因过表达对果蝇寿限的影响	142
一、谷胱甘肽还原酶 (GR) 基因过表达对果蝇衰老和寿限的影响	143
(一) GR 基因表达可以延长果蝇在高氧状态下的存活时间	143
(二) GR 基因过表达对正常生长状态下果蝇的寿限没有明显的影响	146
二、蛋氨酸硫氧化物还原酶 A (MSRA) 基因过表达对果蝇衰老和寿限的影响	148
(一) MSRA 基因过表达可以延长果蝇的寿限	148
(二) MSRA 基因过表达能够提高果蝇对氧化应激损伤的抗性和活动能力	149
第九章 机体随龄氧化损伤	153
第一节 组织脂质过氧化物含量和抗氧化酶活性随龄变化	153
一、血浆 (血清) 和血细胞	153
(一) 血浆 (血清)	153
(二) 红细胞	154
(三) 中性粒细胞	155
(四) 淋巴细胞	155
(五) 巨噬细胞	155
二、脑组织	155
三、心肌、骨骼肌、肝、肾等组织	160
第二节 蛋白质氧化损伤和多催化活性蛋白酶随龄变化	162
一、组织蛋白质氧化损伤随龄变化	162
(一) 血浆 (血清) 和全血	162
(二) 脑组织	163
(三) 心肌、骨骼肌、肝等组织	165
二、多催化活性蛋白酶随龄的变化	166
第三节 DNA 氧化损伤和修复的随龄变化	169
第四节 老年机体抗氧化应激能力的变化	171

第十章 皮肤、骨骼肌和骨骼系统随龄的氧化损伤	178
第一节 皮肤组织随龄的氧化损伤	178
一、皮肤随龄氧化损伤和皮肤细胞复制衰老的氧化损伤	178
(一) 皮肤随龄氧化损伤	178
(二) 皮肤细胞复制衰老的氧化损伤	179
二、皮肤细胞培养衰老的氧化损伤	182
三、食物限制减轻随龄皮肤氧化损伤	183
第二节 骨骼肌随龄的氧化损伤和运动锻炼对老年骨骼肌运动抗氧化损伤的 影响	185
一、骨骼肌随龄氧化损伤	185
二、骨骼肌随龄生理功能变化	188
三、运动锻炼增加老年骨骼肌对氧化应激的耐受性	188
第三节 骨和关节软骨随龄氧化损伤	194
一、骨随龄氧化损伤	194
二、关节软骨随龄氧化损伤	196
 第十一章 抗氧化剂的抗衰老作用	201
第一节 维生素 E 和维生素 C 的抗衰老作用	202
一、维生素 E 和维生素 C 与冠心病	202
二、维生素 E 和维生素 C 与神经退行性疾病及其患者和老年人的认知功能	207
三、维生素 E 和维生素 C 与老年人的免疫功能	210
第二节 硫辛酸的抗衰老作用	213
一、降低老年机体的氧化应激状态	213
二、提高老年机体的抗氧化应激能力	218
三、改善衰老线粒体氧化状态和代谢酶活性的改变	219
四、对糖尿病及其神经病变的治疗作用	219
第三节 N-乙酰半胱氨酸和硫杂脯氨酸的抗衰老作用	220
一、NAC 和 TP 与老年机体免疫细胞功能	220
二、NAC 和 TP 与老年机体线粒体衰退和神经退行性疾病	222
第四节 银杏叶提取物 EGb761 的抗衰老作用	223
一、EGb761 与老年机体线粒体衰退	223
二、EGb761 与衰老和神经退行性疾病	225
 第十二章 氧化应激与信号传导	231
第一节 丝裂原激活的蛋白激酶信号传导途径	232
一、ERK 途径	233
二、SAPK 途径	233
(一) JNK 激活的蛋白激酶信号传导途径	234



(二) p38 激活的蛋白激酶信号传导途径	234
(三) MAPK 作用物和氧化应激	235
第二节 PI3 激酶/AKT 途径	235
一、AKT 途径	235
二、PI3 激酶途径	236
第三节 磷脂酶 C- γ 1 (PLC- γ 1) 和蛋白激酶 C (PKC)	236
一、磷脂酶 C- γ 1 (PLC- γ 1)	236
二、蛋白激酶 C (PKC)	237
第四节 p53、核因子 κ B (NF κ B) 和共济失调-毛细血管扩张症突变 (ATM) 激酶	237
一、p53 信号传导	237
二、共济失调-毛细血管扩张症突变 (ATM) 激酶	239
三、核因子 κ B (NF κ B) 信号传导	239
第五节 其他的信号传导分子和途径	240
一、JAK/STAT 途径	240
二、c-Abl 酪氨酸激酶	241
三、p66 ^{shc} 适配蛋白	241
四、热休克蛋白的表达	241
第十三章 转录调节与衰老	249
第一节 老化过程中瞬时控制的转录因子	249
一、年龄依赖的 CCAAT/增强子结合蛋白的合成改变	249
二、年龄对热休克蛋白合成的转录损伤	250
第二节 转录因子的氧化还原调节	251
一、锌指蛋白	251
二、ROS 信号传导经过依赖 MAP 激酶磷酸化作用的转录因子	252
三、无嘌呤-无嘧啶核酸内切酶/氧化还原作用因子 1 (APE/Ref-1) 作为一 种氧化还原作用传感器和与年龄依赖基因的转录作用的调控子	253
四、沉默子信息调控因子 2、脱乙酰基酶、染色质的重新塑造和 p53 的功能	254
编后语	257



第一章

体内活性氧的生成和抗氧化防御系统

几个世纪以来衰老一直是科学家感兴趣的迷人课题，科学家对衰老过程的兴趣不断增加，特别是近 20 年来老年人群在总人口中所占的百分数明显增加。早年有学者把生命定义为抵抗死亡力量的总和，近年有学者提出，衰老是伴随着年龄增加（简称随龄）机体发生的进行性改变的积累。衰老改变的速率是恒定的，随龄呈指数性增加，因此在生命的早期衰老过程的变化较小，而后衰老过程随龄加快呈指数性，并由此导致机体对疾病的敏感性增加和死亡。普遍认为衰老是由于能引起进行性细胞损伤和死亡的各种外在因素和与基因组理论有关的内在因素共同作用的结果⁽¹⁻⁶⁾。

现已有很多理论被提出来解释衰老过程，统计多达 300 多种。在众多的理论中，较为主要和公认的并得到广泛研究的是衰老的程序性理论（programmed theory of aging）和衰老的自由基理论（free radical theory of aging）。有些理论可能是次要的，或本身就是主要理论的一部分，有些理论只是基于一些现象提出来的，不是衰老过程的关键。如 DNA 突变、分子交链、蛋白糖化氧化、错误灾难、激素合成障碍以及最近提出的端粒酶缩短理论，所有的这些变化都是继发于自由基损伤。

衰老的程序性理论认为衰老过程受遗传控制。生物钟开始于婴儿时期。基因携带着特殊的指令控制着个体的生长、成熟、衰退和死亡。衰老伴随着生长和发育，是生长和发育的组成部分，其终止于死亡。

衰老的自由基理论是 1965 年由 Harman D 提出的。它是基于这样的前提，即所有生物的衰老和死亡是由一个受遗传因素和换境因素影响的专门的共同过程负责。该理论认为衰老是由自由基反应引起的，它参与与环境、疾病和遗传控制的衰老过程有关的衰老性改变。自由基对细胞大分子 DNA、脂类和蛋白质的损伤研究以及降低能量代谢的实验和转基因动物的资料支持氧化损伤是衰老过程的直接原因。

随着自由基生物学的发展和分子生物学技术的应用，有关衰老的自由基理论的研究在过去的 10 年间取得了很多令人信服的进展，并由此吸引着众多的不同领域的科学家，特别是近年来的研究无论在广度和深度上都给人以深刻的印象，文献之多，涉及学科之广，大有应接不暇之势。有的科学家甚至提出该领域的研究已进入“成熟期”。

在讨论衰老的自由基理论前。首先以第一章和第二章介绍有关的自由基基础知识。同时需要说明的，自由基、氧自由基和活性氧的概念是不同的。但在本书的叙述中并未严格地将其区别开来，而是按通常大众化的提法将自由基一词代表了氧自由基或活性氧。正如本书名“自由基与衰老”一样，确切地说应是“活性氧与衰老”。但是在需要区别开不同自由基时，会说明何种自由基如氮自由基或碳自由基等。

第一节 氧自由基和活性氧的生成

自 1968 年 McCord 与 Fridovich 发现组织中广泛存在着能清除 $O_2^{\cdot -}$ 的超氧化物歧化酶 (SOD) 以后，生物体内存在内源性自由基才得到大量的实验证据。 $O_2^{\cdot -}$ 是体内其他活性氧的主要来源。在细胞中通过单电子还原产生的 $O_2^{\cdot -}$ 来自线粒体、微粒体、浆膜和胞浆等的酶系统和非酶系统反应。

所谓生成活性氧种的前氧化系统 (prooxidative system) 主要有线粒体，细胞色素 P450，中性粒细胞和巨噬细胞等 (图 1-1)⁽⁷⁾。

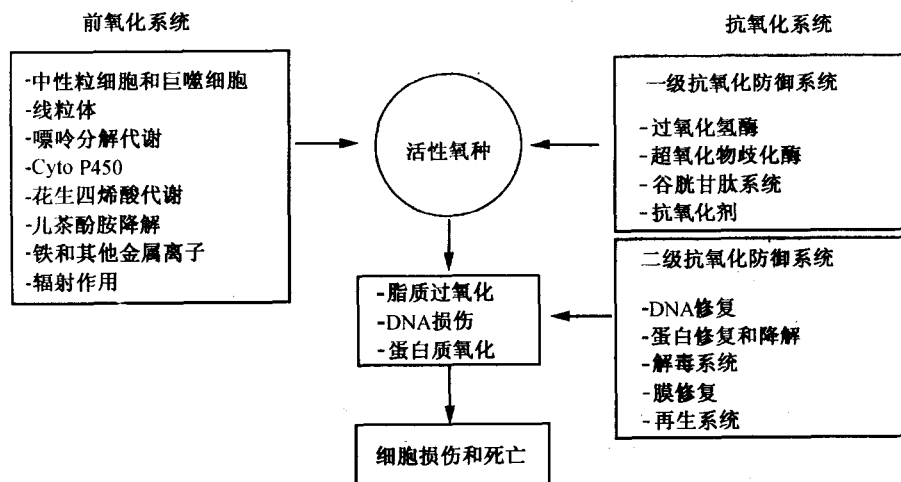


图 1-1 细胞的前氧化系统和抗氧化系统

一、线粒体前氧化系统⁽⁸⁾

在正常情况下活性氧的生成量约占组织耗氧量的 1%~2%。这 1%~2% 组织耗氧量即所谓的细胞存在着的对一氧化碳和氰化物不敏感呼吸，也即是不被一氧化碳和氰化物抑制的呼吸。已知哺乳动物消耗氧的 90% 以上被线粒体所利用。因此在正常情况下由线粒体生成的活性氧在细胞氧自由基的生成中是主要的。线粒体活性氧生成主要来自线粒体呼吸链和单胺氧化酶。

(一) 线粒体呼吸链

正常情况下通过呼吸链 (图 1-2) 电子传递系统的电子会有部分被泄漏，当泄漏的电子被 O_2 接受即生成 $O_2^{\cdot -}$ 。组成呼吸链的各组分都能生成活性氧，它们的生成是通



过半醌的自氧化作用和黄素蛋白酶的酶性生成反应。

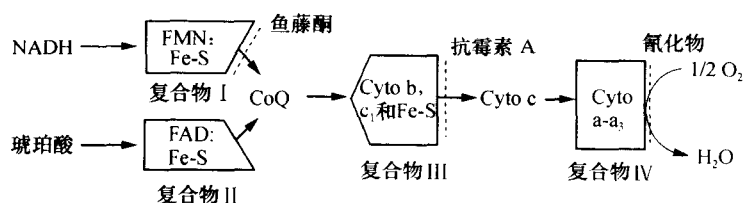


图 1-2 线粒体电子传递链中的四个脂溶性复合物

1. 辅酶 Q·半醌的自氧化作用 用线粒体片断的实验观察到复合物 I (NADH-Q-reductase) 和复合物 III (QH₂-Cytochrome C-reductase) 是产生 O₂^{-·} 最有效的成分, 而复合物 II (succinate dehydrogenase) 产生 O₂^{-·} 则比较少 (表 1-1)。

表 1-1 离体线粒体呼吸链的复合物对 H₂O₂ 的生成作用

复 合 物	H ₂ O ₂ 生成量 (nmol/min/mg 蛋白质)
复合物 I	4.62
复合物 II + 鱼藤酮	1.10
复合物 III	4.24
复合物 II	0.03

由表 1-1 可见复合物 I 和 III 生成 H₂O₂ 的效应相同, 而辅酶 Q (或称泛醌, 简称 Q) 是它们唯一的共同成分, 由此推测还原型辅酶 Q 是线粒体生成 O₂^{-·} 的主要来源, 以下的实验证实了这一论点: ①阻断电子由 Cyto b 流向 Cyto C₁ 的抗霉素 A 和阻断电子由 Cyto C 氧化酶流向分子氧的氰化物都能明显地加速 H₂O₂ 的生成; ②阻断电子由 NADH-Q 还原酶流向辅酶 Q 的鱼藤酮能明显地抑制 H₂O₂ 的产生; ③用缺乏内源性泛醌的线粒体膜和用不同量的泛醌重组试验显示, 泛醌量和 H₂O₂ 的生成量间呈线性关系; ④泛醌能非酶性氧化, 由泛半醌 (ubisemiquinone, QH·) 自氧化形成 O₂^{-·} (QH· + O₂ → Q + O₂^{-·} + H⁺) (图 1-3)。

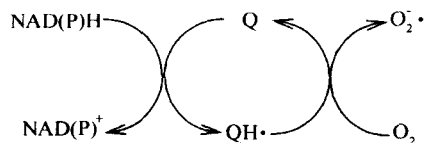


图 1-3 泛半醌自氧化形成 O₂^{-·}

2. 黄素蛋白酶的酶性生成反应 由表 1-1 可知, 与复合物 I 和 III 相比, 虽然复合物 II 产生的 O₂^{-·} 的量较少, 但说明黄素蛋白酶能生成 O₂^{-·}。同时还发现氰化物能抑制 Q-Cyto b 位点的 O₂^{-·} 的生成, 但不影响 NADH-还原酶位点 O₂^{-·} 的产生, 亦说明黄素蛋白酶能生成 O₂^{-·}。

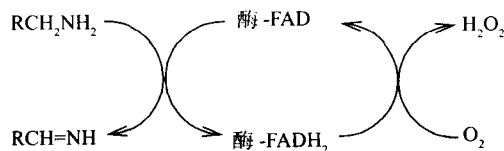
黄素蛋白酶生成 O₂^{-·} 的机制与其辅酶 FMN 或 FAD 在氧化还原过程中产生了 FMN 或 FAD 半醌自由基有关。

FMN 或 FAD 半醌自由基可以将一个电子交给 O₂ 生成 O₂^{-·}, 正如核黄素可以自

氧化生成 $O_2^{\cdot -}$ 一样。

(二) 单胺氧化酶⁽⁹⁾

该酶紧密结合于线粒体外膜上，是含黄素蛋白的酶，有二个不同的型，称为 A 和 B，二者在成分和物理特性上虽然相同，但在免疫学上是相区别的两种蛋白，催化的主要化合物为单胺类，如苯胺、多巴胺、N-甲基苯胺和 N，N-甲基苯胺等及胍类如甲基胍、1，2-二甲基胍等，其反应过程为：



二、细胞色素 P450 前氧化系统⁽⁹⁾

细胞色素 P450 前氧化系统指的是微粒体混合功能氧化酶系统，该系统由三个部分组成：细胞色素 P450 (Cyto P450)，NADPH-Cyto P450 还原酶以及增强底物与 Cyto P450 结合和便于电子从还原酶转移到 Cyto P450 的磷脂，其中 Cyto P450 和 NADPH-Cyto P450 都能生成活性氧。

(一) Cyto P450 的自氧化作用

肝内质网膜上的 Cyto P450 可以接受经 NADPH-Cyto P450 还原酶催化的由 NADPH 供给的电子和由此催化很多重要活性物质的合成、灭活以及催化外源性药物、毒物（包括致癌物）的生物转化。已证实在上述反应过程中有过氧化中间产物 $\text{Fe}^{3+} - \text{RO}_2^{\cdot -}$ 的存在以及 Cyto P450 能自氧化生成 $O_2^{\cdot -}$ 。推测 Cyto P450 的反应机制和产生 $O_2^{\cdot -}$ 的可能途径如图 1-4。

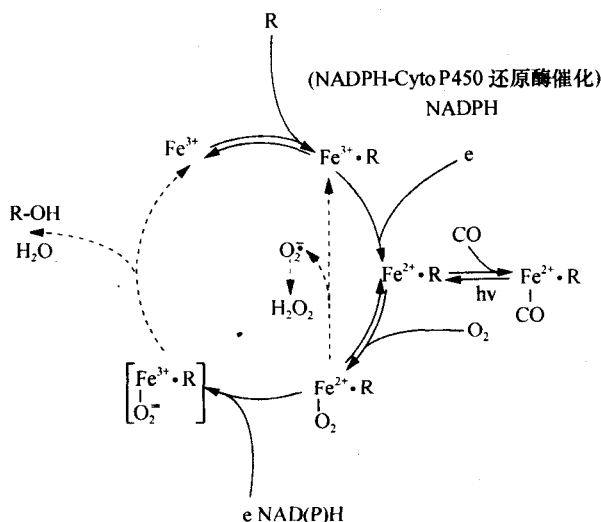


图 1-4 细胞色素 P450 反应机制

R: 外源性物质; ROH: 外源性物质的氧化产物



——自由基与衰老